

Fernanda Lourenção Brighenti

**Avaliação *in vitro* de
Dentifrícios com
Concentrações Reduzidas de
Fluoreto e pH Acidulado**

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

Orientadora: Profa. Dra. Kikue Takebayashi Sasaki

ARAÇATUBA

2004

Ao meu primo Eduardo (*in memorian*),

a quem a vida tanto maltratou.

Por seu exemplo de força de vontade, sinto que você merecia
muito mais realizar esse sonho do que eu.

Por isso, receba essa minha conquista como se fosse tua.

E que isso possa amenizar um pouco da saudade que todos
nós sentimos de você...

À Deus,

Responsável pela minha existência, por estar presente em todos os momentos de minha vida. Mesmo que às vezes questione algumas de Tuas escolhas, hoje não tenho dúvidas que me guiou pelo melhor caminho, me concedendo a benção de ser feliz. Pelas circunstâncias que me fizeram amadurecer, me dando forças para chegar até aqui. Só tenho a agradecer as pessoas que colocou em minha vida e que hoje faço questão de dedicar esse trabalho:

Aos meus pais, Maria José e Joaquim,

Pelo apoio incondicional em todas minhas decisões, por terem aceitado minha ausência em momentos especiais. Pelos valores que me ensinaram, pelo exemplo de dedicação, força, amor e honestidade e por todas as renúncias feitas em nome da minha educação e do meu bem-estar (que não foram poucas). Pelos sorrisos nos momentos de felicidade e por ajudarem-me a superar os obstáculos, segurando em minhas mãos. Quisera eu um dia poder devolver para vocês tudo o que recebi.

Aos meus irmãos, Carolina e Guilherme,

Que, mesmo distantes fisicamente nunca saíram do meu pensamento e do meu coração. Sei o quanto torceram e ainda torcem por mim, cada um com um jeito especial. Carol, suas palavras acalentaram meu coração mesmo sem você saber; Gui, sua energia me deu forças em muitas ocasiões. Desejo que vocês alcancem a mesma satisfação e alegria que estou sentindo hoje.

Ao meu namorado, Gustavo,

Por todo o sentido que deu em minha vida, compreendendo da melhor maneira minha distância; pela presença incontestável em meus momentos de solidão. Pelo amor e carinho dos quais precisei muitas vezes e que, mesmo longe, nunca deixou de faltar.

Aos meus grandes mestres:

Minha orientadora, **Prof^a Dr^a Kikue Takebayashi Sasaki**, docente de extrema capacidade, por todas as vezes que te fiz ausentar da sua família, pelo exemplo de humildade, amizade, compreensão e persistência. Por ter tido a oportunidade de ser sua aluna, agradeço o amadurecimento que me proporcionou e toda a preocupação dispensada com meu bem-estar.

Ao **Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem**, pessoa de admirável competência e amigo. Obrigada pela disponibilidade, atenção, pelo admirável exemplo de profissionalismo e, sobretudo, pela paciência frente às minhas dificuldades. Obrigada pelas vezes em que transformou o nosso trabalho intenso em algo extremamente prazeroso.

À Prof^a Dr^a Marília Afonso Rabelo Buzalaf,

Pela confiança depositada, que me possibilitou trilhar o caminho da carreira acadêmica. Pela amabilidade com que sempre me atendeu, dando exemplo do docente que quero ser.

**Aos alunos Déborah Badillo Ribeiro e
Felipe Alberto Lino Oliveira,**

Pela ajuda imprescindível durante a fase laboratorial, por toda a atenção oferecida e, principalmente, pela compreensão diante das minhas exigências.

À família de meu namorado,

Angela, José, Letícia e Fabrício, por me receberem sempre com muito carinho em suas casas. Pela torcida constante que por muitas vezes me estimulou.

**Aos meus grandes amigos, a maior de todas
minhas conquistas:**

Anna Letícia Montenegro Pighinelli, Augusto
Bodanezi, Débora de Barros Barbosa, Etienne de Andrade
Munhoz, Karina Mirela Ribeiro Pinto Alves e Melissa Thiemi
Kato, por fazerem parte da minha vida, estando presentes
em momentos especiais, pelo companheirismo e por me
entenderem e me aceitarem como sou.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, nas pessoas do seu Diretor Prof. Dr. Paulo Roberto Botacin e Vice-Diretor Prof. Dr. Célio Percinoto, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

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

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, por ter me oferecido muito dos seus conhecimentos.

Ao ex-aluno Maurício Bergamaschi, por ter me auxiliado nos primeiros passos no laboratório e por estar sempre disponível para me ajudar.

Aos amigos do Laboratório, Ana Valéria Pagliari, Carlos Eduardo Shimabucoro, Edo Hirata, Eliana Rodrigues, Érika Natsue Nishino, Gilberto Carlos Tiano, Kélio Garcia Silva, Marcelle Danelon, pela ajuda muitas vezes oferecida e pelos momentos felizes que vivemos juntos.

Aos amigos da minha turma de Mestrado, Kélio Garcia Silva, Karine Takahashi, Karina Gerhardt Bianco, Mariana Machado Teixeira de Moraes Costa, Rebeca Lima Afonso, e da turma seguinte, Ana Carolina Soares Fraga Zaze, Antonio Hernandez Chaves Neto, Gracieli Prado Elias, Karina Mirela Ribeiro Pinto Alves, Luciana Reichert da Silva Assunção e Marcio José Possari dos Santos, pela convivência, amizade e estímulo.

Aos alunos curso de Doutorado, Ana Elisa de Melo Vieira, Daniela Maria Carvalho Pugliesi, Edo Hirata, Eduardo Antonio de Souza, Fátima Ioko Mochidome, Sueli Satomi Murata, e da

turma anterior, Alessandra Maia de Castro, Cíntia Megid Barbieri, Fabíola Lemos Melhado, Karina Silva Moreira Macari, Leila Maria Casario Pereira Pinto e Mauricio Bergamaschi, pelo relacionamento durante o curso.

Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Maria Bertolina Mesquita de Oliveira, Maria dos Santos Ferreira Fernandes e Mário Luis da Silva, pela disposição em ajudar sempre que necessário.

A todos os funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Alexandra Bento, Ana Cláudia Grieger Manzatti, Cláudia de Souza Frare, Cláudio Hideo Matsumoto, Helena Sumika Sanomiya Otsuki, Isabel Pereira de Matos, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luzia Anderlini, Maria Cláudia de Castro Benez, Marina Alves dos Santos, pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Francisco Inácio Pinheiro, Adélia Barreto Claro da Silva e Marina Midori Sakamoto Hawagoe e Valéria de Queiroz Zagatto, pela disposição, atenção e paciência que nunca deixaram de faltar.

Aos demais professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, em especial, Dr. Wilson Roberto Poi, Dr. Eduardo Rocha e Dr^a. Denise Pedrini, pelos ensinamentos transmitidos e pela convivência.

À Faculdade de Odontologia de Bauru - USP, por ter me formado e ensinado muito do que conheço.

Aos professores da Faculdade de Odontologia de Bauru, em especial, Dr^a Maria Fidela de Lima Navarro, Dr^a Ana Lucia Álvares Capellozza, Dr. Arsenio Sales Peres e Dr. Ricardo Marins de Carvalho, por quem tenho muito carinho e admiração.

Aos professores da Disciplina de Histologia da Faculdade de Odontologia de Bauru, em especial o Prof. Dr. Rumio Taga, responsável por minha iniciação na área acadêmica. Muito obrigada pela oportunidade que me deu de descobrir o caminho da pesquisa científica e da docência.

Aos funcionários da Disciplina de Histologia, Tânia Mary Cestari e Daniele Santi Ceolin e da Disciplina de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, Ovídio dos Santos Sobrinho e Thelma Lopes Silva, pela ajuda indispensável nas pesquisas realizadas durante minha graduação.

Aos alunos dos laboratórios de Histologia e Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, pela convivência e amizade.

A todos os meus avós, tios e primos, pela torcida e carinho sempre presentes.

À Prof^a Dr^a Maria Francisca Thereza Borro Bijella e Maria Fernanda Borro Bijella, pelo incentivo.

À D. Silvia e sua família, ao Antônio e à Rosângela, por terem me acolhido em sua casa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Ministério da Educação e Cultura, pela concessão de Bolsa de Estudo.

À FGM, na pessoa do Sr. Friedrich G. Mittelstadt, pela concessão dos dentifrícios utilizados.

Aos amigos:

Ana Carolina Lodi, Ana Carolina Magalhães, Ana Paula Cavalvanti, André Lima, Álvaro Hafiz Cury, Cezar Zaze, Cleide

Cristina Martinhon, Daniela Rios, Daniella Borgo, Gabriela Gennaro, Giovano Ferrarezi, Gustavo Silva Siécola, Heitor Marques Honório, Jefferson Sanada, Juliano Pelin Pessan, Kellen Gasque, Kelly Olympo, Letícia Monteiro, Luis Fernando Sant'Ana, Marcelo Hamata, Renato Yassutaka Faria Yaedú, Ricardo Henrique Alves da Silva, a todos do G.E. Tiradentes (Thelma, José Roberto, Zoraide, Eleonora, Cleber, Marineide, Sergio e Karla), aos amigos de Jacareí (André, Danilo, Francisco, Juliana e Victor), à Gracy e a todos os colegas da XXXVIII Turma da FOB.

Àqueles que contribuíram com a minha formação mas que não tiveram seus nomes citados,

Meu muito obrigada!

“Aprender é a única coisa de
que a mente nunca se cansa,
nunca tem medo e
nunca se arrepende”

Leonardo da Vinci

Resumo

BRIGHENTI, F. L. Avaliação *in vitro* de dentifrícios com concentrações reduzidas de fluoreto e pH acidulado. 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2004.

Pelo fato dos dentifrícios fluoretados serem um fator de risco para fluorose dentária, produtos com concentrações reduzidas de flúor poderiam oferecer maior segurança, desde que sua efetividade seja mantida. O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar dentifrícios com 412 e 550 µg F/g e pH acidulado, comparando-os com os de pH neutro. Blocos de dentes bovinos, selecionados a partir da sua dureza superficial inicial, foram submetidos à ciclagem de pH e tratamento diário (2x) com dentifrícios placebo, 275, 412, 550 e 1100 µg F/g em dois diferentes pH (7,0 e 5,5) e com dentifrícios comerciais Crest® (controle positivo) e Colgate Baby® (500 µg F/g). Em seguida, foi calculada a variação da microdureza de superfície (%AMDS) e a perda mineral (ΔZ) e determinado o conteúdo de F no esmalte e de íons flúor, cálcio e fosfato nas soluções após a ciclagem de pH. Em comparação ao dentifrício neutro, os dentifrícios acidulados tiveram menor %AMDS em todas as concentrações, mas não houve diferenças estatísticas com relação ao conteúdo de F no esmalte ($p < 0,05$). Foi encontrada maior quantidade de íon F e menor de Ca e P nas soluções para os dentifrícios acidulados. Para ΔZ , somente os dentifrícios Crest®, 1100 acidulado e neutro não foram diferentes estatisticamente. Conclui-se que houve uma relação dose-reposta e que o dentifrício com 550 µg F/g acidulado possui uma ação anticariogênica semelhante ao 1100 µg F/g neutro.

Palavras-chave: Dentifrícios. Esmalte dentário. Flúor. Cárie dentária – Prevenção e controle. Odontologia Preventiva. Desmineralização.

Abstract

BRIGHENTI FL. In vitro evaluation of toothpaste with low fluoride content and acidulated pH. [dissertation]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, 2004.

Fluoride dentifrices are a risk factor for the development of dental fluorosis. Products with low-fluoride content offer a higher security, but their effectiveness must be proven. The aim of this study was to evaluate *in vitro* two low fluoride (412 and 550 µg F/g) acidulated toothpastes in comparison with the neutral ones. Enamel bovine blocks were selected through surface microhardness and submitted to pH cycling and daily treatment (2x) with toothpastes placebo, 275, 412, 550 and 1,100 µg F/g in two different pH (7.0 and 5.5) and the market toothpastes Crest® (positive control) and Colgate Baby® (500 µg F/g). The calculation of surface microhardness change (%SMHC), mineral loss (ΔZ) and the assessment of fluoride in enamel and fluoride, calcium and phosphate content in solutions after the pH cycling were then performed. Compared to neutral dentifrices, the acidulated toothpastes reduced the %SMHC in all F concentrations but there were no statistical differences regarding F content in enamel ($p < 0.05$). More F and less Ca and P content were found in solutions for the acidulated toothpastes. Regarding mineral loss, only the groups Crest®, 1,100 acidulated and neutral were not statistically different. A dose-response relationship was observed. The 550 µg F/g pH 5.5 dentifrice had similar anticariogenic action when compared to the 1100 µg F/g pH 7.0 dentifrice.

Key-words: Toothpaste. Dental enamel. Fluoride. Dental caries – Prevention and control. Preventive Dentistry. Demineralization.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	21
2 PROPOSIÇÃO	24
3 MATERIAL E MÉTODO	26
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	27
3.2 DOSAGEM DE F NOS DENTIFRÍCIOS EXPERIMENTAIS	28
3.3 CICLAGEM DE DES-REMINERALIZAÇÃO E TRATAMENTO COM DENTIFRÍCIOS	29
3.4 ANÁLISE DA MICRODUREZA DO ESMALTE	30
3.5 ANÁLISE DO CONTEÚDO DE F NO ESMALTE APÓS A CICLAGEM DE pH	30
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
4 RESULTADO	32
5 DISCUSSÃO	37
6 CONCLUSÃO	42
7 REFERÊNCIAS	44
8 ANEXOS	48

1 Introdução

A alta disponibilidade de fluoretos (F) tem provocado, juntamente com a diminuição da prevalência da cárie dentária, um aumento na incidência da fluorose, devido a um aumento na ingestão diária de flúor a partir de diversas fontes (MASCARENHAS, 2000). Entre as principais fontes de exposição ao flúor encontram-se: água de abastecimento público, alimentos e bebidas industrializados, suplementos e dentifrícios fluoretados (BUZALAF et al., 2001).

Os dentifrícios fluoretados contribuem com cerca de 57% da ingestão total de F para crianças na faixa etária de quatro a seis anos. Isso ocorre principalmente porque crianças nessa idade ainda não têm total controle sobre os músculos da deglutição (PESSAN et al., 2003).

Por isso, vários autores têm enfatizado a necessidade de se tomar medidas preventivas contra a ingestão excessiva de flúor a partir dos dentifrícios, tais como: diminuir a quantidade de pasta colocada nas escovas de dentes, limitar a escovação com dentifrício fluoretado ao máximo de duas vezes ao dia, supervisionar a escovação de crianças na faixa etária de risco e desenvolver dentifrícios com menores concentrações de flúor (HOROWITZ, 1992; HAMILTON, 2001; LIMA; CURY, 2001).

A diminuição de F nos dentifrícios, entretanto, deve ser acompanhada de algum outro recurso para que sua eficácia seja mantida. Sabe-se que o produto responsável pela ação anticariogênica de agentes tópicos de F é o fluoreto de cálcio (CaF_2) e que sua formação aumenta à medida que se reduz o pH do meio (SAXEGAARD; ROLLA, 1988). Assim, um dentifrício com menor concentração de F

e acidulado poderia ser seguro com relação à manutenção da prevenção de cáries e à diminuição da quantidade de F ingerido a partir desse produto.

A verificação da relação dose-resposta de dentifrícios tem sido uma recomendação atual (TEN CATE; MUNDORFF-SHRESTHA, 1995) não só para comprovar a eficiência de produtos já disponíveis para consumo como também validar novas formulações. Dentre os modelos utilizados para avaliar esses produtos, a ciclagem de pH permite simular a dinâmica do desenvolvimento da cárie sob condições controladas (WHITE, 1995).

2 Proposição

A proposta deste trabalho foi avaliar dentifrícios com 412 e 550 μg F/g e pH acidulado, comparando-os com os de pH neutro, utilizando modelo de ciclagem de pH para verificar a capacidade dos produtos em inibir o processo de desmineralização, através da análise da perda mineral e do conteúdo de F no esmalte.

3 Material e Método

3.1 Delineamento Experimental

Blocos de esmalte (4x4 mm) foram obtidos de dentes incisivos bovinos (Anexo A) estocados em solução de formol a 2% neutra em temperatura ambiente (WHITE, 1987). As superfícies de esmalte dos blocos foram seqüencialmente polidas (Anexo B). Posteriormente, os blocos foram selecionados através da microdureza de superfície (SMH inicial) (Anexo C) e divididos de acordo com a média de dureza da população total de blocos e seu intervalo de confiança ($p < 0,05$) em 12 grupos experimentais ($n=13$): grupo placebo ácido – dentifrício sem F, pH 5,5; grupo 275 ácido, dentifrício com 275 μg F/g (NaF), pH 5,5; grupo 412 ácido, dentifrício com 412 μg F/g (NaF), pH 5,5; grupo 550 ácido, dentifrício com 550 μg F/g (NaF), pH 5,5; grupo 1100 ácido, dentifrício com 1100 μg F/g (NaF), pH 5,5; grupo placebo neutro – dentifrício sem F, pH 7,0; grupo 275 neutro, dentifrício com 275 μg F/g (NaF), pH 7,0; grupo 412 neutro, dentifrício com 412 μg F/g (NaF), pH 7,0; grupo 550 neutro, dentifrício com 550 μg F/g (NaF), pH 7,0; grupo 1100 neutro, dentifrício com 1100 μg F/g (NaF), pH 7,0; dentifrício comercial (Baby[®]) com 500 μg F/g (NaF, pH 7,0) e Crest[®] - controle positivo contendo 1100 μg F/g (NaF), pH 7,0. Em seguida, os blocos foram submetidos à ciclagem de pH para avaliar a capacidade dos dentifrícios em interferir com a dinâmica do processo de cárie. Após as ciclagens de pH, a microdureza superficial (SMH) do esmalte foi novamente medida para cálculo da percentagem de alteração de dureza da superfície (%AMDS). Depois, foi determinada a dureza do esmalte em secção longitudinal e calculada a perda mineral (ΔZ). Também foram aferidos o conteúdo de F no esmalte e a quantidade de íons flúor, cálcio e fosfato nas soluções, após as ciclagens.

3.2 Dosagem de flúor nos dentifrícios experimentais

Os dentifrícios experimentais foram preparados pela FGM Produtos Odontológicos (Joinville, SC, Brasil) e apresentavam a seguinte composição: goma de celulose, metil-p-hidroxibenzoato de sódio, aroma, sacarinato de sódio, óleo de menta, propilenoglicol, glicerina, sorbitol, sílica hidratada, lauril sulfato de sódio e fluoreto de sódio. Os dentifrícios placebos continham os mesmos reagentes descritos acima, exceto fluoreto de sódio. O pH foi ajustado com ácido fosfórico.

Para a dosagem de flúor nos dentifrícios foi utilizada a técnica descrita por Delbem et al. (2002) (Anexo D). Foi utilizado um eletrodo específico combinado para íon flúor (9609 BN - Orion) e analisador de íons (Orion 720 A⁺), previamente calibrado com 05 padrões: 0,25; 0,5, 1,0; 2,0 e 4,0 µg F/mL.

Em um tubo de ensaio foi colocada uma quantidade de 100-110 mg de cada dentifrício, adicionou-se 10,0 mL de água deionizada e agitou-se a suspensão a fim de torná-la homogênea. Para a dosagem do flúor total, retirou-se 0,25 mL da suspensão, ao qual acrescentou-se 0,25 mL de HCl 2 mol L⁻¹. Esta solução permaneceu sob agitação durante 1h a 45°C. Após este tempo, foram adicionados 0,5 mL de NaOH 1 mol L⁻¹ e 1,0 mL de TISAB II (*total ionic strength adjustment buffer*).

O restante da suspensão de dentifrício foi centrifugado a 906g durante 20 minutos, à temperatura ambiente. Retiraram-se 0,25 mL do sobrenadante e acrescentou-se 0,25 mL de HCl 2 mol L⁻¹, 0,5 mL de NaOH 1 mol L⁻¹ e 1,0 mL de TISAB II para a dosagem de flúor iônico solúvel.

3.3 Ciclagem de Des-Remineralização e tratamento com dentifrícios

Esta fase avaliou o efeito do flúor em interferir com a dinâmica do processo de cárie, onde o desafio cariogênico é maior que a remineralização (Des > Re), utilizando o modelo preconizado por Vieira (2003). O delineamento experimental foi casualizado com 12 tratamentos e 13 repetições cada. Assim, os blocos de esmalte bovino foram submetidos durante sete dias a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37° C. Inicialmente, foram mantidos em recipientes individuais durante 6 h em solução desmineralizadora ("DES": Ca e P 2,0 mmol L⁻¹ em tampão acetato 75 mmol L⁻¹, pH 4,7; 0,04 µg F/mL, 2,2 mL/mm²). Após esse tempo, foram transferidos para solução remineralizadora ("RE 1º-5º dia": Ca 1,5 mmol L⁻¹, P 0,9 mmol L⁻¹, KCl 150 mmol L⁻¹, em tampão Cacodilato 20 mmol L⁻¹, pH 7,0; 0,05 µg F/mL, 1,1 mL/mm²), onde permaneceram por 18 horas. O tratamento foi realizado com suspensões de dentifrícios preparadas com água deionizada, na proporção de 1:4 (peso/ volume) (TEN CATE; MUNDORFF-SHRESTHA, 1995) durante um minuto, entre as trocas das soluções. O pH das suspensões foi medido utilizando-se o eletrodo Analyser e analisador de íons Orion 720A⁺. Após o quinto dia, os blocos permaneceram na solução remineralizadora durante 48 horas (RE 6º-7º dia).

Ao término da ciclagem de pH, as soluções utilizadas foram analisadas com relação à variação (final - inicial) da quantidade (µg) de flúor (ΔF), cálcio (ΔCa) e fosfato (ΔP). Para análise de F e de Ca utilizou-se, respectivamente, os eletrodos específicos Orion 9609 e Orion 9300 acoplados a um analisador de íons (Orion 720A⁺). O fosfato foi dosado através do método colorimétrico descrito por Fiske e Subbarow (1925). As diferenças das três soluções ("DES", "RE 1º-5º dia" e "RE 6º-7º dia") foram, então, somadas.

3.4 Análise da microdureza do esmalte

Os testes de microdureza de superfície (SMH) nos blocos de esmalte foram baseados no trabalho descrito por Zero (1995), utilizando-se o microdurômetro Shimadzu HMV-2000, com carga de 50 gramas durante 10 segundos. Realizaram-se cinco impressões na região central do bloco, separadas entre si por uma distância de 100 µm. Após a ciclagem de pH, realizou-se o ensaio de microdureza de superfície final (SMH final) com cinco impressões distantes 100 µm das iniciais, e calculou-se a porcentagem de alteração de dureza superficial (% AMDS) [$\%AMDS = (SMH \text{ final} - SMH \text{ inicial}) / SMH \text{ inicial}] \times 100$ (WHITE, 1987).

Na sequência, os blocos de esmalte foram seccionados longitudinalmente na região central do bloco e uma das metades de cada bloco foi incluída em resina acrílica e seqüencialmente polida (Anexo E).

Para análise da microdureza em secção longitudinal (CSMH) foram realizadas três seqüências de oito impressões distantes 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 e 330 µm da superfície externa do esmalte, sendo uma na região central do bloco e, outras duas, 100 µm umas das outras, com carga de 15 g durante 10s (Anexo C). Em cada profundidade, as médias de dureza (KHN) foram convertidas em conteúdo mineral (% vol. min.) (FEATHERSTONE et al., 1983) para cálculo da perda mineral (ΔZ) (ARENDS; TEN BOSCH, 1992; OGAARD et al., 1988; SULLIVAN et al., 1995).

3.5 Análise do conteúdo de flúor no esmalte após a ciclagem de pH

As outras metades dos blocos seccionados longitudinalmente foram medidas com paquímetro digital (Mitutoyo CD-15B, Mitutoyo Corporation, Japan) para obter-se a área superficial do esmalte (Anexo F). Em seguida, foram retiradas duas camadas de esmalte, através da imersão dos blocos em 0,5 mL de HCl 0,5 mol L⁻¹

sob agitação por 45 segundos. Imediatamente após, foi adicionado 0,5 mL de TISAB II contendo 20,0 g de NaOH/L (DELBEM et al., 2002).

A concentração de íons flúor presentes na solução dos tubos foi analisada com um eletrodo específico para íon flúor (Orion 9609) e analisador (Orion 720 A⁺) após calibração com padrões de 0,125 a 2,0 µg F/mL e 0,250 a 4,0 µg F/mL. Os resultados foram expressos em µg F/cm². A quantidade de esmalte removida foi estimada a partir da quantidade de fósforo inorgânico (FISKE; SUBBAROW, 1925).

3.6 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados obtidos foi empregado o teste de Kruskal-Wallis, utilizando-se o software GMC versão 2002 (CAMPOS, 2003). Em todos os testes foi estabelecido em 5% o nível de significância.

4 Resultado

O pH das suspensões durante os tratamentos foi, em média, $6,93 \pm 0,21$ para os dentifrícios neutros e $5,66 \pm 0,22$ para os acidulados.

A Tabela 1 demonstra que todos os grupos apresentaram uma diminuição na dureza de superfície, independentemente do tratamento. No entanto, o pH acidulado melhorou o desempenho com relação à %AMDS em todas as concentrações de F. O grupo placebo neutro apresentou a maior perda de dureza de superfície. O tratamento com o placebo ácido resultou em %AMDS semelhante ao de 275 neutro. O 550 ácido teve melhor desempenho em relação ao 1100 neutro que, por sua vez, apresentou uma %AMDS maior que a do 1100 ácido e Crest® e igual ao 412 ácido. A porcentagem de redução na microdureza para o 1100 ácido foi a mesma que para o controle positivo e menor do que para 1100 neutro. Entre o 550 neutro e o Baby® não houve diferença estatisticamente significativa (Anexo G).

Tabela 1: Porcentagem de alteração de dureza de superfície (%AMDS), perda mineral (ΔZ) e conteúdo de flúor no esmalte (F) para os diferentes tratamentos (média $\pm$ dp, n = 13)

Grupos	% AMDS		ΔZ (% vol min x μm)		F (μg F/cm ²)	
	neutro	ácido	Neutro	ácido	neutro	ácido
Placebo	-82,1 $\pm$ 2,0 ^a	-74,0 $\pm$ 9,5 ^b	3039,6 $\pm$ 217,8 ^a	2298,6 $\pm$ 407,5 ^b	9,7 $\pm$ 2,6 ^a	8,3 $\pm$ 1,3 ^a
275	-69,5 $\pm$ 6,1 ^b	-48,5 $\pm$ 4,4 ^c	2457,7 $\pm$ 188,1 ^b	1670,0 $\pm$ 395,4 ^c	15,0 $\pm$ 2,3 ^c	15,7 $\pm$ 3,0 ^{b,c}
412	-63,7 $\pm$ 4,7 ^d	-42,9 $\pm$ 2,5 ^e	1976,7 $\pm$ 179,9 ^d	1150,0 $\pm$ 382,2 ^e	16,2 $\pm$ 2,6 ^{b,c,d}	17,0 $\pm$ 3,9 ^{b,e}
Baby®	-59,0 $\pm$ 4,4 ^f	-	1546,6 $\pm$ 189,3 ^c	-	18,7 $\pm$ 4,4 ^e	-
550	-57,5 $\pm$ 4,1 ^f	-36,6 $\pm$ 2,6 ^g	1498,5 $\pm$ 191,4 ^c	848,1 $\pm$ 342,2 ^f	18,4 $\pm$ 4,5 ^{d,e}	18,1 $\pm$ 2,4 ^e
1100	-42,1 $\pm$ 3,4 ^e	-32,8 $\pm$ 1,9 ^h	719,4 $\pm$ 394,0 ^{f,g}	700,5 $\pm$ 167,0 ^{f,g}	24,8 $\pm$ 7,6 ^{f,g}	21,1 $\pm$ 3,9 ^f
Crest®	-34,2 $\pm$ 2,5 ^h	-	635,9 $\pm$ 195,2 ^g	-	26,7 $\pm$ 3,9 ^g	-

Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças estatísticas entre os grupos (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

A perda mineral (ΔZ) foi menor para todos os dentifrícios acidulados em relação aos respectivos neutros, com exceção do grupo 1100. O tratamento com dentifrício 550 acidulado mostrou resultados semelhantes aos dentifrícios com 1100 $\mu\text{g F/g}$. Não houve diferenças estatísticas entre os dentifrícios 1100 $\mu\text{g F/g}$ e o controle positivo (Crest®) e entre o dentifrício comercial (Baby®) e o 550 neutro, sendo que esses dois últimos apresentaram uma perda mineral semelhante ao 275 ácido (Anexos J e L).

Todos os grupos mostraram um conteúdo de F maior no esmalte do que os respectivos placebos (Anexo H). Entretanto, os grupos acidulados apresentaram um conteúdo de F igual ao dos neutros correspondentes. Houve um aumento significativo do grupo 275 para 550 e deste para 1100, nos ácidos e neutros. O grupo 1100 ácido apresentou um conteúdo de F igual ao 1100 neutro, porém menor que do Crest®. A profundidade média de esmalte retirado após as biópsias foi de $126,2 \mu\text{m} \pm 15,4$.

Na Figura 1, é possível observar que os valores de %AMDS e conteúdo de F no esmalte mostraram, respectivamente, uma relação inversa e direta, sendo linear para os dentifrícios neutros e potencial para os acidulados. Para a perda mineral, a relação foi linear para os neutros e polinomial para os acidulados (Anexos J e L).

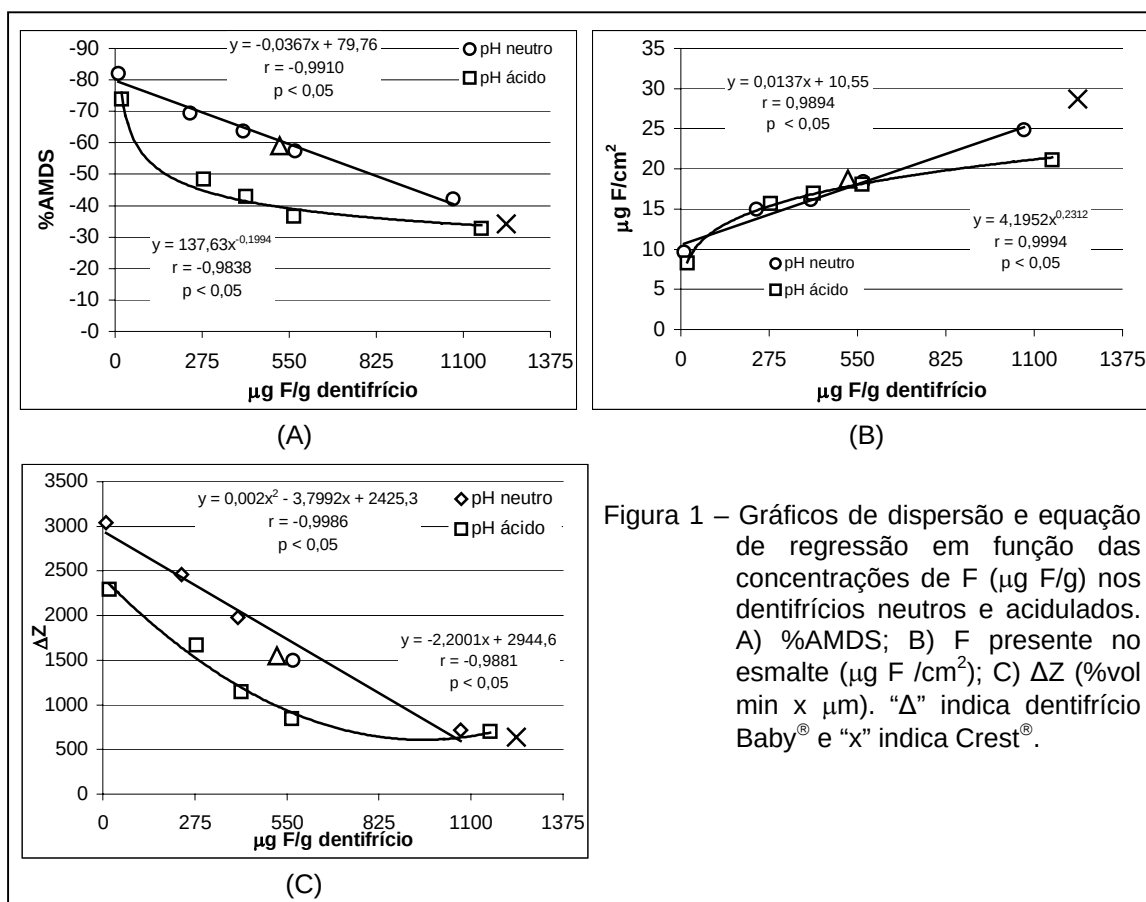


Figura 1 – Gráficos de dispersão e equação de regressão em função das concentrações de F ($\mu\text{g F/g}$) nos dentifrícios neutros e acidulados. A) %AMDS; B) F presente no esmalte ($\mu\text{g F/cm}^2$); C) ΔZ (%vol min $\times \mu\text{m}$). "Δ" indica dentifício Baby® e "x" indica Crest®.

A análise da quantidade de F e Ca presentes nas soluções DES e RE após a ciclagem de pH demonstrou uma relação, respectivamente, linear direta e inversa em relação à concentração de F nos dentifrícios (Figuras 2A e 2B). Todos os blocos dos dentifrícios neutros apresentaram uma captação de F da solução (ΔF negativo) enquanto os acidulados liberaram F, com exceção do placebo (ΔF positivo) (Anexo I).

A liberação de Ca nas soluções foi significativamente menor para os dentifrícios acidulados em comparação aos neutros, com exceção do 550 $\mu\text{gF/g}$, enquanto que o 1100 acidulado liberou menos Ca do que o controle positivo (Crest®). Para o ΔP (Figura 2C), a quantidade encontrada foi significativamente menor para os acidulados em todas as concentrações de F (Anexo I).

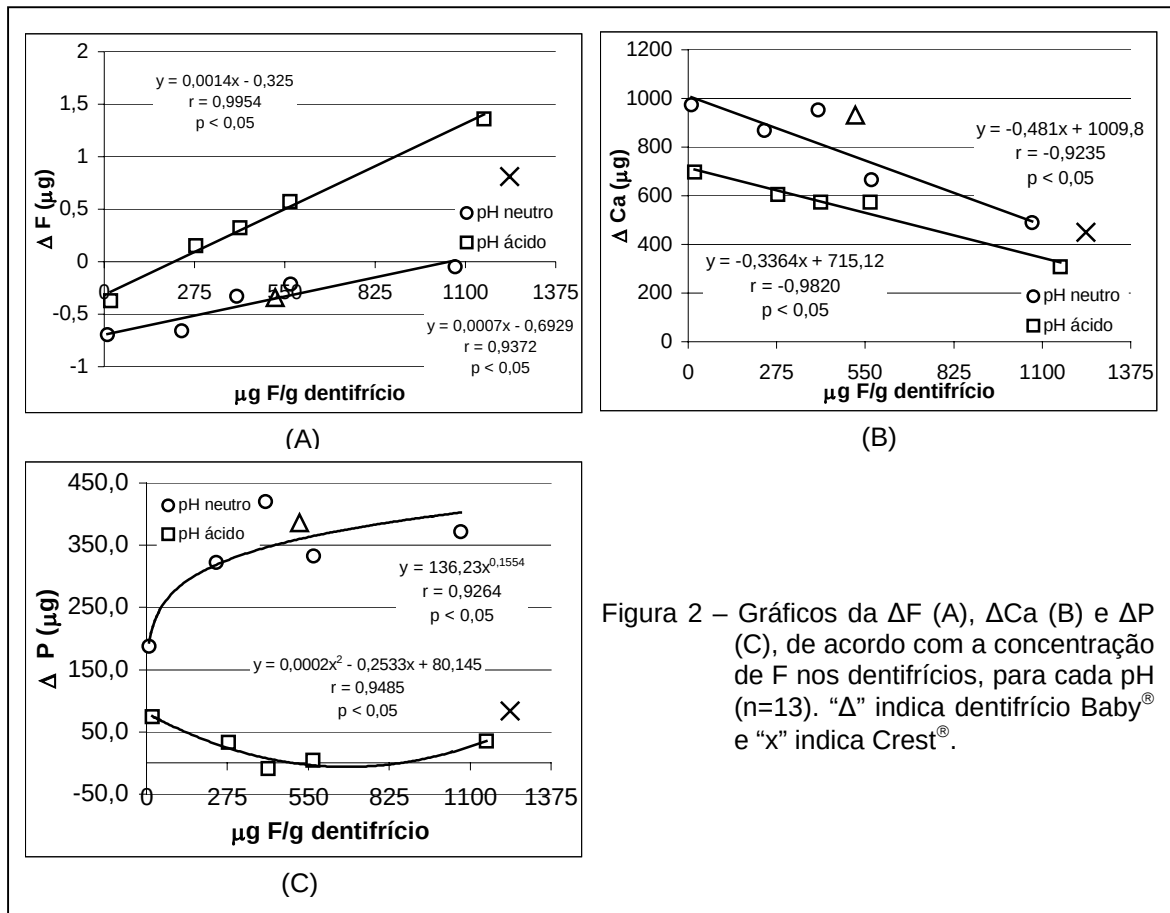


Figura 2 – Gráficos da ΔF (A), ΔCa (B) e ΔP (C), de acordo com a concentração de F nos dentifrícios, para cada pH (n=13). “ Δ ” indica dentifrício Baby® e “x” indica Crest®.

Quanto aos dentifrícios comerciais, observa-se que os resultados de ΔF , ΔCa e ΔP para o Baby® são próximos ou iguais aos do 412 ou 550 neutro, enquanto os do Crest® são mais próximos ou iguais aos do 1100, com exceção do ΔP , que foi semelhante ao placebo ácido.

5 Discussão

A relação entre dentifrício fluoretado e fluorose dentária está bem estabelecida. Há uma correlação altamente significativa entre a idade da criança, a concentração de flúor nos dentifrícios e risco para o desenvolvimento de fluorose dentária (COCHRAN et al., 2004), o que tem se refletido nas recomendações para minimizar a ingestão excessiva de F a partir dos dentifrícios, como usar em pouca quantidade ou usar um produto com menor concentração de F, embora não se saiba o impacto dessas medidas em termos de prevenção de cáries (NEGRI; CURY, 2002).

Atualmente, no Brasil, os dentifrícios são considerados produtos de higiene pessoal e não de uso terapêutico. Não há nenhuma exigência com relação à concentração mínima de F que esses produtos devem possuir, o que permite a comercialização de produtos com baixas concentrações de F destinados ao público infantil (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2000). No entanto, como demonstrado no presente estudo, se esses produtos não possuírem artifícios para torná-los mais reativos, sua ação anticariogênica estará prejudicada, uma vez que o produto comercial Baby[®] apresentou menor eficiência anticariogênica em relação ao controle positivo em todos os parâmetros analisados no presente trabalho.

A capacidade de se formar depósitos de F na superfície do esmalte é um fator-chave na eficiência anticariogênica de dentifrícios fluoretados (TEN CATE, 1997) e dentre esses compostos, o CaF_2 é um dos principais. A formação de CaF_2 pode ser melhorada através do aumento da concentração de F do agente tópico ou do seu tempo de aplicação e pela diminuição do pH do produto (OGAARD, 2001).

Segundo Saxegaard e Rolla (1988), a redução do pH do meio de 7,0 para 5,5 resulta na formação de CaF_2 4,5 vezes maior.

O conteúdo de F no esmalte pode não fornecer informações conclusivas com relação à eficácia dos produtos testados (TEN CATE; MUNDORF-SHRESTHA, 1995). No presente trabalho, apesar de não ter sido observada uma diferença expressiva do conteúdo de F no esmalte dos dentifrícios neutros para os acidulados (Tabela 1), para esses últimos, a quantidade de F encontrada nas soluções (ΔF) foi significativamente maior (Figura 2A). Isso sugere que durante o tratamento com os dentifrícios há uma maior formação de CaF_2 ou compostos semelhantes a ele (“ CaF_2 -like”) na superfície do esmalte, os quais se dissolveriam durante o processo de desmineralização, proporcionando maior disponibilidade de F.

Utilizando dentifrícios de diferentes concentrações de F e a técnica de ciclagem de pH, ten Cate e Simons (1986) observaram que à medida que se aumenta a concentração de F no dentifrício, diminui-se a perda de cálcio e aumenta a captação de F pelo esmalte.

Estudos têm utilizado a liberação de Ca para as soluções como um indicativo da intensidade de desmineralização do esmalte. A presença de F resulta em menor perda mineral a partir do esmalte, isto é, menor perda de Ca para o meio (DE KLOET et al., 1986; TEN CATE; SIMONS, 1986). Tanto o ΔCa quanto o ΔP (Figura 2B e 3C) podem ser relacionados com os resultados obtidos para %AMDS e ΔZ . Esse processo foi mais evidente para os dentifrícios acidulados, o que teria melhorado suas propriedades anticariogênicas (Tabela 1). A menor quantidade de P (ΔP) encontrada nas soluções desses grupos reforça essa hipótese.

A existência da relação dose-resposta entre os produtos utilizados é uma característica desejável em modelos de estudo *in vitro* (TEN CATE; MUNDORF-

SHRESTHA, 1995). Analisando a Figura 1, é possível verificar que os dados se ajustaram a uma equação de regressão, mostrando uma tendência de aumento de F no esmalte e diminuição da %AMDS e da perda mineral (ΔZ) à medida que se aumenta a concentração de F nos dentifrícios. A relação potencial para %AMDS e conteúdo de F e polinomial para ΔZ dos dentifrícios acidulados implica que um pequeno aumento na concentração de flúor do produto resulta em uma resposta anticariogênica acentuada nos agentes com até 550 $\mu\text{g F/g}$.

A avaliação da área da lesão (ΔZ) representa a intensidade do avanço da lesão de cárie e é útil para comparações entre os tratamentos (WHITE; FEATHERSTONE, 1987). No presente estudo, os dentifrícios experimentais com 1100 $\mu\text{g F/g}$ foram tão eficientes quanto o controle positivo em limitar a progressão da cárie, como também o 550 acidulado proporcionou uma perda mineral igual ao do dentifrício 1100 neutro.

Embora o controle positivo tenha mostrado superioridade para a %AMDS em comparação ao grupo 1100 neutro, esse fato pode ser devido à concentração de flúor encontrada no Crest[®] ter sido também maior (1235 $\mu\text{g F/g}$ para o Crest[®] e 1068 $\mu\text{g F/g}$ para o 1100 neutro), mas isso não influenciou nos resultados de perda mineral (ΔZ).

Segundo a American Dental Association (apud PROSKIN et. al, 1995), um dentifrício testado pode ser considerado equivalente ao dentifrício controle positivo se os parâmetros analisados se localizarem entre 90 e 110% da média do controle, podendo ser utilizado sem nenhum prejuízo no resultado terapêutico. Para o presente estudo, essa condição foi observada para os dentifrícios 550 e 1100 acidulado, em comparação ao Crest[®] com relação à %AMDS. Embora esses

conceitos sejam definidos para estudos clínicos e não laboratoriais, eles foram utilizados devido à inexistência de parâmetros para estudos *in vitro*.

Alguns estudos clínicos demonstraram a inexistência de uma relação dose-efeito entre a concentração de F nos dentifrícios e a progressão da cárie, mas foram realizados sem baseline e sem grupo controle (NEWBRUN, 1992; AMMARI et al., 2003). Outros, por sua vez, confirmaram que dentifrícios com 275 µg F/g têm a efetividade prejudicada em relação aos de 1100 µg F/g, mas não há estudos consistentes comparando dentifrícios com 550 e 1100 µg F/g (AMMARI et al., 2004).

Os resultados obtidos no presente estudo *in vitro* não devem ser considerados definitivos, e sim como um suporte para a realização de estudos clínicos controlados para comprovar os benefícios de novas formulações em reduzir o incremento de cárie, principalmente em crianças na idade de risco para o desenvolvimento de fluorose dentária.

6 Conclusão

Conclui-se que os dentifrícios acidulados mostraram uma relação dose-resposta quanto aos parâmetros analisados e que é possível aumentar a eficácia anticariogênica de um dentifrício através da redução do seu pH. Entre as duas concentrações testadas, somente a de 550 μg F/g teve ação semelhante ao dentifrício 1100 neutro.

Referências¹

Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº79, de 28 de agosto de 2000.

Arends J, Ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. J Dent Res 1992; 71(sp. Issue):924-8.

Ammari AB, Bloch-Zupan A, Ashley PF. Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1000 ppm or above. Caries Res 2003; 37(2): 85-92.

Buzalaf MAR, Cury JA, Whitford GM. Fluoride exposures and dental fluorosis: a literature review. Rev Fac Odontol Bauru 2001; 9(1/2):1-10.

Campos GM. GMC 2002 [computer program]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia, 2003. Available from URL <http://www.forp.usp.br/restauradora/gmv/gmc.html#gmc> Acessado em 2003 Feb.

Cochran JA, Ketley CE, Duckworth RM, Van Loveren C, Holbrook WP, Seppa L, et al. Development of a standardized method for comparing fluoride ingested from toothpaste by 1.5-3.5-year-old children in seven European countries. Part 2: ingestion results. Community Dent Oral Epidemiol 2004; 32(Suppl 1):47-53.

De Kloet HJ, Exterjate RAM, Rempt HE, Ten Cate JM. *In vivo* bovine enamel remineralization and fluoride uptake from two dentifrices containing different fluoride concentrations. J Dent Res 1986; 65(12):1410-4.

Delbem ACB, Vieira AEM, Cury JA. Avaliação do potencial cariostático do dentifrício brasileiro de maior participação no mercado. Rev Bras Odontol 2002; 59(1):14-8.

Featherstone JDB, Ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. Caries Res 1983; 17(5): 385-91.

Fiske CH, Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem 1925; 66(2):375-400.

¹ De acordo com "Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journals – Vancouver".

Hamilton J. New CDC report offers fluoride use tips. J Calif Dent Assoc 2001; 29(11):723-4.

Horowitz HS. The need for toothpastes with lower than conventional fluoride concentration for preschool-aged children. J Public Health Dent 1992; 52(4):216-21.

Lima YBO, Cury JA. Ingestão de flúor por crianças pela água e dentifrício. Rev Saúde Pública 2001; 35(6): 576-81.

Mascarenhas AK. Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. Pediatr Dent 2000; 22(4):269-77.

Negri HMD, Cury JA. Efeito dose-resposta de uma formulação de dentifrícios com concentração reduzida de fluoreto – estudo in vitro. Pesqui Odontol Bras 2002;16(4):361-5.

Newbrun E. Current Regulations and recommendations concerning water fluoridation, fluoride supplements and topical fluoride agents. J Dent Res 1992; 71(5):1255-65.

Ogaard B, Rølla G, Arends J. In vivo progress of enamel and root surface lesions under plaque as a function of time. Caries Res 1988; 22(5):302-5.

Ogaard B. CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. Caries Res 2001; 35(Suppl 1):40-4.

Pessan JP, Silva SMB, Buzalaf MAR. Evaluation of the total fluoride intake of 4-7-year-old children from diet and dentifrice. J Appl Oral Sci 2003; 11(2):150-6.

Proskin HM, Kingman A, Naleway C, Wozniak WT. Comparative attributes for the description of the relative efficacy of therapeutic agents: general concepts and definitions, and application to the American Dental Association guidelines for the comparison of the clinical anticaries efficacy of fluoride dentifrices. J Clin Dent 1995; 6(3):176-84.

Saxegaard E, Rølla, G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. Scand J Dent Res 1988, v.96, n.6, p.523-35, 1988.

Sullivan RJ, Fletcher R, Bachiman R, Penugonda B, LeGeros RZ. Intra-oral comparison and evaluation of the ability of fluoride dentifrices to promote the mineralization of caries-like lesions in dentin and enamel. J Clin Dent 1995; 6(2):135-8.

Ten Cate JM, Simons Y. The efficacy of toothpastes with different fluoride contents, a pH-cycling study. In: Leach SA. Factors relating to demineralisation and remineralisation of the teeth. Oxford: IRL Press; 1986.

Ten Cate JM, Mundorff-Shrestha SA. Working group report 1: laboratory models for caries (in vitro and animal models). Adv Dent Res 1995; 9(3):332-4.

Ten Cate JM. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. Eur J Oral Sci 1997; 105(5 Pt 2):461-5.

Vieira AEM. Metodologia para determinar a relação dose-resposta de produtos fluoretados utilizando esmalte bovino e modelo de ciclagem de pH. [Dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2003.

White DJ. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. I. Effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. Caries Res 1987; 21(2):126-40.

White DJ, Featherstone JDB. A longitudinal analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro. Caries Res 1987; 21(6):502-12.

White DJ. The application of *in vitro* models to research on demineralization and remineralization of the teeth. Adv Dent Res 1995; 9(2):175-93.

Zero DT. In situ caries models. Adv Dent Res 1995; 9(3):214-30.



Anexo A

PREPARO E SELEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

- confecção dos blocos de esmalte bovino (4 x 4 mm)



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



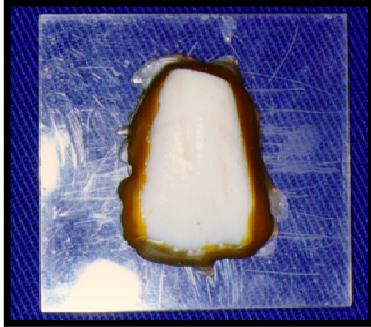
2. Coroa dentária fixada em placa de acrílico (4x4 cm e 4 mm de espessura) com cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA) pela sua face proximal.



3. Placa montada em cortadeira (Isomet Low Speed Saw - Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) sob refrigeração com água destilada/deionizada.



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



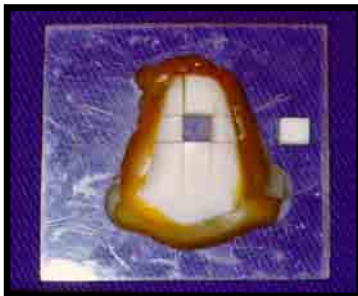
5. Face vestibular fixada na placa de acrílico.



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



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

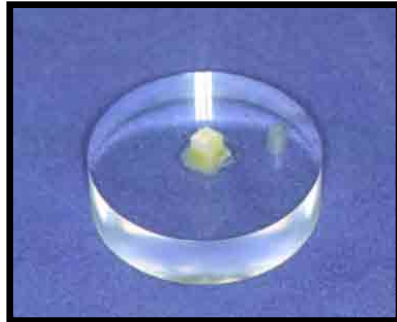


8. Fragmento vestibular do dente bovino, fixado sobre placa de resina. Ao lado, bloco de esmalte dentário.

Anexo B

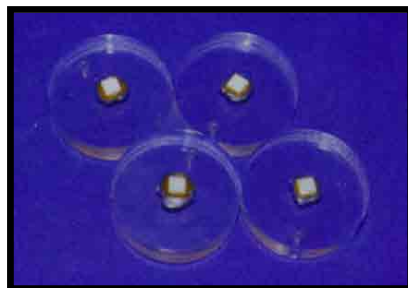
PREPARO E SELEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

- *planificação da dentina e polimento do esmalte*



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

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



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

Seqüência do polimento de esmalte:

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

Anexo C

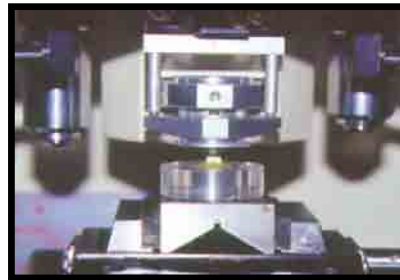
AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA

- *ciclagem DES>RE*



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

2. Bloco de esmalte sendo submetido à leitura no microdurômetro, carga estática de 50 gramas e tempo de 10 segundos, para análise da microdureza de superfície. Para análise da microdureza em secção longitudinal, utilizou-se carga estática de 15 gramas, tempo de 10 segundos.



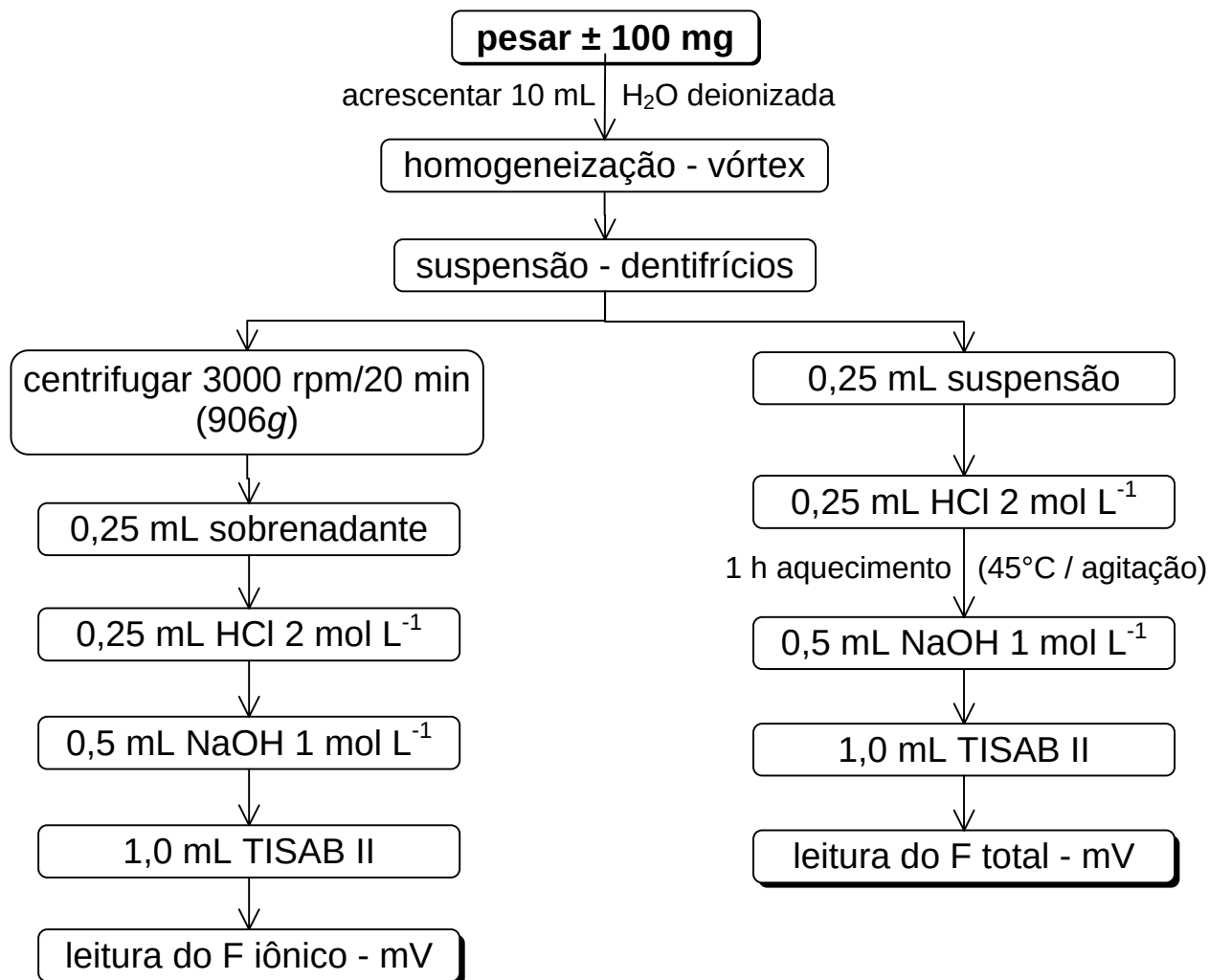
3. Fotomicrografia das impressões para análise de microdureza de superfície inicial e final do esmalte (Aumento: 100x).



4. Fotomicrografia das indentações da análise de microdureza em secção longitudinal do esmalte. (Aumento: 100x)

Anexo D

DOSAGEM DE F NOS DENTIFRÍCIOS*



* Delbem ACB, Vieira AEM, Cury, JA. Avaliação do potencial cariostático do dentifrício brasileiro de maior participação no mercado. Rev Bras Odontol 2002; 59:14-8

Dentifrícios	F iônico (µg/g)		F total (µg/g)	
	neutro	ácido	neutro	ácido
Placebo	9,6 ± 1,0	19,7 ± 3,0	36,2 ± 1,4	15,5 ± 2,4
275	236,1 ± 8,5	279,2 ± 6,9	263,2 ± 7,0	302,2 ± 13,7
412	404,3 ± 8,4	412,7 ± 4,5	426,3 ± 12,5	423,6 ± 11,9
Baby®	519,9 ± 13,9	-	505,7 ± 11,8	-
550	568,3 ± 14,4	564,9 ± 6,3	555,0 ± 11,8	576,4 ± 24,6
1100	1068,4 ± 30,6	1156,1 ± 15,5	1060,5 ± 42,5	1169,1 ± 24,7
Crest®	1235,0 ± 15,6	-	1223,8 ± 22,0	-

Anexo E

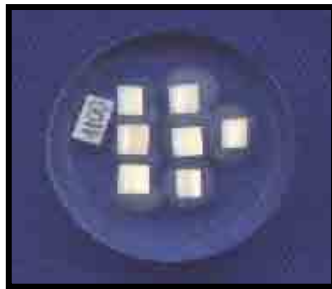
MICRODUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL

- preparo dos corpos de prova



1. Blocos de esmalte fixados em lâminula de vidro com cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA) para secção no sentido longitudinal no centro da área exposta, utilizando disco diamantado (série 15 HC Diamond - n. 11-4243 Buehler) montado em cortadeira sob refrigeração com água destilada/deionizada.

3. Embutidora metalográfica (AROTEC PRE 30S) - utilizada para inclusão dos blocos de esmalte em 5 gramas de resina acrílica (Buehler Transoptic Powder, Lake Bluff, Illinois, USA), pressão de 150 Kgf/cm², tempo de aquecimento de sete minutos e mais sete minutos de resfriamento. Os blocos foram fixados em posição com cola adesiva (Super Bonder – Loctite).



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

Seqüência do polimento do corpo de prova:

1. Na Politriz APL-4 AROTEC - lixa de granulação 320 (1 minuto - 2 pesos), 600, 800 e 1200 (2 minutos - 2 pesos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/deionizada por dois minutos, entre cada lixa;
2. Na Politriz APL-4 AROTEC - acabamento final com disco de papel feltro MICROCLOTH SUPREME PSA (Buehler Polishing Cloth) e suspensão de diamante 1/4 micron base-água (Buehler) (2 minutos);
3. Limpeza em lavadora ultrassônica utilizando solução detergente (Ultramet Sonic Cleaning Buehler) diluída 20:1 em água destilada/deionizada (3 minutos);
4. Lavagem durante 30 segundos com jato de água destilada/deionizada.

Anexo F

DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FLÚOR NO ESMALTE



1. Blocos de esmalte seccionados foram medidos com paquímetro digital (Mitutoyo CD-15B, Mitutoyo Corporation, Kyoto, Japan), obtendo-se a área superficial do esmalte.

2. Os blocos foram isolados com uma fina camada de esmalte de unha vermelho.



3. Os blocos foram colocados individualmente em tubos de ensaio de polipropileno e, a seguir dispostos em mesa agitadora orbital (Mesa Orbital TE-141, Tecnal). Após, adicionou-se 0,5 mL de HCl 0,5 mol L⁻¹ nos tubos de ensaio utilizando repipetador (Eppendorf Multipetrit).

4. Decorridos 45 s, adicionou-se 0,5 mL de TISAB II (20 g NaOH/L) em cada tubo, sendo os blocos removidos e secos com papel toalha. O procedimento foi repetido para retirar outra camada de esmalte.



5. As soluções das biópsias foram colocadas em frascos de poliestireno J-10 (Injeplast) e as leituras da concentração de íons flúor realizadas com eletrodo específico para íon flúor (9609 BN, Orion Research) e analisador de íons (720A⁺, Orion Research), sob agitação constante.

Anexo G

MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE (SMH)

PLACEBO acidulado

		SMH inicial										SMH final				% AMDS	
blocos						média	dp						média	dp			
1	331	321	325	320	325	324,4	4,3	72	79	83	70	72	75,2	5,5		-76,82	
2	343	340	340	337	325	337,0	7,0	79	75	89	89	72	80,8	7,9		-76,02	
3	339	337	345	342	333	339,2	4,6	115	116	107	115	118	114,2	4,2		-66,33	
4	328	336	325	333	339	332,2	5,7	124	91	118	119	111	112,6	12,9		-66,10	
5	339	330	331	340	337	335,4	4,6	113	105	101	100	88	101,4	9,1		-69,77	
6	331	343	343	328	328	334,6	7,8	106	110	121	115	99	110,2	8,4		-67,07	
7	328	327	331	330	328	328,8	1,6	62	65	53	57	73	62,0	7,7		-81,14	
8	331	337	331	336	337	334,4	3,1	20	15	19	26	21	20,2	4,0		-93,96	
9	340	336	334	343	339	338,4	3,5	97	113	126	112	121	113,8	11,0		-66,37	
10	325	328	328	331	328	328,0	2,1	119	102	93	103	108	105,0	9,5		-67,99	
11	322	330	343	321	322	327,6	9,3	95	104	108	94	113	102,8	8,2		-68,62	
12	350	348	347	350	345	348,0	2,1	37	32	28	26	27	30,0	4,5		-91,38	
13	333	347	343	342	342	341,4	5,1	109	122	91	98	91	102,2	13,3		-70,06	
						334,6								87,0			-74,0
						6,5								31,9			9,5

PLACEBO neutro

		SMH inicial						SMH final						% AMDS			
blocos								média	dp							média	dp
1	342	337	337	340	339	339,0	2,1	66	71	72	62	84	71,0	8,3	-79,1		
2	342	342	350	348	353	347,0	4,9	49	50	61	66	71	59,4	9,7	-82,9		
3	339	336	333	336	340	336,8	2,8	55	56	69	68	61	61,8	6,5	-81,7		
4	336	330	340	347	340	338,6	6,2	77	65	67	65	75	69,8	5,8	-79,4		
5	325	330	325	336	325	328,2	4,9	68	54	59	63	69	62,6	6,3	-80,9		
6	350	351	353	351	351	351,2	1,1	76	53	61	61	62	62,6	8,3	-82,2		
7	336	334	334	333	328	333,0	3,0	78	71	65	54	62	66,0	9,1	-80,2		
8	343	342	336	327	328	335,2	7,5	48	54	64	65	50	56,2	7,9	-83,1		
9	330	336	334	324	333	331,4	4,7	57	50	55	49	50	52,2	3,6	-84,4		
10	342	337	337	340	339	339,0	2,1	57	61	51	47	49	53,0	5,8	-84,4		
11	331	336	330	334	334	333,0	2,4	65	67	56	55	62	61,0	5,3	-81,7		
12	331	330	328	336	325	330,0	4,1	63	62	61	65	44	59,0	8,5	-82,1		
13	333	334	339	330	334	334,0	3,2	44	52	47	57	37	47,4	7,6	-85,8		
						336,6								60,2		-82,1	
						6,5								6,8		2,0	

275 ppm F acidulado

		SMH inicial						SMH final						% AMDS		
blocos		média						média						dp		
1	327	334	328	336	336	332,2	4,4	161	171	169	167	163	166,2	4,1	-49,97	
2	347	336	337	343	339	340,4	4,6	188	185	174	174	190	182,2	7,7	-46,47	
3	343	339	343	337	334	339,2	3,9	173	180	189	189	182	182,6	6,7	-46,17	
4	328	325	337	327	337	330,8	5,8	190	189	174	178	187	183,6	7,2	-44,50	
5	334	337	327	337	334	333,8	4,1	162	166	178	176	173	171,0	6,8	-48,77	
6	331	333	334	339	331	333,6	3,3	184	183	177	166	176	177,2	7,2	-46,88	
7	342	343	343	331	345	340,8	5,6	179	182	173	182	185	180,2	4,5	-47,12	
8	348	336	347	340	337	341,6	5,6	187	194	187	187	187	188,4	3,1	-44,85	
9	339	337	350	331	331	337,6	7,8	187	172	172	172	170	174,6	7,0	-48,28	
10	348	336	343	337	345	341,8	5,2	144	147	140	152	147	146,0	4,4	-57,28	
11	325	345	345	343	350	341,6	9,6	180	186	190	187	183	185,2	3,8	-45,78	
12	320	322	324	328	328	324,4	3,6	139	124	141	131	141	135,2	7,5	-58,32	
13	325	339	320	330	320	326,8	8,0	165	174	176	179	180	174,8	6,0	-46,51	
						335,7								172,9		-48,5
						5,9								15,7		4,4

275 ppm F neutro

blocos		SMH inicial						SMH final						% AMDS		
		média						dp								
1	330	337	337	333	334	334,2	2,9	135	125	118	123	118	123,8	7,0	-63,0	
2	340	337	343	337	340	339,4	2,5	128	116	122	124	118	121,6	4,8	-64,2	
3	347	347	334	340	334	340,4	6,5	110	94	94	95	90	96,6	7,7	-71,6	
4	327	334	327	339	336	332,6	5,4	115	107	109	111	102	108,8	4,8	-67,3	
5	337	336	339	334	331	335,4	3,0	113	108	116	103	109	109,8	5,0	-67,3	
6	337	334	339	331	342	336,6	4,3	95	98	118	113	96	104,0	10,7	-69,1	
7	342	343	347	348	342	344,4	2,9	116	118	115	124	116	117,8	3,6	-65,8	
8	337	339	340	333	340	337,8	2,9	118	121	119	108	110	115,2	5,8	-65,9	
9	339	333	336	336	330	334,8	3,4	126	120	122	127	127	124,4	3,2	-62,8	
10	339	340	342	337	343	340,2	2,4	91	93	84	91	94	90,6	3,9	-73,4	
11	343	330	343	334	340	338,0	5,8	87	103	74	80	93	87,4	11,3	-74,1	
12	340	334	348	339	343	340,8	5,2	88	103	92	87	77	89,4	9,4	-73,8	
13	324	330	320	331	334	327,8	5,7	52	48	45	52	52	49,8	3,2	-84,8	
						337,1								103,0		-69,5
						4,3								20,7		6,1

412,5 ppm F acidulado

blocos		SMH inicial						SMH final						% AMDS		
		média						média						dp		
1	347	337	347	340	345	343,2	4,5	196	195	209	190	198	197,6	7,0	-42,42	
2	331	331	334	333	334	332,6	1,5	198	199	196	200	194	197,4	2,4	-40,65	
3	347	347	348	350	343	347,0	2,5	204	213	214	211	204	209,2	4,9	-39,71	
4	328	325	333	328	321	327,0	4,4	192	199	184	203	197	195,0	7,3	-40,37	
5	327	331	330	324	330	328,4	2,9	165	175	178	169	168	171,0	5,3	-47,93	
6	337	325	325	336	331	330,8	5,8	183	181	194	195	195	189,6	7,0	-42,68	
7	333	320	339	336	322	330,0	8,5	185	186	176	195	173	183,0	8,7	-44,55	
8	325	343	342	320	324	330,8	10,8	198	201	190	195	189	194,6	5,1	-41,17	
9	337	339	336	328	320	332,0	7,9	182	179	192	183	196	186,4	7,2	-43,86	
10	324	347	347	328	320	333,2	12,9	178	186	178	176	179	179,4	3,8	-46,16	
11	347	343	343	336	342	342,2	4,0	184	195	190	184	190	188,6	4,7	-44,89	
12	340	350	334	348	348	344,0	6,8	199	183	192	200	206	196,0	8,8	-43,02	
13	340	336	342	328	331	335,4	5,9	190	209	206	194	204	200,6	8,2	-40,19	
						335,1								191,4		-42,9
						6,6								9,9		2,5

412,5 ppm F neutro

blocos		SMH inicial						SMH final						% AMDS		
		média						média						dp		
1	336	334	331	325	330	331,2	4,2	112	123	109	103	120	113,4	8,1	-65,8	
2	339	337	340	343	340	339,8	2,2	124	131	120	130	126	126,2	4,5	-62,9	
3	331	331	328	331	330	330,2	1,3	131	127	131	126	121	127,2	4,1	-61,5	
4	343	343	350	348	340	344,8	4,1	119	112	127	118	121	119,4	5,4	-65,4	
5	337	331	339	336	339	336,4	3,3	151	112	130	149	115	131,4	18,3	-60,9	
6	336	340	343	339	343	340,2	2,9	112	128	109	110	113	114,4	7,8	-66,4	
7	347	348	350	353	350	349,6	2,3	139	132	119	128	136	130,8	7,8	-62,6	
8	339	336	345	340	345	341,0	3,9	126	157	157	158	152	150,0	13,6	-56,0	
9	348	340	348	345	347	345,6	3,4	115	125	124	123	120	121,4	4,0	-64,9	
10	343	336	334	337	340	338,0	3,5	155	162	153	150	150	154,0	4,9	-54,4	
11	337	334	336	337	334	335,6	1,5	105	94	118	111	109	107,4	8,8	-68,0	
12	333	334	339	330	334	334,0	3,2	104	102	103	105	104	103,6	1,1	-69,0	
13	342	343	337	348	340	342,0	4,1	98	106	95	96	116	102,2	8,8	-70,1	
						339,1								123,2		-63,7
						5,7								16,0		4,7

Baby

blocos	SMH inicial						média	dp	SMH final						média	dp	% AMDS
1	343	339	343	343	340		341,6	1,9	164	165	163	141	165		159,6	10,4	-53,3
2	327	327	330	330	331		329,0	1,9	142	133	140	136	144		139,0	4,5	-57,8
3	327	336	342	330	331		333,2	5,9	172	172	149	157	154		160,8	10,6	-51,7
4	343	347	334	339	334		339,4	5,7	149	145	146	135	145		144,0	5,3	-57,6
5	330	334	334	333	330		332,2	2,0	121	140	137	134	120		130,4	9,3	-60,7
6	339	333	337	343	345		339,4	4,8	115	129	131	134	136		129,0	8,3	-62,0
7	322	324	327	333	333		327,8	5,1	145	142	136	139	131		138,6	5,4	-57,7
8	342	340	347	343	337		341,8	3,7	154	150	168	150	149		154,2	7,9	-54,9
9	340	343	347	347	348		345,0	3,4	128	121	117	116	131		122,6	6,7	-64,5
10	328	328	331	330	334		330,2	2,5	145	133	155	153	147		146,6	8,6	-55,6
11	342	334	334	340	337		337,4	3,6	120	125	128	115	125		122,6	5,1	-63,7
12	348	347	347	337	347		345,2	4,6	120	122	116	113	116		117,4	3,6	-66,0
13	336	337	324	339	330		333,2	6,1	123	120	133	140	131		129,4	8,0	-61,2
							336,6								138,0		-59,0
							6,0								14,4		4,4

550 ppm F neutro

blocos	SMH inicial						média	dp	SMH final						média	dp	% AMDS
1	343	340	342	348	340		342,6	3,3	152	154	160	169	151		157,2	7,5	-54,1
2	348	348	343	339	340		343,6	4,3	146	153	150	144	158		150,2	5,6	-56,3
3	342	345	348	347	330		342,4	7,3	143	137	141	148	139		141,6	4,2	-58,6
4	342	348	343	343	350		345,2	3,6	174	179	169	169	161		170,4	6,7	-50,6
5	325	334	330	333	331		330,6	3,5	129	137	125	142	143		135,2	7,9	-59,1
6	347	345	339	339	337		341,4	4,3	175	168	178	157	161		167,8	8,9	-50,8
7	339	337	339	342	336		338,6	2,3	137	136	139	130	141		136,6	4,2	-59,7
8	333	333	330	331	325		330,4	3,3	137	146	154	145	141		144,6	6,3	-56,2
9	325	327	328	330	327		327,4	1,8	154	147	147	147	153		149,6	3,6	-54,3
10	347	348	340	337	345		343,4	4,7	130	135	120	138	129		130,4	6,9	-62,0
11	328	327	325	331	339		330,0	5,5	134	116	127	116	132		125,0	8,6	-62,1
12	336	339	330	328	331		332,8	4,5	132	122	128	124	138		128,8	6,4	-61,3
13	339	343	339	337	334		338,4	3,3	120	127	138	133	124		128,4	7,2	-62,1
							337,4								143,5		-57,5
							6,3								14,9		4,1

550 ppm F acidulado

blocos	SMH inicial						média	dp	SMH final						média	dp	% AMDS
1	320	322	322	328	322		322,8	3,0	213	197	201	201	207		203,8	6,3	-36,86
2	347	337	327	347	350		341,6	9,5	209	219	221	224	216		217,8	5,7	-36,24
3	324	343	333	337	331		333,6	7,1	217	217	210	219	216		215,8	3,4	-35,31
4	321	320	325	321	320		321,4	2,1	207	200	198	209	209		204,6	5,2	-36,34
5	337	340	334	339	324		334,8	6,5	197	196	200	201	190		196,8	4,3	-41,22
6	348	347	343	347	345		346,0	2,0	228	229	221	227	217		224,4	5,2	-35,14
7	343	356	348	334	334		343,0	9,4	206	215	221	209	209		212,0	6,0	-38,19
8	334	320	347	333	340		334,8	10,0	216	222	217	216	221		218,4	2,9	-34,77
9	334	339	325	336	347		336,2	8,0	201	209	203	212	202		205,4	4,8	-38,91
10	345	345	345	331	328		338,8	8,6	217	235	219	231	227		225,8	7,7	-33,35
11	331	340	322	331	330		330,8	6,4	228	224	213	221	224		222,0	5,6	-32,89
12	337	337	334	337	331		335,2	2,7	213	221	209	217	219		215,8	4,8	-35,62
13	336	339	343	331	331		336,0	5,2	200	196	202	201	189		197,6	5,3	-41,19
							335,0								212,3		-36,6
							7,1								9,8		2,6

blocos		SMH inicial						dp		SMH final						dp		% AMDS
		média								média								
1	343	347	353	350	350	348,6	3,8	221	244	227	227	239	231,6	9,5	-33,56			
2	340	331	339	340	343	338,6	4,5	234	232	230	221	221	227,6	6,2	-32,78			
3	350	345	322	328	330	335,0	11,9	240	237	253	234	244	241,6	7,4	-27,88			
4	327	327	340	327	334	331,0	5,9	216	228	210	225	235	222,8	9,9	-32,69			
5	347	353	337	347	347	346,2	5,8	211	228	235	232	221	225,4	9,6	-34,89			
6	325	328	325	331	324	326,6	2,9	221	217	219	230	217	220,8	5,4	-32,39			
7	328	340	327	350	333	335,6	9,6	224	217	221	226	216	220,8	4,3	-34,21			
8	331	337	321	330	322	328,2	6,7	225	228	227	216	206	220,4	9,3	-32,85			
9	336	343	340	342	350	342,2	5,1	230	229	230	224	220	226,6	4,4	-33,78			
10	339	345	322	343	343	338,4	9,4	225	222	218	224	224	222,6	2,8	-34,22			
11	331	343	334	334	340	336,4	4,9	215	209	235	223	216	219,6	9,9	-34,72			
12	327	330	327	340	337	332,2	6,0	232	235	242	223	223	231,0	8,2	-30,46			
13	320	325	320	320	320	321,0	2,2	222	211	224	219	224	220,0	5,4	-31,46			
						335,4								225,4		-32,8		
						7,8								6,3		1,9		

blocos		SMH inicial						SMH final						% AMDS		
		média	dp	média	dp											
1	339	340	342	343	347	342,2	3,1	219	223	217	203	223	217,0	8,2	-36,6	
2	330	333	333	334	331	332,2	1,6	206	181	191	163	164	181,0	18,3	-45,5	
3	324	325	328	327	324	325,6	1,8	187	177	198	170	183	183,0	10,6	-43,8	
4	334	325	328	330	337	330,8	4,8	213	198	222	200	208	208,2	9,8	-37,1	
5	340	336	343	337	339	339,0	2,7	202	210	213	228	210	212,6	9,5	-37,3	
6	336	343	343	343	342	341,4	3,0	185	183	198	192	206	192,8	9,5	-43,5	
7	334	333	340	331	337	335,0	3,5	185	175	172	190	170	178,4	8,7	-46,7	
8	336	337	337	342	342	338,8	2,9	180	182	194	184	194	186,8	6,7	-44,9	
9	343	347	343	348	347	345,6	2,4	195	188	189	209	192	194,6	8,5	-43,7	
10	342	337	337	331	334	336,2	4,1	177	184	194	188	193	187,2	7,0	-44,3	
11	334	333	333	333	333	333,2	0,4	209	194	209	197	188	199,4	9,3	-40,2	
12	347	350	342	347	340	345,2	4,1	189	198	192	210	209	199,6	9,6	-42,2	
13	325	330	328	331	325	327,8	2,8	194	197	184	196	178	189,8	8,4	-42,1	
						336,4								194,6		-42,1
						6,4								12,2		3,4

blocos		SMH inicial							SMH final							% AMDS
							média	dp						média	dp	
1	343	348	350	331	348	344,0	7,7	239	260	240	233	229	240,2	11,9	-30,17	
2	325	340	342	330	340	335,4	7,5	224	217	216	215	208	216,0	5,7	-35,60	
3	348	337	348	348	345	345,2	4,8	234	228	219	221	211	222,6	8,8	-35,52	
4	350	333	331	339	350	340,6	9,1	226	237	232	239	221	231,0	7,5	-32,18	
5	327	337	337	340	340	336,2	5,4	181	207	227	237	245	219,4	25,7	-34,74	
6	330	331	348	334	331	334,8	7,5	217	211	225	232	227	222,4	8,4	-33,57	
7	336	345	321	333	334	333,8	8,6	216	225	238	219	225	224,6	8,4	-32,71	
8	336	347	334	350	343	342,0	6,9	222	217	217	232	227	223,0	6,5	-34,80	
9	334	327	327	320	325	326,6	5,0	206	199	209	218	217	209,8	7,9	-35,76	
10	320	325	336	322	321	324,8	6,5	209	200	209	214	194	205,2	8,0	-36,82	
11	320	324	320	320	327	322,2	3,2	202	200	207	190	194	198,6	6,7	-38,36	
12	330	334	339	334	324	332,2	5,6	217	207	224	222	224	218,8	7,2	-34,14	
13	339	345	342	336	331	338,6	5,4	228	240	240	233	251	238,4	8,7	-29,59	
						335,1								220,8		-34,2
						7,2								11,9		2,5

Anexo H

CONTEÚDO DE FLÚOR NO ESMALTE ($\mu\text{g F/cm}^2$)

Dentifrícios pH neutro							
bloco	Placebo	275	412,5	Baby	550	1100	Crest
1	9,1	15,4	19,4	14,0	16,0	16,0	25,8
2	9,2	17,8	15,8	19,8	17,0	24,1	31,7
3	9,9	13,2	18,4	16,2	16,6	24,7	22,4
4	14,0	18,7	15,2	19,7	12,6	20,7	25,2
5	10,5	13,9	16,7	22,5	16,2	22,7	20,2
6	8,9	12,2	14,6	16,9	20,6	23,8	25,3
7	13,3	15,8	15,8	13,9	27,0	19,2	29,6
8	7,7	15,8	22,1	18,3	18,0	21,9	30,9
9	8,0	15,7	12,4	13,9	18,0	20,7	32,8
10	6,2	12,9	17,4	23,3	18,9	33,7	28,4
11	14,2	12,4	15,1	29,1	28,0	24,8	27,0
12	7,3	18,2	14,5	19,2	15,8	46,3	25,7
13	7,3	12,4	13,5	16,4	14,4	24,6	22,3
média	9,7	15,0	16,2	18,7	18,4	24,8	26,7
dp	2,6	2,3	2,6	4,4	4,5	7,6	3,9

Dentifrícios pH acidulado					
bloco	Placebo	275	412,5	550	1100
1	6,8	12,4	25,5	19,7	16,4
2	6,7	15,5	16,2	20,6	17,7
3	11,0	13,2	20,4	17,6	29,8
4	8,4	16,8	19,0	17,2	22,5
5	7,0	10,4	10,1	16,2	20,1
6	9,5	12,2	14,0	18,1	17,7
7	6,9	19,6	14,7	18,9	18,0
8	8,2	19,4	12,7	15,6	22,8
9	8,5	18,7	16,9	17,8	19,9
10	7,5	15,6	16,1	18,1	27,5
11	8,8	17,6	21,1	24,2	19,9
12	8,9	15,0	16,5	16,1	22,8
13	9,6	18,0	17,1	15,2	19,2
média	8,3	15,7	17,0	18,1	21,1
dp	1,3	3,0	3,9	2,4	3,9

Anexo I

ΔF , ΔCa e ΔP NAS SOLUÇÕES (μg) APÓS A CICLAGEM DE pH

Grupo	ΔF		ΔCa		ΔP	
	neutro	ácido	neutro	ácido	neutro	ácido
Placebo	$-0,70 \pm 0,33^a$	$-0,37 \pm 0,23^{b,c}$	$974,21 \pm 299,29^a$	$697,67 \pm 116,87^{a,b,c}$	$187,53 \pm 319,53^a$	$74,59 \pm 34,60^b$
275	$-0,66 \pm 0,34^a$	$0,15 \pm 0,18^d$	$869,60 \pm 233,29^a$	$604,51 \pm 95,99^{b,c}$	$322,16 \pm 99,08^c$	$32,82 \pm 41,54^d$
412	$-0,33 \pm 0,15^{b,e}$	$0,33 \pm 0,30^d$	$951,82 \pm 361,42^a$	$574,58 \pm 79,41^{b,d}$	$420,44 \pm 67,61^e$	$-8,99 \pm 26,82^f$
Baby	$-0,34 \pm 0,10^{c,e}$	-	$932,78 \pm 361,84^a$	-	$385,97 \pm 66,64^{e,g}$	-
550	$-0,21 \pm 0,21^e$	$0,57 \pm 0,16^f$	$664,97 \pm 259,83^{c,d}$	$572,85 \pm 72,84^{b,c}$	$332,22 \pm 91,40^{c,g}$	$4,85 \pm 24,03^f$
1100	$-0,05 \pm 0,32^g$	$1,36 \pm 0,83^h$	$488,38 \pm 154,22^{e,f}$	$307,75 \pm 72,35^g$	$371,34 \pm 149,00^{d,e}$	$35,38 \pm 36,56^d$
Crest®	$0,81 \pm 0,35^{f,h}$	-	$450,45 \pm 37,26^e$	-	$83,72 \pm 27,14^b$	-

Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças estatísticas (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

Anexo J

MICRODUREZA EM SECCÃO LONGITUDINAL - % vol. min e ΔZ

Dentifrício placebo - pH neutro										Dentifrício placebo - pH ácido									
	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ		10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	41,8	36,0	60,9	73,9	93,0	94,3	94,2	94,0	3405,2	1	49,4	55,8	69,6	86,7	93,8	91,2	95,3	98,2	2338,3
2	47,0	39,5	60,4	79,9	94,6	96,0	96,6	97,4	2579,9	2	52,6	51,9	71,6	89,8	95,1	95,0	96,5	95,7	2018,5
3	46,0	42,4	58,5	72,5	92,1	94,6	96,4	94,9	3020,7	3	52,5	57,6	72,4	86,5	88,5	93,3	92,0	91,6	2918,7
4	45,3	39,7	58,2	75,4	92,7	95,8	95,3	95,2	3045,6	4	52,4	54,4	72,9	84,8	89,3	93,5	93,6	95,5	2580,1
5	45,9	44,3	60,3	77,5	91,5	94,6	94,9	95,4	2991,5	5	51,4	55,6	71,3	84,5	87,3	92,5	91,8	91,4	3131,3
6	47,2	47,4	60,8	81,3	91,8	95,0	94,8	94,8	2847,7	6	51,5	56,9	66,8	86,8	97,4	96,5	96,5	97,9	1822,4
7	44,1	38,3	57,1	75,7	93,4	94,1	95,2	94,3	3264,6	7	51,9	56,1	71,9	89,3	93,6	97,6	95,0	96,2	1938,2
8	46,0	42,0	60,4	79,4	91,1	96,1	95,7	94,8	2861,8	8	53,9	54,4	72,7	89,2	92,9	96,7	93,3	94,3	2311,2
9	45,5	37,3	58,9	80,0	91,9	96,0	94,4	95,7	3057,8	9	50,4	51,6	65,0	88,6	93,0	96,2	95,0	96,2	2294,2
10	46,4	40,3	59,2	80,9	92,7	94,4	95,0	94,8	3033,6	10	51,0	53,4	76,3	89,8	96,4	95,7	97,4	96,4	1698,3
11	44,1	37,1	54,7	75,5	90,7	94,4	95,8	95,6	3236,3	11	54,9	54,2	66,6	83,5	94,8	96,7	95,3	95,4	2219,7
12	44,0	38,0	62,5	81,0	92,5	94,9	95,5	95,7	2913,4	12	53,5	55,6	68,4	84,0	92,6	93,9	95,8	93,4	2431,9
13	42,7	37,3	57,8	79,3	91,7	94,0	94,6	95,3	3257,0	13	54,4	56,6	69,8	87,4	95,7	95,7	94,3	95,67	2178,5
média	45,1	40,0	59,2	77,9	92,3	94,9	95,3	95,2	3039,6	média	52,30	54,93	70,40	86,98	93,13	94,96	94,8	95,2	2298,6
dp	1,6	3,3	2,0	3,0	1,1	0,8	0,7	0,8	217,8	dp	1,59	1,84	3,11	2,27	3,07	1,91	1,7	2,1	407,5

Dentifrício 275 ppm - pH neutro										Dentifrício 275 ppm - pH ácido									
	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ		10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	55,4	49,0	72,7	83,7	94,0	94,8	94,2	94,8	2484,1	1	58,4	66,4	75,7	90,3	93,2	92,4	91,5	92,5	2508,2
2	57,2	45,4	68,5	80,3	93,7	95,4	94,8	94,6	2601,4	2	58,5	68,3	77,8	90,9	97,6	95,4	97,8	95,9	1248,2
3	54,0	49,9	74,7	80,0	93,2	93,9	94,9	95,3	2476,8	3	58,5	65,5	77,4	91,9	95,4	95,4	96,5	95,5	1504,1
4	55,3	56,9	70,8	83,8	94,2	94,9	94,6	93,9	2367,6	4	62,2	66,4	79,1	91,9	95,8	95,0	97,5	96,8	1253,5
5	57,9	50,9	67,0	81,7	92,8	94,2	94,6	95,7	2544,0	5	61,3	65,2	78,8	89,6	97,7	95,3	94,8	95,1	1669,5
6	52,2	51,1	73,5	86,4	95,3	93,9	94,2	95,7	2392,1	6	59,6	64,1	75,4	93,0	98,2	93,6	96,9	97,1	1467,6
7	55,0	52,5	72,2	87,9	92,5	95,1	96,7	95,9	2027,7	7	59,2	64,7	75,9	89,4	97,0	91,2	93,3	95,0	2218,0
8	56,4	53,1	75,5	84,0	93,3	94,4	94,3	95,0	2348,8	8	61,8	66,9	75,3	92,9	96,2	95,8	95,3	96,5	1506,5
9	50,3	48,4	69,6	87,3	91,9	94,1	96,7	95,3	2328,5	9	63,0	67,5	77,0	89,8	93,6	95,4	93,3	94,6	1911,5
10	52,6	47,8	72,0	82,7	92,4	96,3	94,8	94,9	2440,5	10	59,8	65,2	81,3	93,5	96,5	97,3	97,2	95,2	1188,4
11	52,8	51,4	66,8	81,9	92,9	94,2	94,6	95,4	2603,2	11	59,6	68,0	78,0	91,7	94,4	95,6	92,7	92,7	2012,7
12	51,6	47,7	65,5	82,0	93,4	93,9	94,3	93,8	2840,8	12	64,0	64,8	75,5	88,7	95,7	95,4	96,8	95,3	1534,6
13	53,4	52,2	69,4	81,3	92,6	95,3	94,8	94,7	2493,8	13	61,5	64,2	75,1	89,6	95,3	96,0	95,4	95,3	1688,1
média	54,2	50,5	70,6	83,3	93,3	94,6	94,9	95,0	2457,6	média	60,6	65,9	77,1	91,0	95,9	94,9	95,3	95,2	1670,1
dp	2,3	3,0	3,2	2,5	0,9	0,7	0,8	0,6	188,1	dp	1,8	1,4	1,9	1,6	1,5	1,6	2,1	1,4	395,4

Dentifrício 412 ppm F - pH neutro										Dentifrício 412 ppm F - pH ácido									
	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ		10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	55,8	60,3	80,5	90,4	94,2	94,6	95,6	95,1	1806,3	1	70,3	78,4	81,7	89,5	92,6	94,4	95,8	95,3	1300,0
2	58,6	57,9	74,3	89,5	94,8	94,5	95,9	96,5	1852,8	2	67,6	78,7	83,8	87,5	96,9	95,2	95,1	97,8	1123,7
3	60,4	56,8	76,1	89,3	94,0	96,5	94,6	93,7	2002,5	3	70,4	74,5	80,7	92,1	92,9	96,0	92,7	91,4	1789,8
4	59,3	57,0	72,8	83,0	93,5	93,7	95,1	96,4	2189,5	4	69,5	80,6	83,3	94,1	96,4	91,9	94,6	97,2	1251,9
5	65,5	55,8	72,7	91,4	93,7	94,7	94,3	93,2	2191,4	5	73,5	75,9	83,6	96,0	97,0	97,3	98,5	94,1	641,1
6	59,1	55,2	76,1	85,7	93,7	94,2	95,7	95,3	2067,5	6	76,4	78,4	84,6	93,2	97,8	95,2	96,0	94,8	959,2
7	60,1	62,4	71,8	88,3	94,7	94,2	95,1	93,8	2072,7	7	73,6	78,4	88,5	93,9	96,5	96,6	97,9	93,4	688,8
8	60,4	56,7	74,4	86,0	92,8	94,6	95,7	95,3	2039,6	8	75,7	75,4	87,2	92,7	95,3	91,9	92,2	94,1	1707,0
9	60,1	57,4	79,8	87,4	93,7	95,3	98,0	94,3	1637,9	9	76,4	79,6	85,2	97,2	90,6	94,9	94,5	94,9	1164,8
10	57,7	63,1	77,5	86,3	95,6	96,9	94,4	96,2	1767,3	10	75,4	76,4	83,9	94,8	95,6	91,5	94,8	95,3	1378,0
11	59,6	59,2	77,5	86,1	93,6	95,3	95,6	95,9	1854,3	11	73,3	79,4	82,1	90,2	94,7	95,0	97,4	95,3	970,9
12	58,3	54,7	76,2	84,7	94,7	94,4	95,9	96,3	2002,3	12	70,2	82,5	84,7	94,8	95,0	97,0	96,1	99,7	566,7
13	57,4	52,3	70,8	86,1	94,0	94,4	95,9	95,2	2213,4	13	72,0	75,4	85,1	94,2	94,9	97,0	92,3	94,3	1408,2
média	59,4	57,6	75,4	87,2	94,1	94,9	95,5	95,2	1976,7	média	72,6	78,0	84,2	93,1	95,1	94,9	95,2	95,2	1150,0
dp	2,3	3,0	3,0	2,4	0,7	0,9	0,9	1,1	179,8	dp	2,9	2,3	2,1	2,7	2,0	2,0	2,0	2,1	382,2

Dentifrício 550 ppm F - pH neutro

	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	62,4	66,4	75,8	88,2	93,8	94,2	96,3	95,9	1668,1
2	63,3	59,5	77,5	93,6	94,6	95,9	96,7	96,5	1455,5
3	62,7	61,2	78,3	91,4	95,9	94,9	96,1	96,4	1564,7
4	63,7	60,9	77,1	93,8	95,0	95,3	96,2	95,6	1555,2
5	64,2	62,5	77,4	92,4	98,1	96,7	97,4	96,4	1216,8
6	62,4	60,5	79,9	94,5	94,9	94,5	97,2	95,2	1475,6
7	66,2	63,2	78,8	91,6	93,7	94,9	94,6	94,0	1808,3
8	65,4	65,2	82,0	91,6	95,3	95,5	96,1	95,1	1416,0
9	64,5	63,6	82,0	94,2	95,5	94,6	94,8	95,7	1580,2
10	65,9	60,1	76,7	91,0	94,9	95,9	95,1	95,1	1724,5
11	68,1	64,9	89,2	96,8	94,6	94,6	95,9	94,9	1255,9
12	67,4	65,6	83,1	94,5	95,6	95,5	96,3	96,9	1187,8
13	68,6	68,6	87,8	94,3	96,1	95,3	92,7	94,2	1572,4
média	65,0	63,2	80,4	92,9	95,2	95,2	95,8	95,5	1498,5
dp	2,1	2,8	4,2	2,2	1,1	0,7	1,2	0,9	191,4

Dentifrício 550 ppm F - pH ácido

	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	82,2	84,8	92,0	95,2	96,8	91,9	93,3	88,7	1452,6
2	77,4	87,2	93,7	97,7	97,8	95,7	97,3	97,7	163,4
3	87,0	86,3	94,3	95,8	95,9	94,4	95,3	93,2	702,2
4	74,3	81,0	95,7	95,1	96,8	97,9	93,9	95,8	683,8
5	78,0	82,8	89,3	84,0	97,4	96,3	94,8	96,1	942,8
6	80,1	75,4	94,9	94,5	96,9	95,3	97,6	97,9	417,4
7	82,1	82,2	90,0	94,0	94,5	95,8	94,9	96,7	748,1
8	76,9	77,1	88,5	94,9	93,8	94,4	94,0	97,6	1056,9
9	77,5	78,2	89,5	89,5	94,8	95,9	96,4	98,8	674,3
10	74,3	77,7	91,0	93,3	95,0	97,0	93,9	93,7	1089,6
11	77,7	81,6	90,2	93,5	93,7	93,9	94,5	98,0	913,8
12	80,2	79,2	88,1	92,5	94,2	93,9	95,5	97,4	910,4
13	70,7	80,3	88,9	84,0	97,5	95,6	96,0	90,8	1270,0
média	78,32	81,06	91,25	92,61	95,78	95,24	95,2	95,6	848,1
dp	4,15	3,58	2,62	4,27	1,49	1,55	1,3	3,1	342,2

Dentifrício 1100 ppm F - pH neutro

	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	77,2	87,6	92,5	95,7	94,6	92,1	95,3	96,2	828,5
2	79,4	86,3	91,6	96,2	97,0	98,0	96,9	97,2	174,1
3	77,7	88,9	93,8	91,4	92,0	92,9	94,9	96,9	859,6
4	76,2	87,8	96,8	96,0	95,9	95,3	94,1	93,0	811,6
5	80,5	82,0	95,3	95,4	94,8	96,4	96,0	94,1	602,0
6	76,7	87,1	97,0	97,7	98,5	97,5	96,8	98,2	3,4
7	71,1	88,4	92,1	96,7	96,5	96,3	96,6	97,0	356,3
8	79,6	90,2	94,9	93,8	97,6	97,4	94,9	97,1	329,8
9	72,5	83,4	95,9	97,7	95,3	94,3	93,4	95,3	949,6
10	88,9	82,8	89,4	94,5	96,0	94,6	93,4	94,8	1188,1
11	67,7	81,4	93,0	95,9	95,7	93,3	93,6	93,7	1254,6
12	73,6	79,7	93,3	91,9	94,5	94,6	95,6	93,8	1020,0
13	69,9	82,9	92,1	93,3	96,0	93,9	95,5	94,4	975,1
média	74,7	85,3	93,6	95,1	95,7	95,1	95,2	95,5	719,4
dp	4,3	3,4	2,2	2,0	1,6	1,9	1,3	1,7	394,0

Dentifrício 1100 ppm F - pH ácido

	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	84,4	84,8	87,8	94,2	94,9	94,6	94,8	95,1	878,5
2	82,7	83,0	88,9	97,0	94,4	95,9	96,2	96,0	573,9
3	87,3	83,6	89,1	90,4	95,6	95,4	95,0	92,7	962,2
4	86,4	83,9	90,8	94,4	95,6	95,0	96,1	97,1	515,3
5	83,8	84,0	94,1	95,6	95,7	95,9	95,3	94,1	647,1
6	83,0	84,0	92,1	94,6	94,9	95,0	96,5	95,0	602,6
7	86,1	81,1	91,4	93,3	97,0	95,0	96,5	95,5	603,0
8	85,5	83,5	91,2	93,3	94,8	95,5	95,3	94,8	749,4
9	84,6	90,4	91,9	93,7	97,0	93,9	95,3	96,8	540,4
10	85,8	87,0	90,8	95,4	97,3	92,3	96,5	95,6	616,7
11	85,9	83,3	89,5	93,1	94,6	94,7	94,4	93,9	987,6
12	78,5	82,3	92,5	92,5	94,4	94,0	95,7	95,3	863,8
13	83,2	85,5	94,8	94,4	96,8	96,8	94,3	95,7	566,8
média	84,4	84,3	91,2	94,0	95,6	94,9	95,5	95,2	700,5
dp	2,3	2,3	2,0	1,6	1,1	1,1	0,8	1,2	166,9

Dentifrício Baby

	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	64,1	60,7	78,9	90,9	93,7	95,0	93,9	94,8	1926,0
2	64,5	60,5	79,0	91,7	94,6	95,9	95,5	96,7	1547,4
3	63,6	61,7	80,1	92,8	93,7	94,1	94,6	95,0	1812,7
4	65,6	60,5	84,5	92,0	95,3	95,5	97,2	95,6	1306,4
5	64,1	62,5	76,7	92,1	94,4	94,6	96,7	95,3	1587,1
6	64,9	66,7	79,4	92,0	94,7	96,6	96,1	95,3	1362,6
7	61,7	69,5	77,6	95,7	96,7	94,8	95,5	95,2	1456,4
8	65,5	64,6	78,9	94,0	95,8	94,4	95,1	96,1	1559,1
9	65,1	67,3	83,2	94,8	94,6	95,4	96,5	94,9	1283,1
10	62,1	61,5	79,9	89,5	94,5	94,0	96,7	94,4	1697,1
11	65,1	60,4	80,5	92,9	94,0	94,9	95,7	94,9	1636,2
12	64,6	64,5	77,5	91,6	96,6	96,9	95,3	96,0	1450,6
13	65,1	63,4	79,8	92,5	93,3	95,1	96,5	95,5	1480,7
média	64,31	63,37	79,69	92,48	94,76	95,17	95,8	95,4	1546,6
dp	1,22	2,97	2,16	1,62	1,06	0,87	0,9	0,6	189,3

Dentifrício Crest

	10 μm	30 μm	50 μm	70 μm	90 μm	110 μm	220 μm	330 μm	ΔZ
1	82,6	83,6	93,0	94,2	96,0	92,2	94,4	95,4	982,5
2	84,4	86,1	93,6	93,8	94,7	93,8	93,0	95,6	970,7
3	85,3	83,2	94,1	96,2	97,2	96,0	96,7	91,8	570,2
4	85,4	86,0	93,8	92,4	94,6	94,4	95,6	94,3	739,2
5	84,2	83,6	92,7	95,7	96,5	94,9	95,0	96,7	609,7
6	87,0	86,3	92,9	97,2	96,7	94,8	95,0	92,9	705,1
7	86,2	85,2	94,3	94,3	97,5	96,7	96,2	94,6	404,9
8	85,8	87,0	94,6	98,4	97,7	96,1	96,3	95,0	289,8
9	82,7	85,8	95,7	96,2	97,1	94,2	94,6	96,5	607,4
10	85,3	86,6	95,2	94,6	96,5	95,1	94,6	94,6	665,1
11	84,1	84,7	92,5	93,5	93,6	96,5	94,6	98,1	566,2
12	86,4	84,8	88,9	91,2	93,1	93,4	96,6	97,7	673,9
13	83,6	87,1	92,4	94,8	93,4	96,9	96,0	95,3	482,4
média	84,8	85,4	93,4	94,8	95,7	95,0	95,3	95,3	635,9
dp	1,4	1,3	1,7	2,0	1,6	1,4	1,1	1,8	195,2

Anexo L

MICRODUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL

- médias de conteúdo mineral (% vol. min) – Dentifrícios neutros

	Placebo	275	412	Baby	550	1100	Crest
10	45,1 ± 1,5 ^a	54,2 ± 2,3 ^b	59,4 ± 2,3 ^c	64,3 ± 1,2 ^d	65,0 ± 2,1 ^d	74,7 ± 4,3 ^e	84,9 ± 1,4 ^f
30	40,0 ± 3,3 ^a	50,5 ± 3,0 ^b	57,6 ± 3,0 ^c	63,4 ± 3,0 ^d	63,2 ± 2,8 ^d	85,3 ± 3,4 ^e	85,4 ± 1,3 ^e
50	59,2 ± 2,0 ^a	70,6 ± 3,2 ^b	75,4 ± 3,0 ^c	79,7 ± 2,2 ^d	80,4 ± 4,2 ^d	93,6 ± 2,2 ^e	93,4 ± 1,7 ^e
70	77,9 ± 3,0 ^a	83,3 ± 2,5 ^b	87,2 ± 2,4 ^c	92,5 ± 1,6 ^d	92,9 ± 2,2 ^d	95,1 ± 2,0 ^e	94,8 ± 2,0 ^e
90	92,3 ± 1,0 ^a	93,3 ± 0,9 ^a	94,1 ± 0,7 ^b	94,8 ± 1,6 ^{b,c}	95,2 ± 1,1 ^{c,d}	95,7 ± 1,6 ^{c,d}	95,7 ± 1,7 ^{c,d}
110	95,0 ± 0,8 ^a	94,6 ± 0,7 ^a	94,9 ± 0,9 ^a	95,2 ± 0,9 ^a	95,2 ± 0,7 ^a	95,1 ± 1,9 ^a	95,0 ± 1,4 ^a
220	95,3 ± 0,7 ^a	94,9 ± 0,8 ^a	95,5 ± 0,9 ^a	95,8 ± 0,9 ^a	95,8 ± 1,2 ^a	95,2 ± 1,3 ^a	95,3 ± 1,1 ^a
330	95,2 ± 0,8 ^a	95,0 ± 0,6 ^a	95,2 ± 1,1 ^a	95,4 ± 0,6 ^a	95,5 ± 0,9 ^a	95,5 ± 1,7 ^a	95,3 ± 1,8 ^a

Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças estatísticas entre tratamentos na mesma profundidade (Kruskal-Wallis, p<0,05).

MICRODUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL

- médias de conteúdo mineral (% vol. min) – Dentifrícios acidulados

	Placebo	275	412	550	1100
10	52,3 ± 1,6 ^a	60,6 ± 1,8 ^b	72,6 ± 2,9 ^c	78,3 ± 4,2 ^d	84,45 ± 2,3 ^e
30	54,9 ± 1,8 ^a	66,0 ± 1,4 ^b	78,0 ± 2,3 ^c	91,3 ± 2,6 ^d	91,2 ± 2,0 ^e
50	70,4 ± 3,1 ^a	77,1 ± 1,9 ^b	84,2 ± 2,1 ^c	91,3 ± 2,6 ^d	91,2 ± 2,0 ^d
70	87,0 ± 2,3 ^a	91,0 ± 1,6 ^b	93,1 ± 2,7 ^c	92,6 ± 4,3 ^c	94 ± 1,6 ^c
90	93,1 ± 3,1 ^a	95,9 ± 1,5 ^b	95,1 ± 2,0 ^{a,b}	95,8 ± 1,5 ^b	95,6 ± 1,1 ^b
110	95,0 ± 1,9 ^a	94,9 ± 1,6 ^a	94,9 ± 2,0 ^a	95,2 ± 1,6 ^a	95,0 ± 1,1 ^a
220	94,9 ± 1,7 ^a	95,3 ± 2,1 ^a	95,2 ± 2,0 ^a	95,2 ± 1,3 ^a	95,5 ± 0,8 ^a
330	95,2 ± 2,1 ^a	95,2 ± 1,4 ^a	95,2 ± 2,1 ^a	95,2 ± 3,1 ^a	95,2 ± 1,2 ^a

Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças estatísticas entre tratamentos na mesma profundidade (Kruskal-Wallis, p<0,05).