

EMILENE MACÁRIO COIMBRA MISSEL

Avaliação de formulações dentifrícias com concentração reduzida de fluoreto associada ao trimetafosfato de sódio na desmineralização *in vitro* do esmalte dentário

Araçatuba

2010

EMILENE MACÁRIO COIMBRA MISSEL

Avaliação de formulações dentifrícias com concentração reduzida de fluoreto associada ao trimetafosfato de sódio na desmineralização *in vitro* do esmalte dentário

Tese Apresentada à Faculdade de Odontologia, de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontopediatria.

Orientador: Prof. Dr. Alberto C. B. Delbem

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Elisa M. Vieira

Araçatuba

2010

COMISSÃO EXAMINADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem - Orientador, Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Infantil e Social, Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia - Araçatuba, UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba.

Profa. Dra. Denise Pedrini Ostini - Professora Adjunto do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Disciplina de Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia - Araçatuba, UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba.

Profa. Dra. Josimeri Hebling - Professora Adjunto do Departamento de Clínica Infantil, Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia – Araraquara, UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara.

.

"O professor é aquele que faz duas idéias crescerem onde antes só crescia uma."
(Elbert Hubbard)

DADOS CURRICULARES

EMILENE MACÁRIO COIMBRA MISSEL

Nascimento	26.03.1977 - Paranavaí – Pr
Filiação	Evilásio Macário Coimbra Maria Emilia de Oliveira Coimbra
2000/2003	Curso de Graduação em Odontologia pelo Centro Universitário de Maringá, CESUMAR.
2008/2009	Curso de Pós Graduação em Odontopediatria, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.
Associações	CROPR - Conselho Regional de Odontologia do Paraná SBPqO - Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

DEDICATÓRIA

Dedico à realização deste trabalho,

Ao *Patric*, meu marido, que soube ser compreensivo durante o desenvolvimento deste, entendendo minha ausência durante esses dois anos em que estive mais distante. Só você sabe o quanto foi difícil tomar essa decisão, mas soube que seria importante para mim.

Patric, obrigada por seu amor, apoio, colo, conselhos... Com certeza tudo seria muito mais difícil sem você, agradeço a Deus por ter você na minha vida.

Aos meus pais, *Evilásio e Maria Emília*, que sempre me apoiaram em minhas decisões, entendendo o pouco tempo que tive para visitá-los nesses dois últimos anos. Sei que as preocupações de pais não acabam mesmo sabendo que tenho ao meu lado uma pessoa especial. Muito obrigada pelo exemplo de educação, pelos ensinamentos passados a mim e às minhas irmãs sendo sempre o alicerce em nossas vidas.

Às minhas irmãs, *Elaine, Edinéia e Erica*. Pelos incentivos durante a minha vida, pessoal e profissional, dando forças nos momentos em que me sentia triste e cansada. Vocês sempre tiveram palavras de conforto, e souberam compreender minha ausência. Além de irmãs, vocês são, acima de tudo, minhas fiéis amigas.

Obrigada, amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, *Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem,*

Por compartilhar seus conhecimentos, por estar sempre à disposição;

Pela paciência, respeitando os meus limites;

Pela amizade, orientação, confiança; e acima de tudo, por seu exemplo de responsabilidade, competência e determinação com a pesquisa.

À minha co-orientadora *Ana Elisa,*

Pela competência, responsabilidade e riqueza de detalhes que sempre colocou na realização deste trabalho. Teu auxílio foi fundamental.

Agradeço pela orientação, amizade e todos os momentos de convivência.

Obrigada pela oportunidade de trabalhar ao teu lado.

“Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra! Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso”.

(Charles Chaplin)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a *Deus* pela minha vida, por sua proteção divina, olhando e me protegendo durante as viagens, e dando forças para superar todos os momentos difíceis...

À Família *Calliari*, pelo incentivo durante a realização deste trabalho e por sua compreensão nos momentos que estive ausente. Sempre preocupados com o meu bem-estar, telefonando para saber se estava tudo bem.

Aos meus sobrinhos *Almir Henrique, Elan, Isabela, André e Eduardo*. Ao começar a escrever esses agradecimentos, não tive como expressá-los só em papel, pois são sentimentos que não conseguimos escrever, apenas sentir. Obrigada pelos maravilhosos momentos de convivência, brincadeiras, alegrias que vocês trazem para minha vida. Mesmo distantes estamos juntos em nossos corações. Amo vocês.

À amiga *Rose*, pela amizade que construímos no decorrer desses anos, e que sempre esteve presente, transmitindo palavras de fortalecimento e coragem.

Aos amigos de Araraquara, pela força e apoio prestado durante toda fase do mestrado, não só a mim, mas ao Patric também, fico muito feliz de ter amigos como vocês.

As companheiras de viagens da pós-graduação, *Pamela e Thallita* pelos incentivos, conversas, trocas de idéias que tivemos durante este período.

As amigas da turma de mestrado em Odontopediatria de 2008. *Daniela, Fabíola, Jorgiana, Lilian e Natália*, desejo muito sucesso e realizações para cada uma de vocês. Que possamos nos reencontrar e que ao final de mais uma jornada não seja o final de uma amizade que construímos no decorrer do curso. Sucesso a todas.

Fabíola Diogo, pela amizade e convivência que tivemos e que, com certeza, ainda teremos, pelos momentos de descontração e também aqueles em que uma precisou da outra para desabafar. Parabéns por mais uma conquista! Desejo todo o sucesso, pois é uma pessoa guerreira que vai em busca do que quer sem medo. Continue assim.

À amiga *Daniela Oliveira*, com quem tive o primeiro contato no mestrado, uma pessoa iluminada, uma menina batalhadora que não mediu esforços para fazer o curso de pós-graduação, sempre disposta a ajudar a todos. Que Deus te abençoe e te dê muita saúde. Obrigada pela amizade.

Marcelle Danelon, primeiramente pela amizade que construímos, pelos ensinamentos e toda a ajuda prestada durante a realização do meu trabalho, sempre solícita a colaborar comigo, ensinando os primeiros passos que eu tinha que aprender para desenvolver meu trabalho. Continue assim, amiga. Você tem um futuro brilhante pela frente.

Eliana Takeshita, só tenho a agradecer pelos ensinamentos prestados no laboratório no decorrer do desenvolvimento do trabalho. Que todo o seu empenho e envolvimento com a pesquisa lhe tragam bons frutos. Você merece pela sua dedicação e competência.

À Profa. Dra. *Kikue*, pelo auxílio e disponibilidade com que sempre me atendeu, principalmente durante as fases das dosagens. Muito obrigada.

À estagiária *Nathália Viana*, pela ajuda prestada.

A todos os amigos e colegas da pós-graduação e do laboratório de Odontopediatria. Obrigada pela convivência e momentos divertidos que passamos juntos.

Ao frigorífico de Guararapes, pela disponibilidade e ajuda durante a fase de obtenção dos dentes bovinos.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa dos professores Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé, Diretor, e Profa. Dra Ana Maria Pires Soubhia, Vice-Diretora, pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado nesta instituição.

Aos funcionários da biblioteca e da pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, pelos serviços prestados sempre com muita competência.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da UNESP-Araçatuba, Dr. *Alberto*, Dr. *Robson*, Dra. *Rosângela*, Dr. *Célio*, Dra. *Cleide* e Dra. *Sandra*. Obrigada por todos os ensinamentos e oportunidades. Vocês me acolheram de maneira gentil e educada, sempre dispostos a ajudar, proporcionando oportunidades importantes para minha vida profissional. Não tenho palavras para agradecer tudo o que fizeram por mim.

Ao curso de pós-graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia Araçatuba – UNESP, na pessoa do seu Coordenador Prof. Dr. *Robson Frederico Cunha*, um exemplo de professor. Só tenho que admirar pessoas como você pela competência e dedicação que tens para com o curso de pós-graduação, e a forma como orienta seus alunos na clínica.

À funcionária da Disciplina de Odontopediatria, *Maria dos Santos Ferreira Fernandes*, pelo auxílio indispensável, pela amizade e as boas risadas que demos juntas e o carinho que sempre demonstrou por mim, sou muito grata por tudo.

Ao funcionário *Mário Luís da Silva*, pelo auxílio e momentos de descontração.

Aos demais professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, em especial aos professores do programa em Odontopediatria, pelo exemplo que são e pela convivência sempre agradável.

A CAPES, pela concessão de recursos que possibilitou a realização deste Curso de Mestrado.

A todos aqueles que, de certa forma, contribuíram para a elaboração e conclusão deste trabalho,

Minha sincera gratidão!

EPÍGRAFE

EPÍGRAFE

*“Jamais considere seus estudos como uma obrigação,
mas como uma oportunidade invejável
para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza
do reino do espírito,
para seu próprio prazer pessoal e
para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho
pertencer.”*

(Albert Einstein)

SUMÁRIO

Resumo	18
Abstract	21
Introdução	24
Material e método	25
Resultados	28
Discussão	29
Referências	33
Anexos	41

RESUMO

Missel EMC. Avaliação de formulações dentifrícias com concentração reduzida de fluoreto associada ao trimetafosfato de sódio na desmineralização *in vitro* do esmalte dentário [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2010.

Resumo

Apesar da adição de fluoreto (F) ao dentifrício ter promovido uma diminuição na incidência da cárie dentária, a sua ampla utilização foi acompanhada por um aumento na prevalência da fluorose dentária. A proposta deste trabalho foi avaliar a capacidade de formulações dentifrícias com concentração reduzida (250 µg/g) de F associada ao trimetafosfato de sódio (TMP) para inibir a desmineralização *in vitro* do esmalte dentário. Blocos de esmalte bovino foram selecionados e divididos em 8 grupos experimentais de 12 espécimes e submetidos durante 7 dias, a 5 ciclagens de pH. Os tratamentos foram realizados 2x/dia com suspensão de dentifrício com 0, 250, 500 e 1100 µg F/g; os dentifrícios com 250 µg F/g apresentaram concentrações de TMP entre 0 e 3,0%. Após as ciclagens determinou-se a dureza de superfície (SHf), perda integrada de dureza (Δ KHN) e conteúdo de F, cálcio (Ca) e fósforo (P) presente no esmalte. Os resultados foram submetidos à análise de variância seguido pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni ($p < 0,05$). O perfil da área de desmineralização mostrou uma lesão de subsuperfície para todos os grupos, exceto para o grupo 250 µg F/g + 3,0% de TMP. A adição de 0,25% de TMP foi suficiente para aumentar a capacidade do F em reduzir a perda mineral, tanto para SHf quanto para Δ KHN, sendo semelhante ao grupo 1100 µg F/g. O aumento na concentração do TMP para 0,50 e 1,0% não influenciou os resultados de SHf e Δ KHN quando comparado ao grupo 250 µg F/g + 0,25% de TMP, mas alterou o perfil da área de desmineralização. Os grupos tratados com dentifrício com 0,25 a 1,0% de TMP apresentaram valores de F no esmalte semelhantes ao grupo 500 µg F/g ($p > 0,05$). Os dentifrícios 1100 µg F/g e 250 µg F/g + 0,25% de TMP apresentaram valores similares de Ca presente no esmalte ($p > 0,05$). Os valores de P presente no esmalte foram semelhantes entre os grupos ($p > 0,05$). Concluiu-se que a adição de TMP na concentração de 0,25% em dentifrício com concentração reduzida de F (250 µg/g) pode inibir a desmineralização do esmalte, sendo similar ao dentifrício padrão de 1100 µg F/g.

Palavras chave: Dentifrício. Esmalte dentário. Flúor. Fosfato. Desmineralização. In vitro.

ABSTRACT

Missel EMC. Evaluation of dentifrice formulations presenting low fluoride content associated to sodium trimetaphosphate on in vitro demineralization of dental enamel. [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2010.

Abstract

Although the addition of fluoride (F) to dentifrice has reduced dental caries incidence, it is responsible for a raise in the prevalence of dental fluorosis. The aim of this study was to evaluate the ability of dentifrice formulations presenting low fluoride content (250 µg/g) associated to sodium trimetaphosphate (250 µg/g) to inhibit in vitro demineralization of dental enamel. Blocks were selected and submitted to 5 pH cycles during 7 days. Treatments were performed 2x/day with dentifrice slurry with 0, 250, 500 and 1100 µg F/g; dentifrices with 250 µg F/g presented TMP concentrations of 0 to 3%. Following that, surface hardness (SH_f), integrated loss of hardness (ΔKHN) and F, calcium (Ca) and phosphorus (P) in enamel were determined. The results were submitted to analysis of variance followed by Bonferroni test (p<0,05). The profile of the demineralization area showed a subsurface lesion for all groups, except for group 250 µg F/g + 3.0% of TMP. The addition of 0.25% of TMP was sufficient to improve the F ability to inhibit mineral loss at both analysis (SH_f and ΔKHN), making that group similar to group 1100 µg F/g. Raising the TMP concentration to 0.5 and 1.0% did not influence the results of SH_f and ΔKHN when compared to group 250 µg F/g + 0.25% of TMP, but it did alter the profile of the demineralization area. The groups treated with slurries of dentifrices with 0.25 to 1.0% of TMP showed values of F in enamel similar to group 500 µg F/g (p>0.05). Dentifrices with 1100 µg F/g and 250 µg F/g + 0.25% of TMP presented similar values of Ca in enamel (p>0.05). The values of P in enamel were similar among the groups (p>0.05). It was possible to conclude that the addition of 0.25% of TMP to a dentifrice presenting low F content (250 µg/g) may inhibit enamel demineralization and is similar to a 1100 µg F/g one.

Key words: Dentifrice. Dental enamel. Fluoride. Phosphate. Demineralization. In vitro.

Avaliação de formulações dentifrícias com concentração reduzida de fluoreto associada ao trimetafosfato de sódio na desmineralização in vitro do esmalte dentário*.

Missel EMC., Delbem ACB., Vieira AEM., Sasaki KT., Cruz NVS.

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

Título curto: Formulações dentifrícias com trimetafosfato de sódio.

Palavras chave: Dentifrício. Esmalte dentário. Flúor. Fosfato.

Desmineralização. In vitro.

Correspondência:

Alberto Carlos Botazzo Delbem
Universidade Estadual Paulista – UNESP
Departamento de Odontologia Infantil e Social
Rua : José Bonifácio 1193
Araçatuba – SP - Brasil
CEP: 16015-050
Tel: (55) (18) 3636 3235
Fax : (55) (18) 3636 3332
Email: adelbem@foa.unesp.br

* De acordo com as instruções aos autores do periódico Caries Research (Anexo A)

Resumo

A proposta deste trabalho foi avaliar a capacidade de formulações dentifrícias com concentração reduzida (250 µg/g) de fluoreto (F) associada ao trimetafosfato de sódio (TMP) para inibir a desmineralização *in vitro* do esmalte dentário. Blocos de esmalte bovino foram selecionados e divididos em 8 grupos experimentais de 12 espécimes, e submetidos durante 7 dias, a 5 ciclagens de pH. Os tratamentos foram realizados 2x/dia com suspensão de dentifrício com 0, 250, 500 e 1100 µg F/g; os dentifrícios com 250 µg F/g apresentaram concentrações de TMP entre 0 e 3,0%. Após as ciclagens determinou-se a dureza de superfície (SH_f), perda integrada de dureza (ΔKHN) e conteúdo de F, cálcio (Ca) e fósforo (P) presente no esmalte. Os resultados foram submetidos à análise de variância seguido pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni ($p < 0,05$). O perfil da área de desmineralização mostrou uma lesão de subsuperfície para todos os grupos, exceto para o grupo 250 µg F/g + 3,0% de TMP. A adição de 0,25% de TMP foi suficiente para aumentar a capacidade do F em reduzir a perda mineral, tanto para SH_f quanto para ΔKHN, sendo semelhante ao grupo 1100 µg F/g. O aumento na concentração do TMP para 0,50 e 1,0% não influenciou os resultados de SH_f e ΔKHN quando comparado ao grupo 250 µg F/g + 0,25% de TMP, mas alterou o perfil da área de desmineralização. Os grupos tratados com dentifrício com 0,25 a 1,0% de TMP apresentaram valores de F no esmalte semelhantes ao grupo 500 µg F/g ($p > 0,05$). Os dentifrícios 1100 µg F/g e 250 µg F/g + 0,25% de TMP apresentaram valores similares de Ca presente no esmalte ($p > 0,05$). Os valores de P presente no esmalte foram semelhantes entre os grupos ($p > 0,05$). Concluiu-se que a adição de TMP na concentração de 0,25% em dentifrício com concentração reduzida de F (250 µg/g) pode inibir a desmineralização do esmalte, sendo similar ao dentifrício padrão de 1100 µg F/g.

Introdução

A redução da incidência de cárie nas últimas décadas se deve à fluoretação da água de abastecimento público e ao uso de dentifrício contendo fluoreto (F) [Browne et al., 2005]. Apesar da escovação com dentifrício fluoretado ser uma importante medida na prevenção da doença cárie, a expansão de seu uso provocou um aumento na fluorose dentária [Tavener et al., 2006]. Osuji et al. [1988] relataram que crianças com acesso a dentifrício fluoretado antes dos 25 meses de idade mostraram taxas de fluorose dentária 11 vezes maior que aquelas com acesso após essa mesma idade. Segundo Lima e Cury [2001], crianças menores de 6 anos podem ingerir em média 57% (variando de 17 a 98%) de dentifrício colocado na escova.

Várias recomendações têm sido feitas para minimizar a ingestão de F, no controle da fluorose dentária. Dentre elas a escovação supervisionada, uso de pequena quantidade do dentifrício na escova, tamanho reduzido do orifício da embalagem, utilização de dentifrícios com concentrações reduzidas de F e dentifrícios com pH acidulado [Saxegaard e Rolla, 1988; Horowitz, 1992; Lima e Cury, 2001; Hamilton, 2001; Ogaard, 2001; Negri e Cury, 2002; Brighenti et al., 2006; Alves et al., 2007].

Nesta linha, o desenvolvimento de dentifrícios com concentrações reduzidas de F implica na adição de outros compostos para que a eficácia anticariogênica do dentifrício experimental seja semelhante a de um dentifrício padrão de 1100 µg F/g. Estudos sugerem que o trimetafosfato de sódio (TMP) melhora a estabilidade e integridade mineral [Navia e Harris, 1969; Gonzalez, 1971; O'Mullane et al., 1997]. Takeshita et al. [2009b] demonstraram in vitro que a ação de dentifrícios com reduzida concentração de F (500 µg/g) acrescidos com TMP nas concentrações de 1,0 a 3,0% foi semelhante a um dentifrício padrão; esses resultados foram posteriormente confirmados em um estudo in situ [Takeshita et al., 2009a].

Assim, a proposta do presente trabalho foi avaliar a capacidade de formulações dentifrícias com concentração reduzida de F (250 µg/g) associada ao trimetafosfato de sódio para inibir a desmineralização in vitro do esmalte dentário.

Material e Método

Delineamento Experimental

Para a realização deste estudo, blocos de esmalte (4x4mm) foram obtidos de dentes incisivos de bovinos (Anexo B) mantidos em formol 2%, pH 7,0, durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental [Delbem e Cury, 2002]. Esses blocos tiveram sua superfície de esmalte polida seqüencialmente (Anexo C), o que permitiu a seleção através da determinação da dureza de superfície inicial (SH_i) (Anexo D). O delineamento experimental foi casualizado e os blocos divididos em 8 grupos experimentais de 12 espécimes cada, de acordo com a média de dureza da população total de blocos e seu intervalo de confiança ($p < 0,05$). Os blocos foram submetidos durante 7 dias, a 5 ciclagens de pH (Anexo I). Os tratamentos foram realizados duas vezes ao dia com suspensão de dentifício placebo (placebo); 250 μg F/g (250); 250 μg F/g + 0,25% TMP (250+0,25); 250 μg F/g + 0,50% TMP (250+0,50); 250 μg F/g + 1,0% TMP (250+1,0); 250 μg F/g + 3,0% TMP (250+3,0); 500 μg F/g (500); 1100 μg F/g (1100) (Anexo E). Após as ciclagens de pH, determinou-se a dureza de superfície (SH_f) do esmalte e em secção longitudinal (Anexo F), para o cálculo da perda integrada de dureza (ΔKHN). A concentração de F, cálcio (Ca) e fósforo (P) presente no esmalte após as ciclagens também foram determinadas (Anexo G). Para análise estatística, foram considerados como variáveis os valores de SH_i , SH_f , ΔKHN e o conteúdo de F, Ca e P no esmalte e, como fator de variação, os dentifícios.

Formulação e Dosagem de F dos Dentifícios

Os dentifícios experimentais foram manipulados em laboratório com os seguintes componentes: dióxido de titânio, carboximetilcelulose, metil-p-hidroxibenzoato de sódio, sacarinato de sódio, óleo de menta, glicerina, sílica abrasiva, lauril sulfato de sódio e água. Fluoreto de sódio (Merck®, Alemanha) foi acrescido às formulações, exceto ao grupo placebo, até uma concentração final de 250 μg F/g. As formulações de dentifícios com 250 μg F/g tiveram concentrações de trimetafosfato de sódio (TMP, Sigma® - Aldrich Co., USA) de 0,00 (250); 0,25 (250+0,25); 0,50 (250+0,50); 1,0 (250+1,0) e 3,0% (250+3,0). Para fins de comparação e validação dos resultados, foram utilizados os seguintes dentifícios: experimental, sem F (placebo), 500 μg F/g (Colgate® Baby Barney, Colgate-

Palmolive, Osasco, SP, Brasil) e 1100 µg F/g (Crest[®], Procter & Gamble, Cincinnati, OH, USA).

Para a dosagem de F utilizou-se um eletrodo específico para íon F (9409 BN – Orion) e microeletrodo de referência (Analyser) acoplado ao analisador de íons (Orion 720 A⁺), previamente calibrado com 5 padrões (0,125; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,2 µg F/mL). Foi pesado aproximadamente 0,1 g de cada dentifrício ao qual foram adicionados 10,0 mL de água deionizada, em tubo de polipropileno graduado para centrífuga. Após homogeneização, para a dosagem do fluoreto total (FT), foi pipetado 0,25 mL da suspensão em tubo de ensaio de polipropileno ao qual foi acrescentado 0,25 mL de HCl 2 mol L⁻¹. Esta solução permaneceu sob agitação durante 1h a 45°C, após o qual foi adicionado 0,5 mL de NaOH 1,0 mol L⁻¹. Para a dosagem de fluoreto iônico (FI), a suspensão de dentifrício foi submetida à centrifugação a 906xg durante 20 minutos. Alíquotas de 0,25 mL do sobrenadante foram acrescidas com 0,25 mL de HCl 2 mol L⁻¹ e 0,5 mL de NaOH 1,0 mol L⁻¹. Nas amostras (FT e FI), acrescentou-se 1 mL de TISAB II (tampão ajustador de força iônica) e os resultados foram expressos em µg F/g [Delbem et al., 2002] (Anexo H).

Ciclagem de pH

Inicialmente, cada bloco de esmalte bovino foi isolado completamente com uma fina camada de esmalte de unha com exceção da superfície de esmalte (área = 16 mm²). Os blocos foram submetidos em frascos individuais durante 7 dias a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37°C, permanecendo os últimos dois dias em solução remineralizante [Vieira et al., 2005]. O tratamento foi realizado sob agitação constante, duas vezes ao dia durante um minuto, em suspensão de dentifrício (2 mL/bloco) diluído em água destilada/deionizada (1:3 – peso:peso) antes e após a imersão em solução desmineralizante (6 horas – Ca e P 2,0 mmol L⁻¹ em tampão acetato 0,075 mol L⁻¹, 0,05 µg F/mL em pH 4,7 – 2,2 mL/mm²). O tempo de permanência na solução remineralizante (Ca 1,5 mmol L⁻¹, P 0,9 mmol L⁻¹, KCl 0,15 mol L⁻¹ em tampão cacodilato 0,02 mol L⁻¹, 0,06 µg F/mL em pH 7,0 – 1,1 mL/mm²) foi de 18 horas. Os blocos foram lavados com jatos de água deionizada por 30 segundos, após serem removidos das soluções Des-Re e dentifrício/água (Anexo E e I).

Análise da dureza do esmalte

A dureza de superfície foi determinada utilizando-se o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMT-2000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos, acoplado ao Software para análise de imagem CAMS-WIN (NewAge Industries, USA). Cinco impressões, separadas entre si por uma distância de 100 μm , foram realizadas na região central de cada bloco (SH_i). Após a ciclagem de pH, realizaram-se outras cinco impressões (SH_f) distantes a 100 μm das impressões de SH_i (Anexo D). Para a análise da dureza em secção longitudinal (Anexo F), uma secção foi feita no centro de cada bloco e uma das metades incluída em resina acrílica e polida. Utilizou-se microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) e o software Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, USA), carga de 5 gramas por 10 segundos em aumento de 1000 vezes. Uma seqüência de 14 impressões nas distâncias de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 70, 90, 110, 130, 220 e 330 μm da superfície externa do esmalte foi realizada na área central dos blocos, e outras duas a 100 μm acima e abaixo. Os valores médios dos três pontos medidos foram calculados em cada distância. A área integrada da dureza ($\text{KHN} \times \mu\text{m}$) da lesão até o esmalte hígido foi calculada utilizando a regra trapezoidal (GraphPad Prism, versão 3.02) e subtraída da área integrada da dureza do esmalte hígido obtendo a perda integrada da dureza (ΔKHN) [Spiguel et al., 2009].

Análise de F, Ca e P no esmalte (Anexo G e J)

Blocos (2x2 mm) obtidos de uma das metades dos blocos seccionados no sentido longitudinal foram fixados com cola adesiva em mandril para peça reta e uma camada de esmalte (~50 μm) foi removida [Weatherell et al., 1985; Takeshita et al., 2009]. Utilizou-se uma base de microscópio modificada com manômetro acoplado (Pantec, São Paulo, Brasil) e disco de lixa auto-adesiva (13 mm de diâmetro) de carbureto de sílica, granulação 400 (Buehler) em frascos de poliestireno cristal (J-10, Injeplast, Brasil). Os frascos, após a adição de 0,8 mL de HCl 1,0 mol L^{-1} , foram mantidos sob agitação constante durante 1 hora sendo por fim adicionado 0,8 mL de NaOH 1,0 mol L^{-1} [Alves et al., 2007; Takeshita et al., 2009b]. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g}/\text{mm}^3$.

Para análise de F utilizou-se eletrodo específico 9409BN (Thermo Scientific, Beverly, MA, USA) e microeletrodo de referência (Analyser, São Paulo, Brasil) acoplados a um analisador de íons (Orion 720A+, Thermo Scientific, Beverly, MA, USA). Os eletrodos foram previamente calibrados com padrões contendo 0,08 a 1,28 $\mu\text{g F/mL}$, nas mesmas condições das amostras. As leituras foram realizadas, em duplicata, com alíquotas de 40 μL da solução da biópsia acrescidas com o mesmo volume de TISAB II. O Ca foi determinado pelo método colorimétrico utilizando-se Arsenazo III, como descrito por Vogel et al. [1983]. Para calibração, foram utilizados padrões contendo 40 a 200 $\mu\text{g Ca/mL}$. Alíquotas de 3 μL (duplicata) foram dispostas em placas de 96 poços (Placa para cultura de células de fundo chato - Modelo 92096 – TPP, Switzerland) acopladas em leitor de placas (PowerWave 340, Biotek), utilizando comprimento de onda de 650 nm. O P foi determinado utilizando uma alíquota de 0,1 mL através do método colorimétrico descrito por Fiske e Subbarow [1925]. As leituras em duplicata foram realizadas em espectrofotômetro (Hitachi U-1100 UV/Vis spectrophotometer - Hitachi High Technologies, Tokyo, Japan) no comprimento de onda de 660 nm.

Análise estatística

As análises foram feitas utilizando o programa GMC versão 2002 [Campos, 2003], GraphPad Prism (versão 3.02) e BioEstat 5.0, estabelecendo o nível de significância em 5%. Os resultados de dureza de superfície (SH_i e SH_f) e de perda integrada de dureza (ΔKHN) apresentaram distribuição normal e homocedasticidade. Os dados de F, Ca e P mostram-se heterogêneos e foram submetidos à transformação logarítmica. Os resultados foram submetidos à análise de variância seguido pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni. Calculou-se a correlação de Pearson entre os resultados de SH_f e ΔKHN , considerando todos os dentifrícios e os dentifrícios placebo, 250, 500 e 1100.

Resultados

Os valores (media \pm dp, n=3) da concentração ($\mu\text{g/g}$) de F (total e iônico) nos dentifrícios (placebo, 250, 500, 1100, 250+0,25, 250+0,50, 250+1,0 e 250+3,0) foram respectivamente: 11,9 \pm 0,9 e 12,8 \pm 0,7; 254,3 \pm 18,1 e 250,1 \pm 17,0; 504,4 \pm 29,6 e 506,9 \pm 25,8; 1121,8 \pm 54,0 e 1142,6 \pm 43,5; 234,1 \pm 2,1 e 236,2 \pm 3,0; 241,5 \pm 3,3 e 238,7 \pm 2,0; 262,2 \pm 17 e 262 \pm 4,2; 243,0 \pm 4,2 e 240,1 \pm 4,0 (Anexo K). O valor

médio ($\pm dp$) da SHi (Anexo L) para todos os blocos foi $367,5 \pm 10,2$ Kg/mm². Os valores de SHi de acordo com os grupos de dentifrícios variou entre $365,1 \pm 10,6$ e $370,5 \pm 11,5$ Kg/mm², sem diferença entre eles ($p=0,963$).

Com relação aos dados da SHf (Figura 1, Anexo L), os grupos placebo e 250+3,0 apresentaram valores de dureza similar ($p>0,05$) e menor que os demais grupos ($p<0,05$). Os grupos com TMP (0,25 a 1,0%) não apresentaram diferença quando comparado ao grupo 1100 ($p>0,05$). Os resultados de ΔKHN (Anexo M) mostraram que o grupo placebo apresentou maior valor quando comparado aos demais grupos ($p<0,05$). Os dentifrícios com TMP (0,25 a 1,0%) mostraram área de desmineralização semelhante ao grupo 1100 ($p>0,05$). Os grupos 250 e 250+3,0 não apresentaram diferença significativa (Figura 1). Observou-se correlação entre os dados de SHf e ΔKHN , considerando os dentifrícios placebo, 250, 500 e 1100 ($r=-0,843$, $p<0,001$) ou todos os grupos ($r=-0,792$, $p<0,001$).

O gráfico do perfil da área de desmineralização mostrou uma lesão de subsuperfície para todos os grupos, exceto para o grupo 250+3,0 (Figura 2). Áreas de lesão secundária foram observadas nos grupos 250, 500, 1100, 250+1,0, 250+3,0 e placebo.

Os grupos fluoretados mostraram maior conteúdo de F no esmalte (Figura 3, Anexo N) quando comparado ao placebo ($p<0,05$). Os grupos tratados com TMP (0,25 a 1,0%) apresentaram valores semelhantes ao grupo 500 ($p>0,05$). O maior conteúdo de F foi observado no dentifrício 1100 ($p<0,05$). Menor conteúdo de F foi observado nos grupos 250 e 250+3,0 quando comparados aos dentifrícios fluoretados. Os dentifrícios 1100 e 250+0,25 apresentaram (Figura 3) valores similares ($p>0,05$) de Ca presente no esmalte (Anexo N). Os grupos placebo e 250+3,0 mostraram valores semelhantes ($p>0,05$), porém menores que os demais dentifrícios ($p<0,05$). Os valores de P presente no esmalte (Figura 3, Anexo N) foram semelhantes entre os grupos ($p>0,05$).

Discussão

Como o reflexo da expectoração em crianças de pouca idade ainda não está totalmente desenvolvido [Lima e Cury, 2001], a utilização de um dentifrício de baixa concentração de F até os 6 anos de idade [Mascarenhas, 2000], período de formação dos dentes permanentes, seria importante, desde que não houvesse um

comprometimento no controle da cárie dentária, possibilitando desta forma reduzir a prevalência da fluorose dentária. No presente estudo, os dentifrícios experimentais foram manipulados com 250 µg F/g e variadas concentrações de TMP, com base no trabalho de Takeshita et al. [2009b].

O acréscimo de 250 µg F/g na formulação dentifrícia promoveu uma dureza (SHf) 3,5 vezes maior quando comparado ao grupo placebo (Figura 1). A presença de F no esmalte para o grupo 250 foi ~61% maior quando comparado ao placebo (Figura 3), justificando os resultados de SHf. Com a adição de 1,0% de TMP ao dentifrício de 250 µg F/g a perda mineral foi reduzida em 5 vezes em relação ao grupo placebo, similar ao dentifrício com 1100 µg F/g. Apesar dos grupos 250+1,0 e 1100 apresentarem similar capacidade em reduzir a perda mineral (Figura 1), o perfil da área de desmineralização foi diferente com o dentifrício 250+1,0 mostrando uma lesão secundária mais pronunciada que o 1100, entre as profundidades de 40 e 90 µm (Figura 2). Uma análise mais precisa deste perfil utilizando teste de dureza em secção longitudinal foi possível com a redução da carga de 25 para 5 g e a utilização de objetiva com aumento de 1000 vezes. A carga menor possibilitou a realização de impressões a cada 5 µm de distância, a partir da superfície do esmalte, detalhando melhor o perfil da área de desmineralização até 30 µm, e minimizando as deformações nas impressões. A correlação entre SHf e Δ KHN ($r=-0,843$, $p<0,001$) observada neste estudo foi boa e próxima ao encontrado por Delbem et al. [2009] ($r=-0.933$, $p<0.001$), que utilizaram carga de 25 g. Estudo piloto comparando dureza em secção longitudinal em esmalte hígido mostrou não haver diferença ($p=0,188$) entre as cargas de 5g e 25 g (dados não publicados).

Apesar de apresentarem Δ KHN e concentração de F e Ca presente no esmalte similar (Figura 1 e 3), os grupos 250 e 250+3,0 mostraram um perfil da área de desmineralização diferente (Figura 2). No grupo 250 observa-se um esmalte superficial (~10 µm) mais mineralizado quando comparado ao esmalte entre 20 a 40 µm, caracterizando uma lesão de subsuperfície (Figura 2). A adição de 3,0% de TMP implicou em um esmalte superficial menos mineralizado do que na distância de 20 a 40 µm, refletindo em menor valor de SHf quando comparado ao grupo 250 (Figura 1). De acordo com Gonzalez [1971], o TMP e o F não competem pelo mesmo sítio de ligação na superfície do esmalte, atuando de forma distinta.

Entretanto, o TMP pode interferir negativamente na ação do F quando utilizado em maiores concentrações.

A adição de 0,25% de TMP foi suficiente para aumentar a capacidade do F (250 µg/g) em reduzir a perda mineral, sendo de ~41% para SHf e ~56% para ΔKHN, produzindo resultados semelhantes ao grupo 1100 (Figura 1). Neste grupo, nota-se um aumento de ~26% na concentração de F no esmalte em relação ao grupo 250. Parece que a adsorção do TMP realmente pode alterar a permeabilidade seletiva do esmalte favorecendo ou não a difusão de íons para o seu interior, como descrito por Van Dijk et al. [1980], Tung e Brown [1983], Brown e Chow [1986]. Além da incorporação de F estar associada ao efeito direto do TMP, o Ca presente no esmalte pode contribuir com uma maior difusão de F para o interior do esmalte [Vogel et al., 1990; Schemehorn et al., 1999ab]. O fato da concentração de Ca no grupo 250+0,25 ser maior em ~27% em relação ao grupo 250 e semelhante ao grupo 1100 (Figura 3), pode ter favorecido uma maior deposição de fosfatos de cálcio rico em F e de fluoreto de cálcio promovendo maiores valores de dureza (Figura 1). Dados não publicados mostraram que a hidroxiapatita tratada com F (500 µg/g) e TMP (1%) apresenta concentração de fluoreto de cálcio 2 vezes maior quando comparada com a tratada com 1100 µg F/g (estudo in vitro). De acordo com a literatura, o TMP pode interferir com a dissolução do esmalte reduzindo a perda mineral [Gonzalez et al, 1973; McGaughey e Stowell, 1977], bem como facilitar a difusão de cátions para o interior do esmalte [van Dijk et al., 1980].

O efeito sinérgico entre o TMP e o F parece ser dependente de uma adequada associação entre os ativos. Com a concentração de 250 µg F/g o aumento na concentração do TMP para 0,50 e 1,0% reduziu a concentração de Ca presente no esmalte em ~12%. Isto não influenciou os resultados de SHf e ΔKHN, mas alterou o perfil da área de desmineralização, principalmente do grupo 250+1,0 onde é possível observar uma lesão secundária (Figura 2). Com 3,0% de TMP observam-se menores concentrações de F e Ca, semelhantes ao grupo 250, e uma maior perda mineral (Figura 1). Neste grupo, o perfil da área de desmineralização mostrou-se diferente dos demais com a presença de uma lesão secundária mais extensa entre as profundidades de 50 e 130 µm (Figura 2). No estudo de Takeshita et al. [2009b] com dentifrícios de 500 µg F/g e TMP, os melhores resultados foram obtidos nas concentrações de 1,0 a 3,0%. Assim, mais estudos devem ser realizados para

determinar quais as concentrações de F e TMP que produzam um melhor efeito anticárie, bem como, o seu mecanismo de ação.

O desenvolvimento e a inserção de uma formulação dentifrícia que reduzisse a fluorose dentária, com baixa concentração de F (250 µg/g) promovendo eficácia anticariogênica semelhante ou superior a de um dentifrício padrão é importante, visto que, além das crianças, os adultos podem utilizá-lo sem prejuízo. A superioridade de um produto em relação ao outro (teste sobre controle) é demonstrada quando valores menores que 0,9 são obtidos [American Dental Association, 1999] baseados na “faixa de equivalência” – entre 0,9 e 1,1 – para estudos intra-buciais [Proskin et al., 1992]. Tendo como base esta “faixa de equivalência”, os grupos 250+0,25 e 1100 apresentaram resultados de SHf e Δ KHN similares (valor = 1,0). Foi possível concluir que a adição de TMP nas concentrações de 0,25% e 0,50% em dentifrícios com concentração reduzida de F (250 µg/g) pode inibir a desmineralização do esmalte, sendo similar ao dentifrício padrão de 1100 µg F/g.

Agradecimentos

Agradecemos a CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de estudos. Agradecemos também à técnica de laboratório do Departamento de Odontologia Social e Infantil, Maria dos Santos Ferreira Fernandes, pela colaboração durante o desenvolvimento do trabalho.

Referências

- Alves KM, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FA, Buzalaf MA, Sasaki KT, Delbem AC: In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res* 2007;41:263-267.
- American Dental Association. Council on Scientific Affairs: Acceptance program guidelines: determination of efficacy in product evaluation. Chicago:ADA; 1999.
- Brighenti FL, Delbem AC, Buzalaf MA, Oliveira FA, Ribeiro DB, Sasaki KT: In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. *Caries Res* 2006;40:239-244.
- Brown WE, Chow LC: Effects of neutral salts in a bench-scale caries model. *J Dent Res* 1986;65:1115-1120.
- Browne D, Whelton H, O'Mullane D: Fluoride metabolism and fluorosis. *J Dent* 2005;33:177-186.
- Campos GM: GMC 2002 (computer program) Ribeirao Preto: School of Dentistry. <http://www.forp.usp.br/restauradora/gmc/gmc.htm#gmc>, 2003.
- Delbem AC, Cury JA: Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. *Am J Dent* 2002;15:169-172.
- Delbem AC, Vieira AE, Cury JA: Cariostatic potencial evaluation of the most popular Brazilian dentifrice. *Rev Bras Odontol* 2002;59:14-18.
- Delbem AC, Sasaki KT, Vieira AE, Rodrigues E, Bergamaschi M, Stock SR, Cannon ML, Xiao X, De Carlo F: Comparison of methods for evaluating mineral loss: hardness versus synchrotron microcomputed tomography. *Caries Res* 2009;43:359-365.
- Fiske CH, Subbarow Y: The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 1925;66:375-400.
- Gonzalez M: Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization. *J Dent Res* 1971;50:1056-1064.
- Gonzalez M, Jeansonne BG, Feagin FF: Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. *J Dent Res* 1973;52:261-266.
- Hamilton J: New CDC report offers fluoride use tips. *J Calif Dent Assoc* 2001;29:723-724.

-
- Horowitz HS: The need for toothpastes with lower than conventional fluoride concentrations for preschool-aged children. *J Public Health Dent* 1992;52:216-221.
- Lima YBO, Cury JA: Ingestão de flúor por crianças pela água e dentifício. *Rev Saúde Pública* 2001;35: 576-581.
- Mascarenhas AK: Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. *Pediatr Dent* 2000;22:269–277.
- McGaughey C, Stowell E: Effects of polyphosphates on the solubility and mineralization of HA: relevance of a rationale for anticaries activity. *J Dent Res* 1977;56:579-587.
- Navia JM, Henry CA: Longitudinal study of cariostatic effects of sodium trimetaphosphate and sodium fluoride when fed separately and together in diets of rats. *J Dent Res* 1969; 48:183-191.
- Negri HMD, Cury JA: Efeito dose-resposta de uma formulação de dentifício com concentração reduzida de fluoreto – estudo in vitro. *Pesqui Odontol Bras* 2002;16:361-365.
- O’Mullane DM, Kavanagh D, Ellwood RP, Chesters RK, Schafer F, Huntington E, Jones PR: A three-year clinical trial of a combination of trimetaphosphate and sodium fluoride in silica toothpastes. *J Des Res* 1997; 76:1776-1781.
- Ögaard B: CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 2001;35:40-44.
- Osuji OO, Leake JL, Chipman ML, Nikiforuk G, Locker D, Levine N: Risk factors for dental fluorosis in a fluoridated community. *J Dent Res* 1988;12:1488-1492.
- Proskin HM, Chilton NW, Kingman A: Interim report of the ad hoc committee for the consideration of statistical concerns related to the use of intra-oral models in submissions for product claims approval to the American Dental Association. *J Dent Res* 1992;71:949-952.
- Saxegaard E, Rolla G: Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 1988;96:523-535.
- Schemehorn BR, Wood GD, Winston AE: Laboratory enamel solubility reduction and fluoride uptake from enamel on dentifrice. *J Clin Dent* 1999a;10:9-12.

-
- Schemehorn BR, Orban IC, Wood GD, Fischer GM, Winston AE: Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent* 1999b;10:13-16.
- Spiguel MH, Tovo MF, Kramer PF, Franco KS, Alves KM, Delbem AC: Evaluation of laser fluorescence in the monitoring of the initial stage of the de-/remineralization process: an in vitro and in situ study. *Caries Res* 2009;43:302-307.
- Takehita EM, Castro LP, Danelon M, Sasaki KT, Delbem AC: In situ evaluation of dentifrice with low fluoride content and supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res* 2009a;43: 219.
- Takehita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem AC: In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res* 2009b;43: 50-56.
- Tavener JA, Davies GM, Davies RM, Ellwood RP: The prevalence and severity of fluorosis in children who received toothpaste containing either 440 or 1,450 ppm F from the age of 12 months in deprived and less deprived communities. *Caries Res* 2006;40:66-72.
- Tung MS, Brown WE: Characterization and modification of electrochemical properties of teeth. *J Dent Res* 1983;62:60-64.
- Van Dijk JW, Borggreven JM, Driessens FC: The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel. *Arch Oral Biol* 1980;25:591-595.
- Vieira AE, Delbem AC, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF: Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res* 2005;39:514-520.
- Vogel GL, Chow LC, Brown WE: A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. *Caries Res* 1983;17:23-31.
- Vogel GL, Carey CM, Chow LC, Tatevossian A: Micro-analysis of plaque fluid from single-site fasted plaque. *J Dent Res* 1990;69:1316-1323
- Weatherell JA, Robinson C, Strong M, Nakagaki H: Micro-sampling by abrasion. *Caries Res* 1985;19:97-102.

Legendas de figuras

Figura 1 – Representação gráfica dos valores médios (n=12) de dureza de superfície após ciclagem de pH (SHf) e de perda integrada da dureza (Δ KHN) de acordo com os grupos. Barras verticais mostram desvio-padrão. Letras distintas mostram diferença significativa em cada análise entre os grupos (ANOVA, $p < 0,001$).

Figura 2 – Gráfico do perfil da dureza em secção longitudinal (média de dureza, n=12) em diferente profundidade de acordo com os grupos de dentifrícios.

Figura 3 – Valores médios (n=12) das concentrações de fluoreto (F), cálcio (Ca) e fósforo (P) presente no esmalte após experimento in vitro de acordo com os grupos. Barras verticais mostram desvio-padrão. Letras distintas mostram diferença significativa em cada análise entre os grupos (ANOVA: F – $p < 0,001$; Ca – $p < 0,001$ e P – $p = 0,763$).

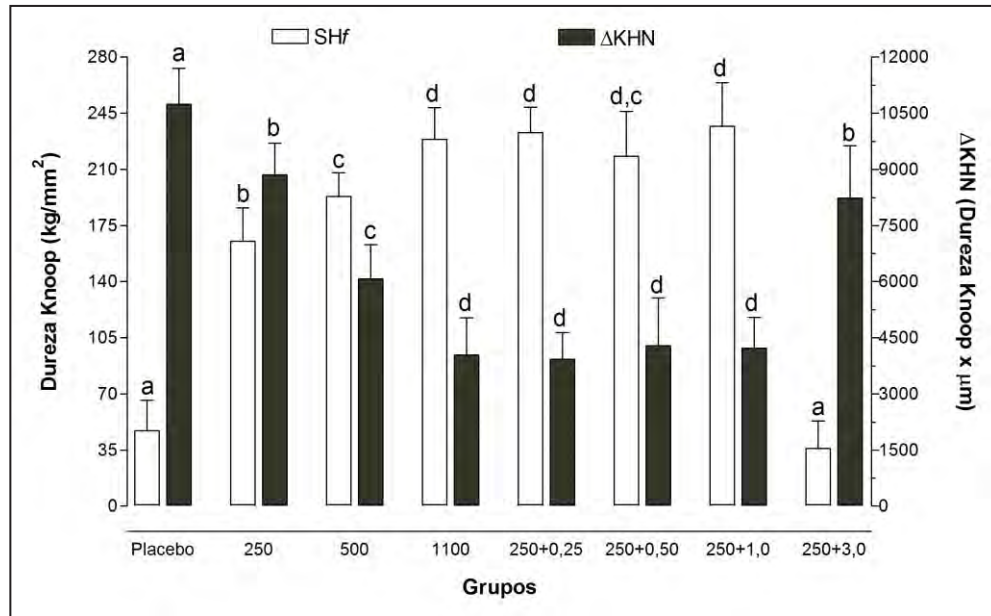


Figura 1

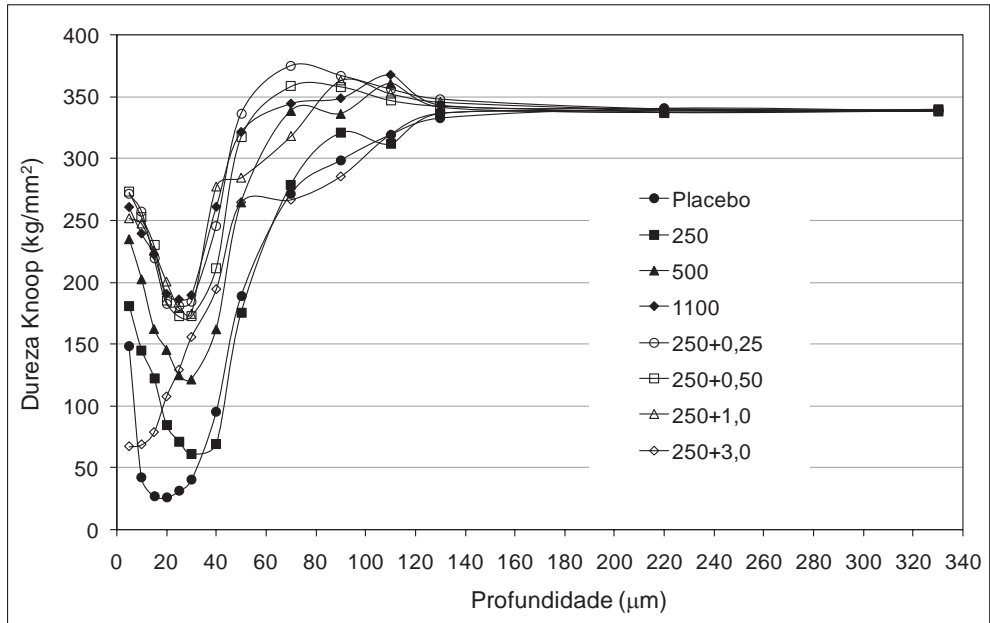


Figura 2

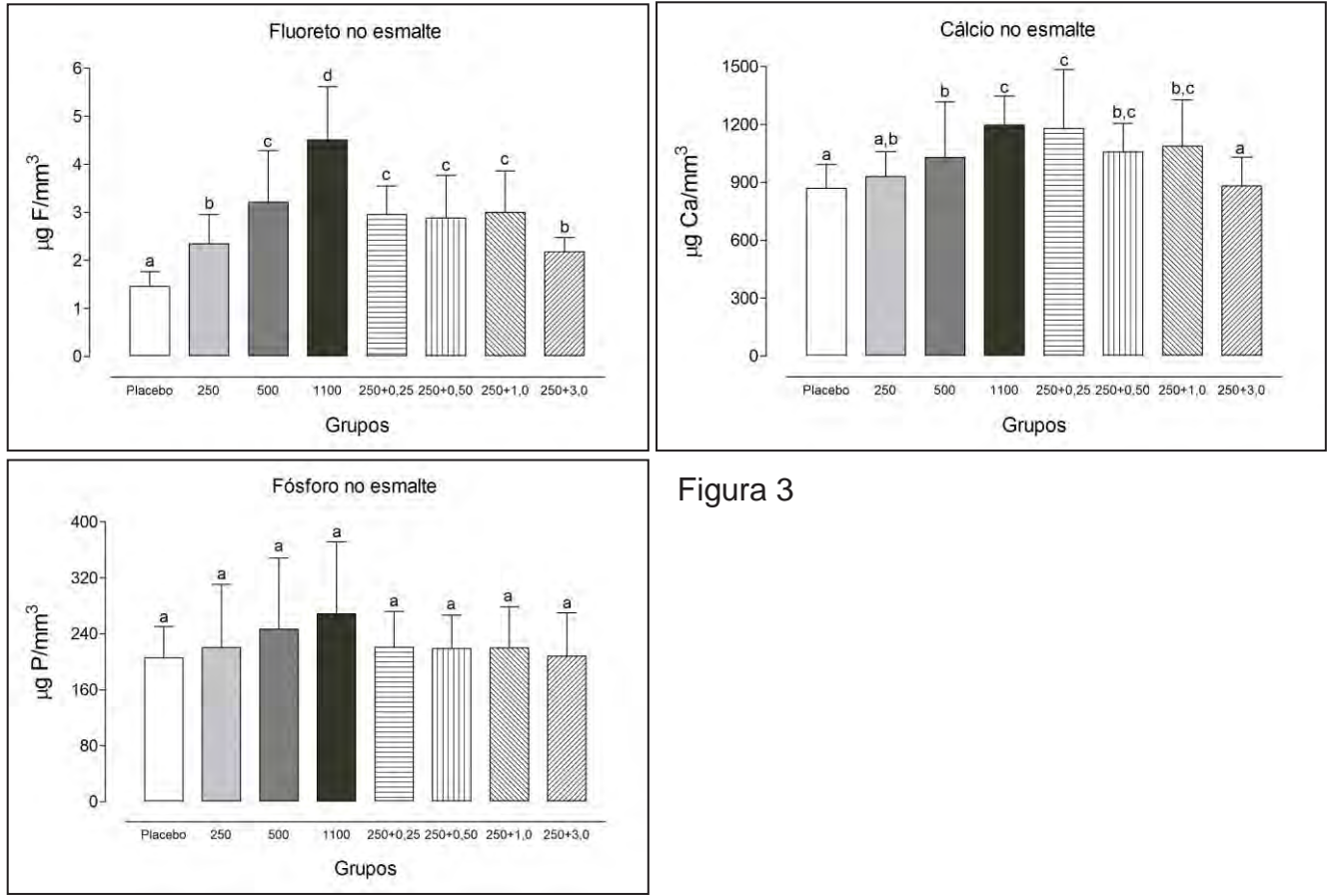


Figura 3

ANEXOS

ANEXO A

INSTRUÇÕES AOS AUTORES



Caries Research

Aims and Scope

'Caries Research' is an international journal, the aim of which is to promote research in dental caries and related fields through publication of original research and critical evaluation of research findings. The journal will publish papers on the aetiology, pathogenesis, prevention and clinical control or management of dental caries. Papers on health outcomes related to dental caries are also of interest, as are papers on other disorders of dental hard tissues, such as dental erosion. Aspects of caries beyond the stage where the pulp ceases to be vital are outside the scope of the journal. The journal reviews papers dealing with natural products and other bacterial inhibitors against specific criteria, details of which are available from the Editor.



Submission

Manuscripts written in English should be submitted at



Online Manuscript Submission

Should you experience problems with your submission, please contact:

Dr. R.P. Shellis

r.p.shellis@bris.ac.uk

Tel. +44 (0)117 928 4328

Fax +44 (0)117 928 4778

Copies of any 'in press' papers cited in the manuscript must accompany the submission. Manuscripts reporting on clinical trials must be accompanied by the CONSORT checklist (see below).



Conditions

All manuscripts are subject to editorial review. Manuscripts are received with the explicit understanding that the data they contain have not previously been published (in any language) and that they are not under simultaneous consideration by any other publication.

Submission of an article for publication implies the transfer of the copyright from the author to the publisher upon acceptance. Accepted papers become the property of 'Caries Research' and may not be reproduced by any means, in whole or in part, without the written consent of the publisher.

It is the author's responsibility to obtain permission to reproduce illustrations, tables, etc., from other publications.



Types of Papers

Original papers or Short Communications are reports of original work (including systematic reviews and meta-analyses). Both have the structure outlined below but for Short Communications the abstract should be less than 100 words and the manuscript should not exceed 3 printed pages, equivalent to about 9 manuscript pages (including tables, illustrations and references).

Reviews can have a freer format but should nevertheless commence with a Title page, an Abstract and an Introduction defining the scope.

Current topics are concise articles that present critical discussion of a topic of current interest, or a fresh look at a problem, and should aim to stimulate discussion.

Letters to the Editor, commenting on recent papers in the journal, are published occasionally, together with a response from the authors of the paper concerned.



Preparation of Manuscripts

Text should be one-and-a-half-spaced, with wide margins. All pages should be numbered, starting from the title page. A conventional font, such as Times New Roman or Arial, should be used, with a font size of 11 or 12. Avoid using italics except for Linnaean names of organisms and names of genes.

Manuscripts should be prepared as a text file plus separate files for illustrations. The text file should contain the following sequence of sections: Title page; Declaration of interests; Abstract; Introduction; Materials and Methods; Results; Discussion; Acknowledgements; References; Legends; Tables. Each section should start on a new page, except for the body of the paper (Introduction to Acknowledgements), which should be continuous.

Title page: The first page of each manuscript should show, in order:

- the title, which should be informative but concise;
- the authors' names and initials, without degrees or professional status, followed by their institutes;
- a short title, maximum length 60 characters and spaces, for use as a running head;
- a list of 3-10 key words, for indexing purposes;
- the name of the corresponding author and full contact details (postal address, telephone and fax numbers, and e-mail address).

Declaration of Interests: Potential conflicts of interest should be identified for each author or, if there are no such conflicts, this should be stated explicitly. Conflict of interest exists where an author has a personal or financial relationship that might introduce bias or affect their judgement. Examples of situations where conflicts of interest might arise are restrictive conditions in the funding of the research, or payment to an investigator from organisations with an interest in the study (including employment, consultancies, honoraria, ownership of shares). The fact that a study is conducted on behalf of a commercial body using funds supplied to the investigators' institution by the sponsor does not in itself involve a conflict of interest. Investigators should disclose potential conflicts to study participants and should state whether they have done so.

The possible existence of a conflict of interest does not preclude consideration of a manuscript for publication, but the Editor might consider it appropriate to publish the disclosed information along with the paper.

Abstract: The abstract should summarise the contents of the paper in a single paragraph of no more than 250 words (to ensure that the abstract is published in full by on-line services such as PubMed). No attempt should be made to give numerical results in detail. References are not allowed in the abstract.

Introduction: This section should provide a concise summary of the background to the relevant field of research, introduce the specific problem addressed by the study and state the hypotheses to be tested.

Materials and Methods (or Subjects and Methods): All relevant attributes of the material (e.g. tissue, patients or population sample) forming the subject of the research should be provided. Experimental, analytical and statistical methods should be described concisely but in enough detail that others can repeat the work. The name and brief address of the manufacturer or supplier of major equipment should be given.

Statistical methods should be described with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, findings should be quantified and appropriate measures of error or uncertainty (such as confidence intervals) given. Sole reliance on statistical hypothesis testing, such as the use of P values, should be avoided. Details about eligibility criteria for subjects, randomization and the number of observations should be included. The computer software and the statistical methods used should be specified. See Altman et al.: Statistical guidelines for contributors to medical journals [Br Med J 1983;286:1489-93] for further information.

Manuscripts reporting studies on human subjects should include evidence that the research was ethically conducted in accordance with the Declaration of Helsinki ([World Medical Association](#)). In particular, there must be a statement in Materials and Methods that the consent of an appropriate ethical committee was obtained prior to the start of the study, and that subjects were volunteers who had given informed, written consent.

Clinical trials should be reported according to the standardised protocol of the [CONSORT Statement](#). The CONSORT checklist must be submitted together with papers reporting clinical trials.

In studies on laboratory animals, the experimental procedures should conform to the principles laid down in the [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes](#) and/or the [National Research Council Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#).

Unless the purpose of a paper is to compare specific systems or products, commercial names of clinical and scientific equipment or techniques should only be cited, as appropriate, in the 'Materials and Methods' or 'Acknowledgements' sections. Elsewhere in the manuscript generic terms should be used.

Results: Results should be presented without interpretation. The same data should not be presented in both tables and figures. The text should not repeat numerical data provided in tables or figures but should indicate the most important results and describe relevant trends and patterns.

Discussion: This section has the functions of describing any limitations of material or methods, of interpreting the data and of drawing inferences about the contribution of the study to the wider field of research. There should be no repetition of preceding sections, e.g. reiteration of results or the aim of the research. The discussion should end with a few sentences summarising the conclusions of the study. However, there should not be a separate 'Conclusions' section.

Acknowledgements: Acknowledge the contribution of colleagues (for technical assistance, statistical advice, critical comment etc.) and also acknowledge the source of funding for the project. The position(s) of author(s) employed by commercial firms should be included.

Legends: The table headings should be listed first, followed by the legends for the illustrations.

Tables: Tables should be numbered in Arabic numerals. Each table should be placed on a separate page. Tables should not be constructed using tabs but by utilising the table facilities of the word-processing software.

Illustrations:

- Illustrations should be numbered in Arabic numerals in the sequence of citation. Figure numbers must be clearly indicated on the figures themselves, outside the image area.
- Black and white half-tone illustrations must have a final resolution of 300 dpi after scaling, line drawings one of 800-1200 dpi.
- Figures with a screen background should not be submitted.
- When possible, group several illustrations in one block for reproduction (max. size 180 x 223 mm).

Color Illustrations

Online edition: Color illustrations are reproduced free of charge. In the print version, the illustrations are reproduced in black and white. Please avoid referring to the colors in the text and figure legends.

Print edition: Up to 6 color illustrations per page can be integrated within the text at CHF 760.00 per page.



References

Reference to other publications should give due acknowledgement to previous work; provide the reader with accurate and up-to-date guidance on the field of research under discussion; and provide evidence to support lines of argument. Authors should select references carefully to fulfil these aims without attempting to be comprehensive.

Cited work should already be published or officially accepted for publication. Material submitted for publication but not yet accepted should be cited as 'unpublished results', while unpublished observations communicated to the authors by another should be cited as 'personal communication', with credit in both cases being given to the source of the information. Neither unpublished nor personally communicated material should be included in the list of references. Abstracts more than 2 years old and theses should not be cited without a good reason, which should be explained in the covering letter accompanying the paper.

References should be cited by naming the author(s) and year. Where references are cited in parenthesis, both names and date are enclosed in square brackets. Where the author is the subject or object of the sentence, only the year is enclosed in brackets.

One author: [Frostell, 1984] or Frostell [1984].

Two authors: [Dawes and ten Cate, 1990] or Dawes and ten Cate [1990].

More than two authors: [Trahan et al., 1985] or Trahan et al. [1985].

Several references cited in parenthesis should be in date order and separated by semi-colons: [Frostell, 1984; Trahan et al., 1985; Dawes and ten Cate, 1990].

Material published on the World Wide Web should be cited like a reference to a print publication, and the URL included in the reference list (not in the text), together with the year when it was accessed.

The reference list should include all the publications cited in the text, and only those publications. References, formatted as in the examples below, should be arranged in strict alphabetical order. All authors should be listed. For papers by the same authors, references should be listed according to year. Papers published by the same authors in the same year should be distinguished by the letters a, b, c, ... immediately following the year, in both the text citation and the reference list. For abbreviation of journal names, use the Index Medicus system. For journals, provide only the year, volume number and inclusive page numbers.

Examples

(a) *Papers published in periodicals:* Lussi A, Longbottom C, Gygax M, Braig F: Influence of professional cleaning and drying of occlusal surfaces on laser fluorescence in vivo. *Caries Res* 2005;39:284-286.

(b) *Papers published only with DOI numbers:* Theoharides TC, Boucher W, Spear K: Serum interleukin-6 reflects disease severity and osteoporosis in mastocytosis patients. *Int Arch Allergy Immunol* DOI: 10.1159/000063858.

(c) *Monographs:* Matthews DE, Farewell VT: *Using and Understanding Medical Statistics*. Basel, Karger, 1985.

(d) *Edited books*: DuBois RN: Cyclooxygenase-2 and colorectal cancer; in Dannenberg AJ, DuBois RN (eds): COX-2. Prog Exp Tum Res. Basel, Karger, 2003, vol 37, pp 124-137.

(e) *Patents*: Diggins AA, Ross JW: Determining ionic species electrochemically. UK Patent Application GB 2 064 131 A, 1980.

(f) *World Wide Web*: Chaplin M: Water structure and behavior. www.lsbu.ac.uk/water, 2004.

Digital Object Identifier (DOI)

S. Karger Publishers supports DOIs as unique identifiers for articles. A DOI number will be printed on the title page of each article. DOIs can be useful in the future for identifying and citing articles published online without volume or issue information. More information can be found at <http://www.doi.org/>



Author's Choice™

With this option the author can choose to make his article freely available online against a one-time fee of CHF 2,750.00. This fee is independent of any standard charges for supplementary pages, color images etc. which may apply. More information can be found at <http://content.karger.com/services/choice.asp>.

Does your funding agency/institute require you to deposit your article in an institutional archive (e.g. PubMedCentral)? You will be pleased to hear that Karger journals are fully geared up for this requirement. All you have to do is opt for open access publication of your article through Karger's Author's Choice™. Karger will also take care of the immediate deposit in the PubMedCentral archive and what's more, not of the manuscript, but of the final, published article. The article will also be available with open access right away, and not just after 12 months. The cost of Author's Choice™ is a permissible cost in your grant, so please take care to budget for it.



Page Charges

There are no page charges for papers of seven or fewer printed pages (including tables, illustrations and references). A charge of CHF 650.00 will be levied for each page in excess of the allotted seven printed pages. The allotted size of a paper is equal to approximately 21 typescript pages (including tables, illustrations and references).

Proofs

Unless indicated otherwise, proofs are sent to the first-named author and should be returned with the least possible delay. Alterations made in proofs, other than the correction of printer's errors, are charged to the author. No page proofs are supplied to the author.



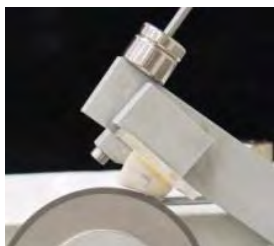
Reprints

Order forms and a price list are sent with the proofs. Orders submitted after this issue is printed are subject to considerably higher prices.

ANEXO B**CONFECÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE BOVINO (4X4mm)**



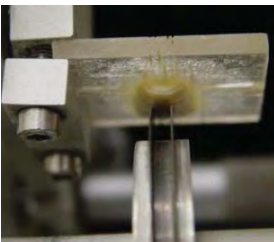
1. Coroa do dente bovino incisivo central inferior, separada da raiz por meio de disco diamantado de duas faces (KG Sorensen D 91), montado em motor de bancada (Nevoni), mantido sob refrigeração (água destilada/deionizada).



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



3. Face vestibular fixada na placa de acrílico.



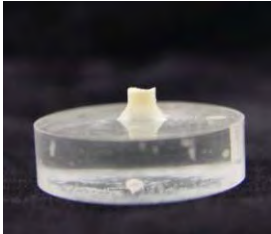
4. Secção da face vestibular no sentido longitudinal, na porção mais plana, utilizando-se 2 discos diamantados (série 15 HC Diamond -n. 11-4244 Buehler), montados em cortadeira sob refrigeração com água destilada/deionizada e separados por um disco espaçador de alumínio com 4 mm de espessura. Em seguida, foi realizado o corte no sentido transversal.



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

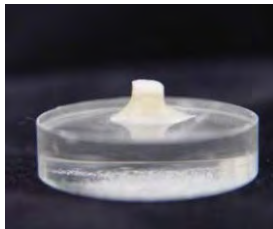
ANEXO C

PLANIFICAÇÃO DA DENTINA E POLIMENTO DO ESMALTE



1. Bloco de esmalte fixado em disco de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 11 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 Beta – Grinder – Polisher e Vector Power Head (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) e lixas de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler), durante 30 segundos sob baixa rotação e refrigeração.



3. Blocos fixados com a superfície do esmalte voltada para cima para serem polidos.

Seqüência do polimento de esmalte:

- ✓ Pedra-pomes, água deionizada e taça de borracha montada em contra-ângulo em baixa-rotação.
- ✓ Lixas de granulação 600 (20 segundos) e 1200 (30 segundos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/ deionizada por 2 minutos, entre cada lixa;
- ✓ Acabamento final com disco de papel feltro TEXMET 1000 (Buehler Polishing Cloth) durante 1 minuto com suspensão de diamante 1 micron base-água (Buehler);
- ✓ Lavagem durante 30 segundos com jato de água deionizada;
- ✓ Limpeza em lavadora ultrassônica Modelo 2110 (Branson, Danbury CT,USA) com água destilada/ deionizada (2 minutos).

ANEXO D

ANÁLISE DA DUREZA DE SUPERFÍCIE DO ESMALTE

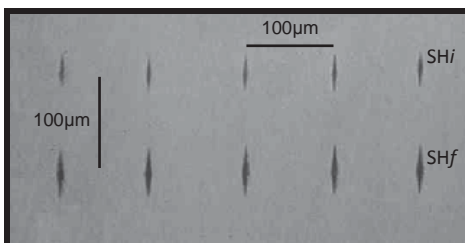


1. Microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2000 (Shimadzu Corporation - Kyoto-Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem CAMSWIN (NewAge Industries, USA).

-
2. Bloco de esmalte sendo submetido à leitura no microdurômetro, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos.



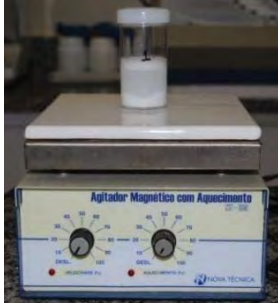
3. Fotomicrografia das impressões (SH). (Aumento: 100x)



4. Fotomicrografia das impressões (SH_i, SH_f). (Aumento: 100x)

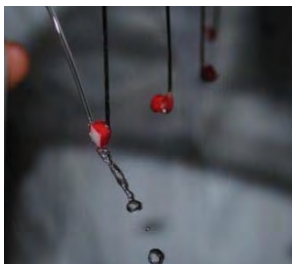
ANEXO E

CICLAGEM DE pH (Des>Re)



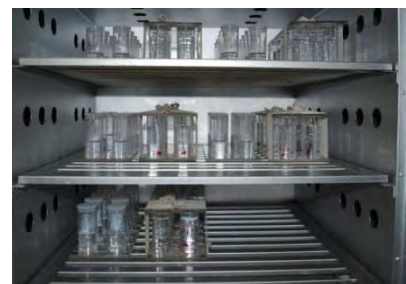
1. Agitador Magnético com Aquecimento TE – 081 (Piracicaba, SP - Brasil) utilizado para agitar o dentífrício com velocidade de 50% durante 15 minutos.

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



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

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



ANEXO F

ANÁLISE DA DUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL



1. Embutidora metalográfica (AROTEC PRE 30S) – utilizada para inclusão dos blocos de esmalte em 5 gramas de resina acrílica (Buehler Transoptic Powder, Lake Bluff, Illinois, USA), pressão de 150 Kgf/cm², tempo de aquecimento de 7 minutos e mais 7 minutos de resfriamento. Os blocos foram fixados em posição com cola adesiva (Super Bonder – Loctite).



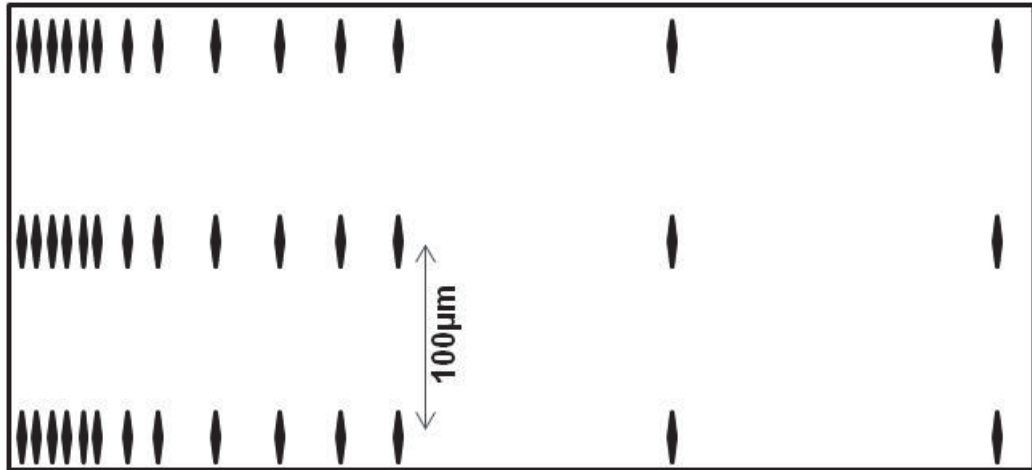
2. Corpo de prova – plano longitudinal voltado para a superfície da resina acrílica.



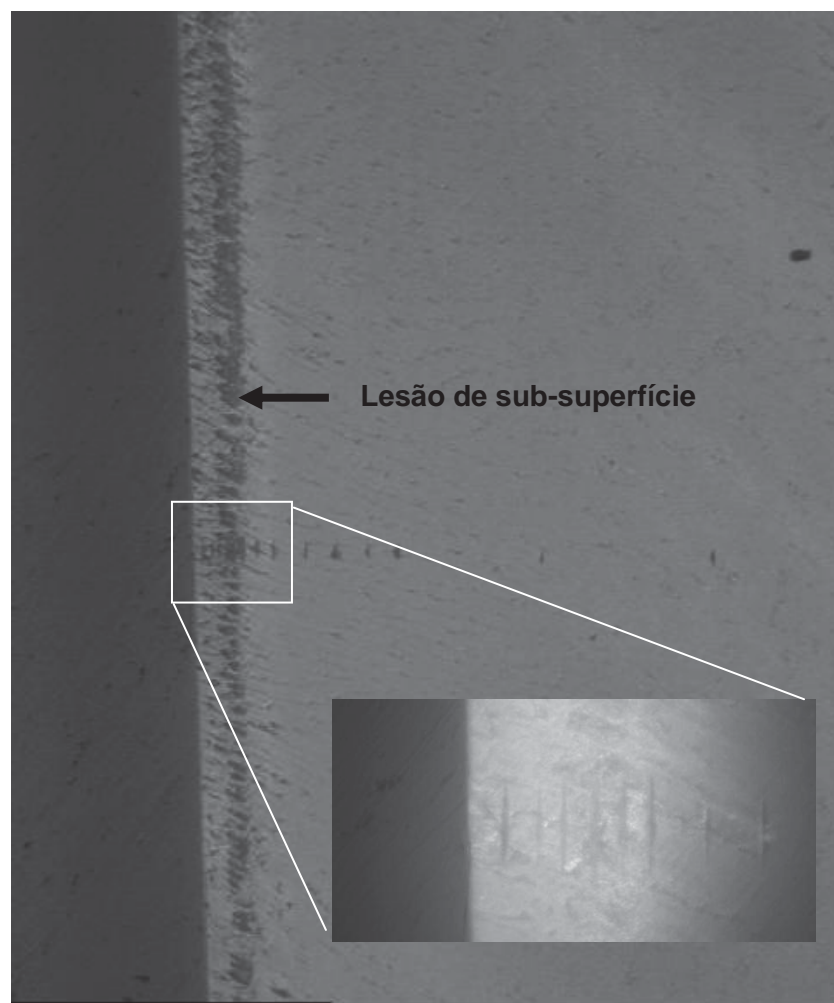
3. Microdurômetro Micromet 5114 Hardness Tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem Buehler OminMet (Buehler, Lake Bluff, USA).

Seqüência do polimento de esmalte:

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



Esquema representativo da seqüência de 14 impressões nas distâncias de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 70, 90, 110, 130, 220 e 330 μm da superfície externa do esmalte, realizada na área central dos blocos, e outras duas a 100 μm acima e abaixo.



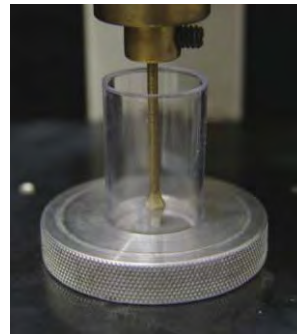
Fotomicrografia das impressões. (Aumento: 1000x)

ANEXO G**ANÁLISE DOS CONTEÚDOS DE F, Ca E P NO ESMALTE**

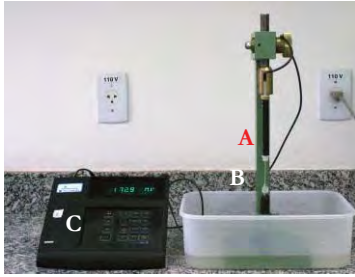


1. Bloco fixado em mandril para peça reta e montado em um microscópio modificado com um manômetro (Pantec, São Paulo, Brasil).

-
2. Bloco de esmalte adaptado ao mandril, sendo submetido à microabrasão, com desgaste de 50 μm , para análise do F, Ca e P.



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



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

A- Eletrodo específico Orion 9409-BN (Orion Research, Inc., Beverly, MA, USA).

B- Microeletrodo de referência (Analyser Comércio e Indústria LTDA, São Paulo, SP).

C- Analisador de íons Orion 720A (Orion Research, Inc.).



5. A concentração de cálcio no esmalte foi determinada através de método colorimétrico em placas de 96 poços, (Placa para cultura de células de fundo chato - Modelo 92096 – TPP, Switzerland).



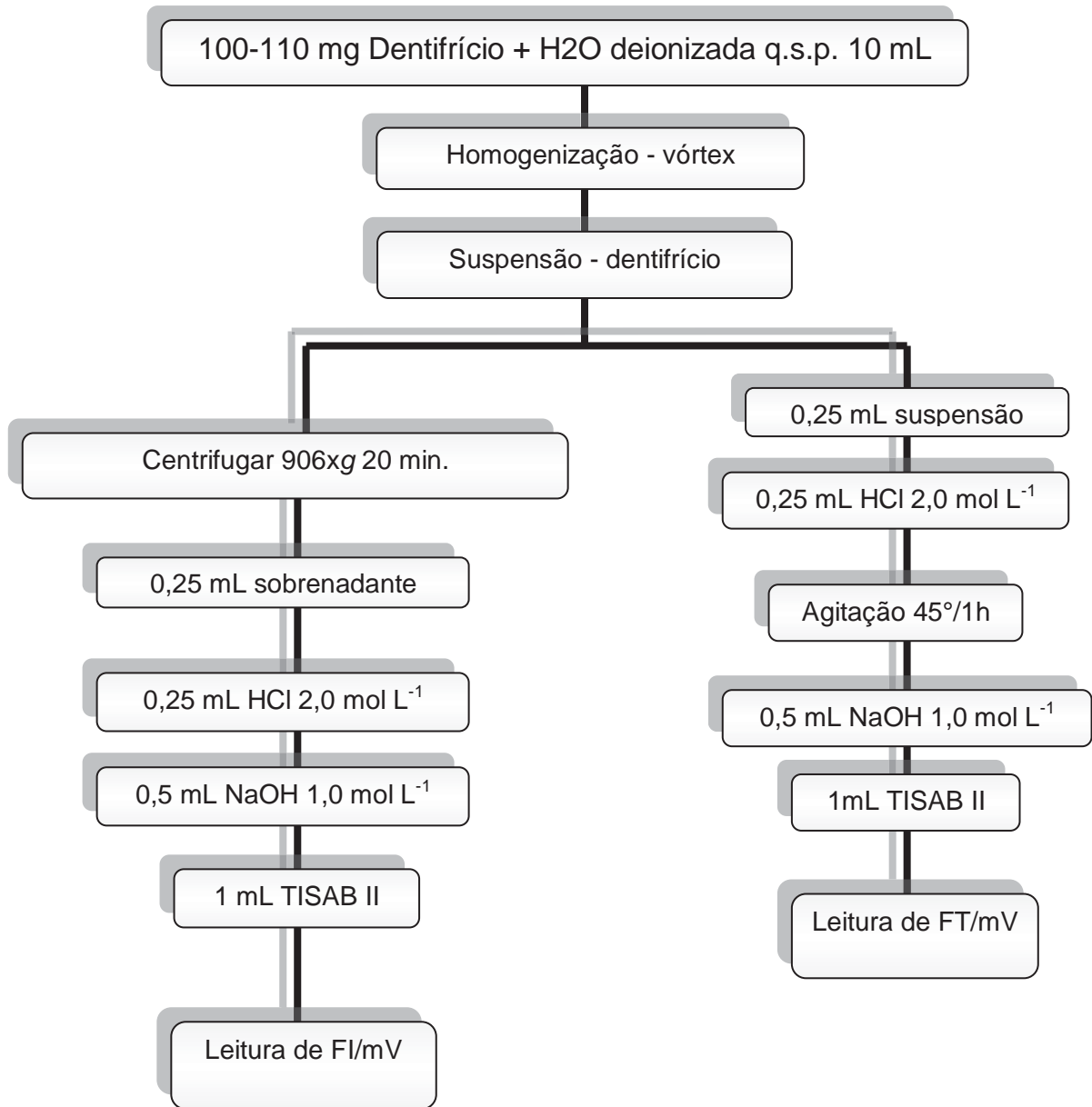
6. As leituras de absorvância na análise da concentração de cálcio no esmalte foram realizadas em leitor de placas, (PowerWave 340, Biotek a 650 nm).



7. As leituras de absorvância na determinação da concentração de fósforo do esmalte foram realizadas a 660 nm, no espectrofotômetro Hitachi, modelo U-1100 (Hitachi High Technologies, Minato-ku, Tokyo, Japan).

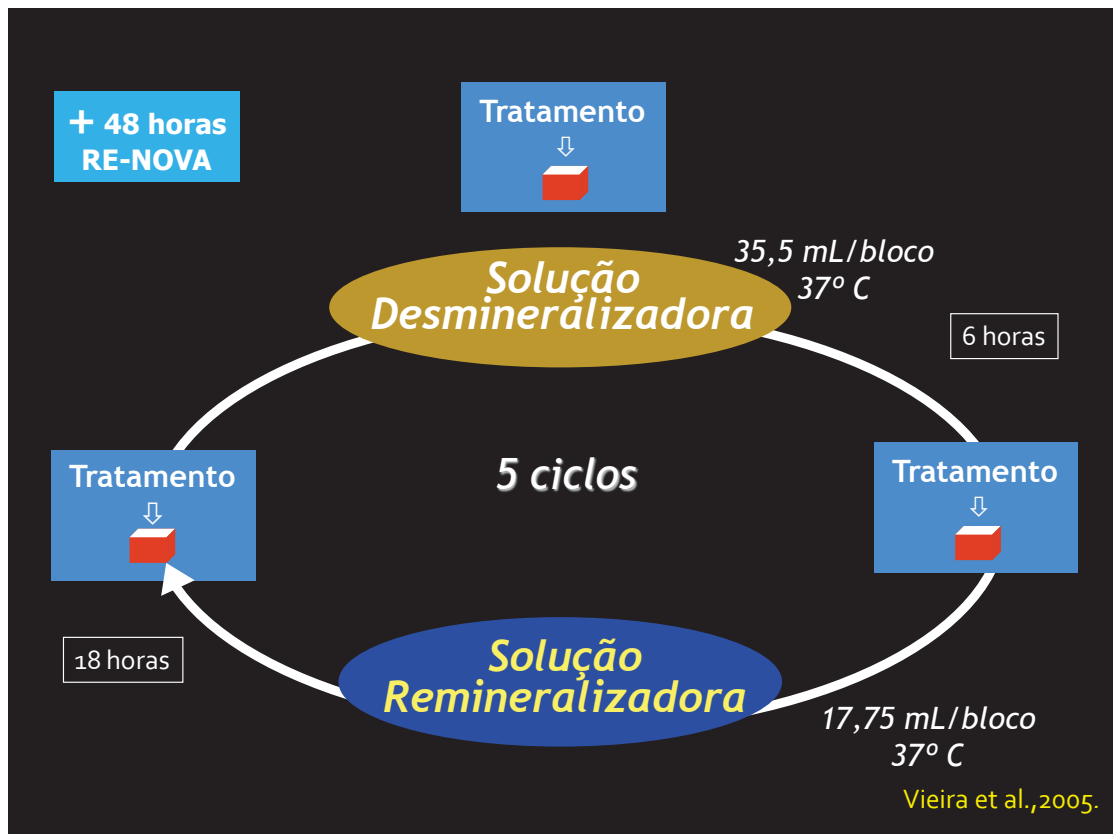
ANEXO H

ESQUEMA REPRESENTATIVO DA DOSAGEM DE F DOS DENTIFRÍCIOS



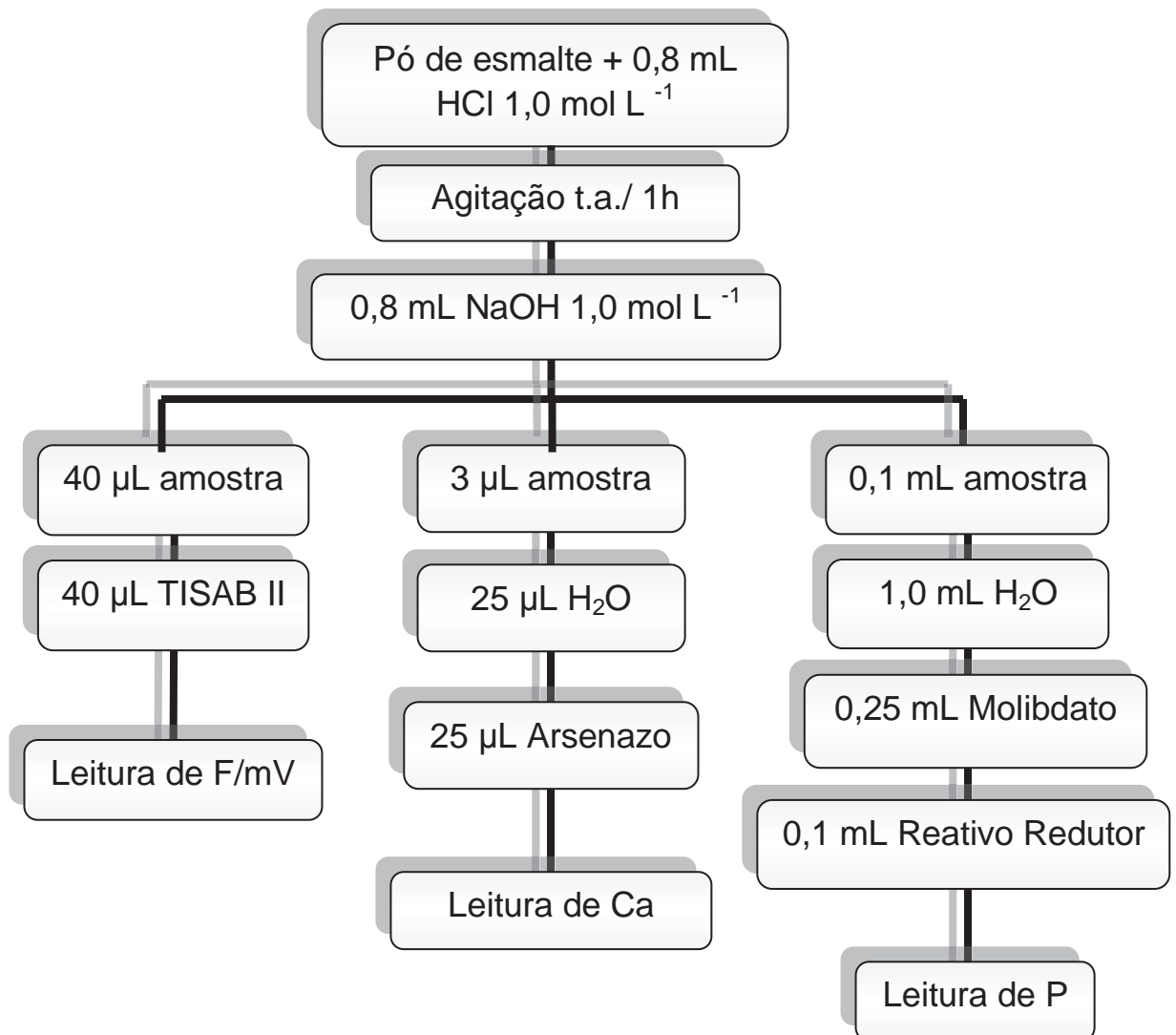
ANEXO I

ESQUEMA REPRESENTATIVO DA CICLAGEM DE pH (Des>Re)



ANEXO J

ESQUEMA REPRESENTATIVO DA ANÁLISE DE F, CA E P NO ESMALTE



ANEXO K

VALORES – DOSAGEM DE F NOS DENTIFRÍCIOS

Curva de calibração				
Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	237,1	243,2	242,2	240,83
0,125	182,1	182,8	181,7	182,20
0,250	165,6	165,6	164,8	165,33
0,500	147,1	147,7	147,7	147,50
1,000	129,3	130,1	131,5	130,30
2,000	111,9	111,6	114,6	112,70
Teste 1	147,4	147,8	148,4	147,87
Teste 2	148,1	148,5	148,4	148,33

TISAB II pH 5,2										
[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl 2N	mL NaOH N	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
1,00	0,125	0,125	0,250	0,5	0,1250	-0,9030900	182,20	-0,899364	0,1261	0,85
2,00	0,125	0,125	0,250	0,5	0,2500	-0,6020600	165,33	-0,607634	0,2468	-1,29
4,00	0,125	0,125	0,250	0,5	0,5000	-0,3010300	147,50	-0,299185	0,5021	0,42
8,00	0,125	0,125	0,250	0,5	1,0000	0,0000000	130,30	-0,001690	0,9961	-0,39
16,00	0,125	0,125	0,250	0,5	2,0000	0,3010300	112,70	0,302724	2,0078	0,39

intercepção 2,252008632
 inclinação -0,017296228
 Rquad 0,99994
 Slope -57,8 Temp.: 25°C

[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl 2N	mL NaOH N	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blanck	0,000	0,125	0,125	0,250	0,500	0,00	240,83	-1,91349972	0,012
Teste 1	4,000	0,125	0,125	0,250	0,500	0,50	147,87	-0,30552702	0,4948
Teste 2	4,000	0,125	0,125	0,250	0,500	0,50	148,33	-0,31359859	0,4857

FT

Grupo placebo

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	237,7	-1,8593	0,014	2,0	0,028	10,0	0,25	1,106	0,1005	11,0	
A'	235,6	-1,8230	0,015	2,0	0,030	10,0	0,25	1,203		12,0	11,5
B	232,4	-1,7676	0,017	2,0	0,034	10,0	0,25	1,366	0,1004	13,6	
B'	235,1	-1,8143	0,015	2,0	0,031	10,0	0,25	1,227		12,2	12,9
C	234,7	-1,8074	0,016	2,0	0,031	10,0	0,25	1,246	0,1005	12,4	
C'	239,5	-1,8904	0,013	2,0	0,026	10,0	0,25	1,030		10,2	11,3
										média=	11,9
										dp=	0,9

Grupo 250

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	157,0	-0,4635	0,344	2,0	0,688	10,0	0,25	27,516		274,3	
A'	156,9	-0,4618	0,345	2,0	0,691	10,0	0,25	27,626	0,1003	275,4	274,9
B	160,1	-0,5171	0,304	2,0	0,608	10,0	0,25	24,320		241,8	
B'	160,3	-0,5206	0,302	2,0	0,603	10,0	0,25	24,128	0,1006	239,8	240,8
C	160,0	-0,5154	0,305	2,0	0,610	10,0	0,25	24,418		243,7	
C'	159,3	-0,5033	0,314	2,0	0,628	10,0	0,25	25,108	0,1002	250,6	247,1
										média=	254,3
										dp=	18,1

Grupo 250+0,25

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	160,6	-0,5258	0,298	2,0	0,596	10,0	0,25	23,841		237,0	
A'	161,1	-0,5344	0,292	2,0	0,584	10,0	0,25	23,371	0,1006	232,3	234,7
B	161,5	-0,5413	0,288	2,0	0,575	10,0	0,25	23,002		229,3	
B'	160,1	-0,5171	0,304	2,0	0,608	10,0	0,25	24,320	0,1003	242,5	235,9
C	161,2	-0,5361	0,291	2,0	0,582	10,0	0,25	23,278		231,9	
C'	161,2	-0,5361	0,291	2,0	0,582	10,0	0,25	23,278	0,1004	231,9	231,9
										média=	234,1
										dp=	2,1

Grupo 250+0,50

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	160,8	-0,5292	0,296	2,0	0,591	10,0	0,25	23,652		235,3	
A'	160,3	-0,5206	0,302	2,0	0,603	10,0	0,25	24,128	0,1005	240,1	237,7
B	159,7	-0,5102	0,309	2,0	0,618	10,0	0,25	24,711		244,7	
B'	160,0	-0,5154	0,305	2,0	0,610	10,0	0,25	24,418	0,1010	241,8	243,2
C	160,1	-0,5171	0,304	2,0	0,608	10,0	0,25	24,320		241,3	
C'	159,6	-0,5085	0,310	2,0	0,620	10,0	0,25	24,810	0,1008	246,1	243,7
										média=	241,5
										dp=	3,3

Grupo 1100

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	120,0	0,1765	1,501	2,0	3,003	10,0	0,25	120,102	0,1015	1183,3	
A'	120,0	0,1765	1,501	2,0	3,003	10,0	0,25	120,102		1183,3	1183,3
B	122,3	0,1367	1,370	2,0	2,740	10,0	0,25	109,590	0,1021	1073,4	
B'	121,9	0,1436	1,392	2,0	2,784	10,0	0,25	111,350		1090,6	1082,0
C	122,2	0,1384	1,375	2,0	2,751	10,0	0,25	110,027	0,1004	1095,9	
C'	122,0	0,1419	1,386	2,0	2,773	10,0	0,25	110,907		1104,7	1100,3
										média=	1121,8
										dp=	54,0

FI**Grupo placebo**

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	231,6	-1,7538	0,018	2,0	0,035	10,0	0,25	1,410	0,1005	14,0	
A'	234,0	-1,7953	0,016	2,0	0,032	10,0	0,25	1,282		12,8	13,4
B	233,5	-1,7867	0,016	2,0	0,033	10,0	0,25	1,307	0,1004	13,0	
B'	234,1	-1,7970	0,016	2,0	0,032	10,0	0,25	1,277		12,7	12,9
C	235,1	-1,8143	0,015	2,0	0,031	10,0	0,25	1,227	0,1005	12,2	
C'	235,6	-1,8230	0,015	2,0	0,030	10,0	0,25	1,203		12,0	12,1
										média=	12,8
										dp=	0,7

Grupo 250

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	158,2	-0,4843	0,328	2,0	0,656	10,0	0,25	26,232	0,1003	261,5	
A'	156,7	-0,4583	0,348	2,0	0,696	10,0	0,25	27,847		277,6	269,6
B	160,1	-0,5171	0,304	2,0	0,608	10,0	0,25	24,320	0,1006	241,8	
B'	160,5	-0,5240	0,299	2,0	0,598	10,0	0,25	23,936		237,9	239,8
C	160,5	-0,5240	0,299	2,0	0,598	10,0	0,25	23,936	0,1002	238,9	
C'	160,1	-0,5171	0,304	2,0	0,608	10,0	0,25	24,320		242,7	240,8
										média=	250,1
										dp=	16,9

Grupo 250+0,25

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	161,3	-0,5379	0,290	2,0	0,580	10,0	0,25	23,186	0,1006	230,5	
A'	160,5	-0,5240	0,299	2,0	0,598	10,0	0,25	23,936		237,9	234,2
B	160,7	-0,5275	0,297	2,0	0,594	10,0	0,25	23,746	0,1003	236,8	
B'	160,1	-0,5171	0,304	2,0	0,608	10,0	0,25	24,320		242,5	239,6
C	161,1	-0,5344	0,292	2,0	0,584	10,0	0,25	23,371	0,1004	232,8	
C'	160,7	-0,5275	0,297	2,0	0,594	10,0	0,25	23,746		236,5	234,6
										média=	236,2
										dp=	3,0

Grupo 250+0,50

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	160,9	-0,5310	0,294	2,0	0,589	10,0	0,25	23,558	0,1005	234,4	
A'	160,4	-0,5223	0,300	2,0	0,601	10,0	0,25	24,032		239,1	236,8
B	160,1	-0,5171	0,304	2,0	0,608	10,0	0,25	24,320	0,1010	240,8	
B'	160,1	-0,5171	0,304	2,0	0,608	10,0	0,25	24,320		240,8	240,8
C	160,6	-0,5258	0,298	2,0	0,596	10,0	0,25	23,841	0,1008	236,5	
C'	160,2	-0,5188	0,303	2,0	0,606	10,0	0,25	24,224		240,3	238,4
										média=	238,7
										dp=	2,0

Grupo 1100

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	120,1	0,1747	1,495	2,0	2,991	10,0	0,25	119,625	0,1015	1178,6	
A'	119,5	0,1851	1,531	2,0	3,063	10,0	0,25	122,518		1207,1	1192,8
B	121,6	0,1488	1,409	2,0	2,817	10,0	0,25	112,688	0,1021	1103,7	
B'	121,0	0,1592	1,443	2,0	2,885	10,0	0,25	115,413		1130,4	1117,0
C	121,8	0,1453	1,397	2,0	2,795	10,0	0,25	111,794	0,1004	1113,5	
C'	121,6	0,1488	1,409	2,0	2,817	10,0	0,25	112,688		1122,4	1117,9
										média=	1142,6
										dp=	43,5

Curva de calibração				
Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blank	251,7	246,4	246,2	248,10
0,125	185,6	185,7	185,3	185,53
0,250	168,8	169,5	169,3	169,20
0,500	151,4	151,2	151,5	151,37
1,000	133,5	133,3	133,9	133,57
2,000	115,8	115,7	115,6	115,70
Teste 1	151,8	151,2	151,7	151,57
Teste 2	151,2	151,5	151,3	151,33

TISAB II pH 5,2										
[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl 2N	mL NaOH N	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
1,00	0,125	0,125	0,250	0,5	0,1250	-0,9030900	185,53	-0,892613	0,1281	2,38
2,00	0,125	0,125	0,250	0,5	0,2500	-0,6020600	169,20	-0,612215	0,2442	-2,37
4,00	0,125	0,125	0,250	0,5	0,5000	-0,3010300	151,37	-0,306066	0,4942	-1,17
8,00	0,125	0,125	0,250	0,5	1,0000	0,0000000	133,57	-0,000489	0,9989	-0,11
16,00	0,125	0,125	0,250	0,5	2,0000	0,3010300	115,70	0,306233	2,0241	1,19

intercepção 2,292482733
 inclinação -0,017167244
 Rquad 0,99971
 Slope -58,3 Temp.: 25°C

[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl 2N	mL NaOH N	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,000	0,125	0,125	0,250	0,500	0,00	248,10	-1,96671043	0,011
Teste 1	4,000	0,125	0,125	0,250	0,500	0,50	151,57	-0,30949917	0,4903
Teste 2	4,000	0,125	0,125	0,250	0,500	0,50	151,33	-0,30549348	0,4949

FT

Grupo 250+1,0

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução		vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
				técnica	µg F na solução						
A	164,7	-0,5350	0,292	2,0	0,584	10,0	0,25	23,341	0,1004	232,5	244,6
A'	162,2	-0,4920	0,322	2,0	0,644	10,0	0,25	25,766	0,1007	256,6	
B	161,7	-0,4835	0,329	2,0	0,657	10,0	0,25	26,280	0,1007	261,0	263,6
B'	161,2	-0,4749	0,335	2,0	0,670	10,0	0,25	26,805	0,1003	266,2	
C	158,8	-0,4337	0,368	2,0	0,737	10,0	0,25	29,472	0,1003	293,8	278,4
C'	161,6	-0,4817	0,330	2,0	0,660	10,0	0,25	26,384	0,1003	263,1	
										média=	262,2
										dp=	17,0

Grupo 250+3,0

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução		vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
				técnica	µg F na solução						
A	163,7	-0,5178	0,304	2,0	0,607	10,0	0,25	24,283	0,1003	242,1	243,1
A'	163,5	-0,5144	0,306	2,0	0,612	10,0	0,25	24,475	0,1007	244,0	
B	163,2	-0,5092	0,310	2,0	0,619	10,0	0,25	24,767	0,1007	246,0	246,0
B'	163,2	-0,5092	0,310	2,0	0,619	10,0	0,25	24,767	0,1006	246,0	
C	164,0	-0,5229	0,300	2,0	0,600	10,0	0,25	23,996	0,1006	238,5	240,0
C'	163,7	-0,5178	0,304	2,0	0,607	10,0	0,25	24,283	0,1006	241,4	
										média=	243,0
										dp=	4,2

Grupo 500

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução		vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
				técnica	µg F na solução						
A	142,8	-0,1590	0,693	2,0	1,387	10,0	0,25	55,474	0,1033	537,0	538,1
A'	142,7	-0,1573	0,696	2,0	1,392	10,0	0,25	55,694	0,1031	539,1	
B	145,1	-0,1985	0,633	2,0	1,266	10,0	0,25	50,653	0,1031	491,3	492,3
B'	145,0	-0,1968	0,636	2,0	1,271	10,0	0,25	50,854	0,1041	493,2	
C	145,2	-0,2002	0,631	2,0	1,261	10,0	0,25	50,453	0,1041	484,7	482,8
C'	145,4	-0,2036	0,626	2,0	1,251	10,0	0,25	50,056	0,1041	480,8	
										média=	504,4
										dp=	29,6

FI

Grupo 250+1,0

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução		vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
				técnica	µg F na solução						
A	162,2	-0,4920	0,322	2,0	0,644	10,0	0,25	25,766	0,1004	256,6	258,7
A'	161,8	-0,4852	0,327	2,0	0,654	10,0	0,25	26,177	0,1007	260,7	
B	161,9	-0,4869	0,326	2,0	0,652	10,0	0,25	26,073	0,1007	258,9	260,5
B'	161,6	-0,4817	0,330	2,0	0,660	10,0	0,25	26,384	0,1003	262,0	
C	161,3	-0,4766	0,334	2,0	0,667	10,0	0,25	26,699	0,1003	266,2	266,7
C'	161,2	-0,4749	0,335	2,0	0,670	10,0	0,25	26,805	0,1003	267,2	
										média=	262,0
										dp=	4,2

Grupo 250+3,0

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	164,3	-0,5281	0,296	2,0	0,593	10,0	0,25	23,713		236,4	
A'	164,1	-0,5247	0,299	2,0	0,598	10,0	0,25	23,902	0,1003	238,3	237,4
B	164,0	-0,5229	0,300	2,0	0,600	10,0	0,25	23,996		238,3	
B'	164,0	-0,5229	0,300	2,0	0,600	10,0	0,25	23,996	0,1007	238,3	238,3
C	164,8	-0,5367	0,291	2,0	0,581	10,0	0,25	23,249		231,1	
C'	162,0	-0,4886	0,325	2,0	0,649	10,0	0,25	25,970	0,1006	258,2	244,6
										média=	240,1
										dp=	4,0

Grupo 500

	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL solução técnica	µg F na solução	vol. Total amostra (mL)	t.e. amostra	µg F na amostra	Peso (g)	µg F/g	média µg F/g
A	142,9	-0,1607	0,691	2,0	1,381	10,0	0,25	55,255		534,9	
A'	142,8	-0,1590	0,693	2,0	1,387	10,0	0,25	55,474	0,1033	537,0	536,0
B	145,0	-0,1968	0,636	2,0	1,271	10,0	0,25	50,854		493,2	
B'	144,5	-0,1882	0,648	2,0	1,297	10,0	0,25	51,869	0,1031	503,1	498,2
C	145,3	-0,2019	0,628	2,0	1,256	10,0	0,25	50,254		482,7	
C'	144,9	-0,1951	0,638	2,0	1,276	10,0	0,25	51,055	0,1041	490,4	486,6
										média=	506,9
										dp=	25,8

ANEXO L

DUREZA DE SUPERFÍCIE

Valores obtidos a partir da análise da dureza de superfície (Kg/mm²)

Grupo placebo

Bloco	Dureza inicial (SHi)						Dureza final (SHf)							
						média	dp						média	dp
1	356	375	380	375	370	371,2	9,2	30	33	36	36	46	36,2	6,0
2	382	385	370	361	377	375,0	9,7	23	23	25	27	25	24,6	1,7
3	352	356	352	361	356	355,4	3,7	32	41	38	32	29	34,4	4,9
4	375	390	380	377	370	378,4	7,4	56	62	62	49	44	54,6	8,0
5	368	370	370	373	370	370,2	1,8	29	27	32	29	30	29,4	1,8
6	377	385	385	373	370	378,0	6,9	88	77	62	66	84	75,4	11,2
7	373	380	385	390	382	382,0	6,3	75	65	62	37	40	55,8	16,5
8	365	361	356	370	356	361,6	6,0	93	102	91	74	85	89,0	10,4
9	339	356	356	354	356	352,2	7,4	29	44	36	36	33	35,6	5,5
10	375	368	352	368	373	367,2	9,0	38	43	37	41	38	39,4	2,5
11	335	347	352	347	365	349,2	10,8	62	61	32	31	29	43,0	16,9
12	373	373	375	361	365	369,4	6,1	31	33	54	74	40	46,4	17,9
						média=	367,5						média=	47,0
						dp=	10,7						dp=	19,1

Grupo 250

Bloco	Dureza inicial (SHi)						Dureza final (SHf)							
						média	dp						média	dp
1	380	382	390	380	385	383,4	4,2	173	185	176	200	162	179,2	14,2
2	347	347	361	365	356	355,2	8,1	123	124	145	148	143	136,6	12,1
3	347	361	361	361	361	358,2	6,3	157	136	154	164	161	154,4	11,0
4	365	356	375	356	356	361,6	8,4	174	187	185	179	179	180,8	5,2
5	361	361	356	361	361	360,0	2,2	95	119	133	133	133	122,6	16,6
6	361	375	375	370	361	368,4	7,1	184	174	191	187	174	182,0	7,7
7	356	361	374	368	356	363,0	7,9	151	156	161	151	156	155,0	4,2
8	361	370	370	385	365	370,2	9,1	189	176	185	187	187	184,8	5,1
9	365	361	375	380	375	371,2	7,9	170	174	158	164	177	168,6	7,7
10	385	370	370	375	361	372,2	8,8	171	168	164	161	168	166,4	3,9
11	380	380	380	395	385	384,0	6,5	193	182	195	196	196	192,4	5,9
12	354	356	347	361	343	352,2	7,2	153	158	161	152	168	158,4	6,5
						média=	366,6						média=	165,1
						dp=	10,2						dp=	20,8

Grupo 500

Bloco	Dureza inicial (SHi)						Dureza final (SHf)							
						média	dp						média	dp
1	375	370	375	385	385	378,0	6,7	189	194	192	184	168	185,4	10,4
2	361	375	365	365	361	365,4	5,7	165	196	202	208	185	191,2	16,9
3	377	385	375	377	377	378,2	3,9	187	191	177	196	192	188,6	7,2
4	375	361	370	375	370	370,2	5,7	215	177	229	202	238	212,2	24,0
5	370	370	373	361	370	368,8	4,5	227	206	199	200	206	207,6	11,3
6	380	370	361	361	356	365,6	9,5	185	204	222	220	216	209,4	15,3
7	356	343	343	352	343	347,4	6,2	160	162	176	188	173	171,8	11,4
8	380	365	380	370	375	374,0	6,5	198	220	204	214	218	210,8	9,4
9	370	365	375	370	365	369,0	4,2	185	194	196	200	210	197,0	9,1
10	361	368	365	347	361	360,4	8,0	200	202	206	177	176	192,2	14,5
11	380	370	365	368	368	370,2	5,8	167	174	176	171	154	168,4	8,7
12	370	385	370	365	375	373,0	7,6	187	185	189	176	174	182,2	6,8
						média=	368,4						média=	193,1
						dp=	8,4						dp=	14,9

Grupo 1100

Bloco	Dureza inicial (SH <i>i</i>)						Dureza final (SH <i>f</i>)						média	dp	
1	375	365	370	370	370	370,0	3,5	222	225	214	236	229	225,2	8,2	
2	365	375	370	370	365	369,0	4,2	208	220	191	185	179	196,6	17,0	
3	343	343	352	361	347	349,2	7,6	229	229	246	249	236	237,8	9,4	
4	385	380	385	380	390	384,0	4,2	210	202	200	218	210	208,0	7,2	
5	356	375	375	361	370	367,4	8,6	227	209	214	206	227	216,6	9,9	
6	370	370	380	380	377	375,4	5,1	268	263	271	268	266	267,2	2,9	
7	331	339	343	347	339	339,8	5,9	202	218	196	214	202	206,4	9,2	
8	365	380	370	380	380	375,0	7,1	239	249	260	249	254	250,2	7,7	
9	375	385	375	380	370	377,0	5,7	236	231	239	222	220	229,6	8,4	
10	370	370	370	361	380	370,2	6,7	246	227	229	246	249	239,4	10,5	
11	370	380	370	380	370	374,0	5,5	222	239	231	227	222	228,2	7,1	
12	361	365	365	352	370	362,6	6,7	244	227	236	246	244	239,4	7,9	
						média=	367,8							média=	228,7
						dp=	12,3							dp=	19,9

Grupo 250+0,25

Bloco	Dureza inicial (SH <i>i</i>)						Dureza final (SH <i>f</i>)						média	dp	
1	356	365	361	370	361	362,6	5,2	263	260	257	246	249	255,0	7,2	
2	347	343	365	365	352	354,4	10,2	252	266	234	249	244	249,0	11,7	
3	347	345	352	356	365	353,0	8,0	260	252	244	241	252	249,8	7,5	
4	361	361	356	352	356	357,2	3,8	241	254	239	249	229	242,4	9,6	
5	356	347	345	356	361	353,0	6,7	239	249	222	231	225	233,2	11,0	
6	375	380	385	395	385	384,0	7,4	216	231	244	234	214	227,8	12,7	
7	361	356	365	361	359	360,4	3,3	218	218	234	227	234	226,2	8,0	
8	370	380	370	380	375	375,0	5,0	246	244	227	214	231	232,4	13,1	
9	375	380	373	382	390	380,0	6,7	218	214	229	246	222	225,8	12,6	
10	365	380	375	365	361	369,2	7,9	187	185	204	208	191	195,0	10,4	
11	365	370	365	385	375	372,0	8,4	249	225	229	231	227	232,2	9,7	
12	385	365	375	370	385	376,0	8,9	212	239	229	231	227	227,6	9,8	
						média=	366,4							média=	233,0
						dp=	11,0							dp=	15,7

Grupo 250+0,50

Bloco	Dureza inicial (SH <i>i</i>)						Dureza final (SH <i>f</i>)						média	dp	
1	370	380	361	365	380	371,2	8,6	182	185	208	202	192	193,8	11,1	
2	361	365	365	385	370	369,2	9,4	198	225	208	182	200	202,6	15,7	
3	347	356	347	361	361	354,4	7,1	173	170	186	185	191	181,0	9,0	
4	365	370	361	363	363	364,4	3,4	222	235	235	228	236	231,2	6,1	
5	368	375	382	368	375	373,6	5,9	260	257	254	268	260	259,8	5,2	
6	377	365	365	361	368	367,2	6,0	246	257	254	249	227	246,6	11,8	
7	370	375	375	373	380	374,6	3,6	243	233	239	233	231	235,8	5,0	
8	361	354	363	361	359	359,6	3,4	240	246	239	231	239	239,0	5,3	
9	361	361	356	370	375	364,6	7,7	177	208	198	198	198	195,8	11,4	
10	390	390	380	387	390	387,4	4,3	229	220	229	225	239	228,4	7,0	
11	375	365	370	352	352	362,8	10,5	173	165	192	166	173	173,8	10,8	
12	377	365	375	361	361	367,8	7,7	238	229	227	244	218	231,2	10,1	
						média=	368,1							média=	218,3
						dp=	8,4							dp=	27,7

Grupo 250+1,0

Bloco	Dureza inicial (SH <i>i</i>)						Dureza final (SH <i>f</i>)							
						média	dp						média	dp
1	380	365	365	361	359	366,0	8,2	268	271	260	244	257	260,0	10,6
2	380	380	380	375	387	380,4	4,3	263	263	244	260	254	256,8	8,0
3	370	368	370	365	368	368,2	2,0	252	244	246	249	249	248,0	3,1
4	365	363	350	365	354	359,4	6,9	225	206	200	204	212	209,4	9,7
5	347	356	356	352	356	353,4	4,0	212	223	220	222	206	216,6	7,3
6	361	370	370	385	365	370,2	9,1	217	226	220	214	210	217,4	6,1
7	375	375	365	361	365	368,2	6,4	225	229	206	208	208	215,2	10,9
8	390	395	385	375	395	388,0	8,4	268	278	257	249	278	266,0	12,9
9	347	359	356	347	356	353,0	5,6	210	192	174	176	192	188,8	14,6
10	380	385	375	375	375	378,0	4,5	260	274	274	281	274	272,6	7,7
11	390	390	385	385	375	385,0	6,1	236	234	234	216	229	229,8	8,1
12	377	385	380	375	361	375,6	9,0	266	263	263	252	261	261,0	5,3
						média=	370,5						média=	236,8
						dp=	11,5						dp=	27,2

Grupo 250+3,0

Bloco	Dureza inicial (SH <i>i</i>)						Dureza final (SH <i>f</i>)							
						média	dp						média	dp
1	375	352	361	361	352	360,2	9,4	13	14	17	17	19	16,0	2,4
2	390	385	377	370	365	377,4	10,3	30	43	37	30	27	33,4	6,5
3	365	352	356	356	368	359,4	6,8	24	24	24	24	21	23,4	1,3
4	356	370	375	365	360	365,2	7,6	28	26	29	34	26	28,6	3,3
5	359	356	356	361	356	357,6	2,3	31	28	25	24	23	26,2	3,3
6	347	343	345	356	343	346,8	5,4	18	23	27	30	33	26,2	5,9
7	368	370	370	370	370	369,6	0,9	39	38	41	37	51	41,2	5,7
8	380	373	375	365	365	371,6	6,5	88	66	63	48	36	60,2	19,7
9	365	375	375	375	380	374,0	5,5	32	39	43	30	68	42,4	15,2
10	375	377	380	375	365	374,4	5,6	19	22	22	23	33	23,8	5,4
11	354	347	347	347	347	348,4	3,1	30	24	32	42	38	33,2	7,0
12	375	380	370	380	380	377,0	4,5	77	94	89	59	60	75,8	16,1
						média=	365,1						média=	35,9
						dp=	10,6						dp=	17,1

ANEXO M

DUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL

Grupo placebo																
Profundidade (µm)																
	5	10	15	20	25	30	40	50	70	90	110	130	220	330	ΔKHN	
1	116,6	37,0	18,1	17,8	15,9	23,7	74,5	240,5	210,1	301,1	332,5	334,3	336,9	339,4		
	área int=	384,0	137,8	89,8	84,3	99,0	245,5	787,4	1126,4	1278,0	1583,9	1666,9	1677,9	1690,6		
	ΔKHN=	1282,9	1529,1	1577,1	1582,6	1567,9	1421,4	879,5	540,5	388,9	83,0	0,0			10852,9	
2	172,8	56,7	33,0	20,7	24,7	35,2	131,6	158,8	293,3	301,7	339,4	334,3	339,4	344,6		
	área int=	573,8	224,3	134,3	113,5	149,8	417,0	726,0	1130,3	1487,5	1602,8	1684,3	1684,3	1710,0		
	ΔKHN=	1110,5	1460,0	1550,0	1570,8	1534,5	1267,3	958,3	554,0	196,8	81,5	0,0			10283,5	
3	116,8	23,4	23,1	18,8	18,8	23,1	57,0	270,0	334,3	339,4	301,7	334,3	329,3	334,3		
	área int=	350,5	116,3	104,8	94,0	104,8	200,3	817,5	1510,8	1684,3	1602,8	1590,0	1659,0	1659,0		
	ΔKHN=	1333,8	1568,0	1579,5	1590,3	1579,5	1484,0	866,8	173,5	0,0					10175,3	
4	165,5	57,0	45,1	62,3	135,4	178,5	195,3	262,8	329,3	334,3	355,3	355,3	355,3	349,9		
	área int=	556,3	255,3	268,5	494,3	784,8	934,5	1145,3	1480,3	1659,0	1724,0	1776,5	1776,5	1763,0		
	ΔKHN=	1220,3	1521,3	1508,0	1282,3	991,8	842,0	631,3	296,3	117,5	52,5	0,0			8463,0	
5	126,7	76,5	17,9	40,5	12,7	18,7	18,1	116,8	246,6	233,9	339,4	349,9	339,4	339,4		
	área int=	508,0	236,0	146,0	133,0	78,5	92,0	337,3	908,5	1201,3	1433,3	1723,3	1723,3	1697,0		
	ΔKHN=	1215,3	1487,3	1577,3	1590,3	1644,8	1631,3	1386,0	814,8	522,0	290,0	0,0			12158,8	
6	209,5	21,4	25,3	23,7	19,4	26,4	153,9	138,0	193,1	289,2	246,1	329,3	339,4	334,3		
	área int=	577,3	116,8	122,5	107,8	114,5	450,8	729,8	827,8	1205,8	1338,3	1438,5	1671,8	1684,3		
	ΔKHN=	1094,5	1555,0	1549,3	1564,0	1557,3	1221,0	942,0	844,0	466,0	333,5	233,3	0,0		11359,8	
7	174,7	29,5	20,6	13,2	21,6	34,7	73,8	202,2	306,0	315,0	319,7	297,4	339,4	344,6		
	área int=	510,5	125,3	84,5	87,0	140,8	271,3	690,0	1270,5	1552,5	1586,8	1542,8	1592,0	1710,0		
	ΔKHN=	1199,5	1584,8	1625,5	1623,0	1569,3	1438,8	1020,0	439,5	157,5	123,3	167,3	118,0	0,0	11066,3	
8	130,3	48,8	31,4	25,8	22,0	31,5	214,6	195,3	259,3	319,7	324,5	324,5	334,3	334,3		
	área int=	447,8	200,5	143,0	119,5	133,8	615,3	1024,8	1136,5	1447,5	1610,5	1622,5	1647,0	1671,5		
	ΔKHN=	1223,8	1471,0	1528,5	1552,0	1537,8	1056,3	646,8	535,0	224,0	61,0	49,0	24,5	0,0	9909,5	
9	140,7	43,0	24,1	27,0	31,0	44,0	30,4	180,5	281,2	266,3	306,0	324,5	349,9	334,3		
	área int=	459,3	167,8	127,8	145,0	187,5	186,0	527,3	1154,3	1368,8	1430,8	1576,3	1686,0	1710,5		
	ΔKHN=	1226,8	1518,3	1558,3	1541,0	1498,5	1500,0	1158,8	531,8	317,3	255,3	109,8	0,0		11215,5	
10	129,1	18,4	25,1	14,4	30,7	14,0	31,1	135,4	266,3	297,4	301,7	334,3	339,4	339,4		
	área int=	368,8	108,8	98,8	112,8	111,8	112,8	416,3	1004,3	1409,3	1497,8	1590,0	1684,3	1697,0		
	ΔKHN=	1315,5	1575,5	1585,5	1571,5	1572,5	1571,5	1268,0	680,0	275,0	186,5	94,3	0,0		11695,8	
11	162,1	40,3	43,7	28,4	30,0	32,3	113,7	150,8	255,9	319,7	339,4	344,6	344,6	334,3		
	área int=	506,0	210,0	180,3	146,0	155,8	365,0	661,3	1016,8	1439,0	1647,8	1710,0	1723,0	1697,3		
	ΔKHN=	1217,0	1513,0	1542,8	1577,0	1567,3	1358,0	1061,8	706,3	284,0	75,3	13,0	0,0		10915,3	
12	135,5	54,6	20,6	21,6	11,8	19,8	53,3	217,2	285,2	266,3	324,5	329,3	339,4	334,3		
	área int=	475,3	188,0	105,5	83,5	79,0	182,8	676,3	1256,0	1378,8	1477,0	1634,5	1671,8	1684,3		
	ΔKHN=	1196,5	1483,8	1566,3	1588,3	1592,8	1489,0	995,5	415,8	293,0	194,8	37,3	0,0		10852,8	
	média=	148,4	42,2	27,3	26,2	31,2	40,2	95,6	189,0	271,7	298,7	319,2	332,7	340,6	338,6	
	dp=	28,5	17,4	9,2	13,5	33,5	44,4	65,9	51,2	42,8	30,9	28,4	14,7	6,8	5,3	
																média=
																10745,7
																dp=
																958,2

Grupo 250															
Profundidade (µm)															
	5	10	15	20	25	30	40	50	70	90	110	130	220	330	ΔKHN
1	165,7	157,1	131,6	139,3	86,8	67,9	132,8	146,4	266,3	310,5	324,5	339,4	334,4	334,3	
área int=	807,0	721,8	677,3	565,3	386,8	501,8	698,0	1031,8	1442,0	1587,5	1659,8	1684,5	1671,8		
ΔKHN=	852,8	938,0	982,5	1094,5	1273,0	1158,0	961,8	628,0	217,8	72,3	0,0				8178,5
2	178,5	157,1	174,7	111,8	130,3	61,5	65,7	176,6	233,9	310,5	289,2	334,3	339,4	339,4	
área int=	839,0	829,5	716,3	605,3	479,5	318,0	605,8	1026,3	1361,0	1499,3	1558,8	1684,3	1697,0		
ΔKHN=	845,3	854,8	968,0	1079,0	1204,8	1366,3	1078,5	658,0	323,3	185,0	125,5	0,0			8688,3
3	95,4	48,3	30,0	42,0	30,8	45,9	20,3	289,2	306,0	319,7	285,2	334,3	334,3	339,4	
área int=	359,3	195,8	180,0	182,0	191,8	165,5	773,8	1488,0	1564,3	1512,3	1548,8	1671,5	1684,3		
ΔKHN=	1189,5	1353,0	1368,8	1366,8	1357,0	1383,3	775,0	60,8	-15,5	36,5	0,0	0,0			8875,0
4	214,6	174,7	152,4	129,1	126,7	98,5	103,5	190,9	262,8	301,7	285,2	339,4	334,3	344,6	
área int=	973,3	817,8	703,8	639,5	563,0	505,0	736,0	1134,3	1411,3	1467,3	1561,5	1684,3	1697,3		
ΔKHN=	711,0	866,5	980,5	1044,8	1121,3	1179,3	948,3	550,0	273,0	217,0	122,8	0,0			8014,3
5	147,8	103,5	111,8	41,8	54,6	58,8	18,9	209,5	297,4	319,7	277,4	324,5	334,3	339,4	
Int. Area=	628,3	538,3	384,0	241,0	283,5	194,3	571,0	1267,3	1542,8	1492,8	1504,8	1647,0	1684,3		
DeltaZ=	1018,8	1108,8	1263,0	1406,0	1363,5	1452,8	1076,0	379,8	104,3	154,3	142,3	0,0			9469,3
6	174,7	108,9	55,6	43,9	76,6	37,5	52,1	67,0	259,3	319,7	344,6	334,3	334,3	344,6	
área int=	709,0	411,3	248,8	301,3	285,3	224,0	297,8	815,8	1447,5	1660,8	1697,3	1671,5	1697,3		
ΔKHN=	951,8	1249,5	1412,0	1359,5	1375,5	1436,8	1363,0	845,0	213,3	0,0					10206,3
7	190,9	167,3	174,7	105,3	39,4	70,8	124,4	259,3	277,4	319,7	301,7	329,3	334,3	349,9	
área int=	895,5	855,0	700,0	361,8	275,5	488,0	959,3	1341,8	1492,8	1553,5	1577,5	1659,0	1710,5		
ΔKHN=	763,5	804,0	959,0	1297,3	1383,5	1171,0	699,8	317,3	166,3	105,5	81,5	0,0	0,0		7748,5
8	233,9	172,8	169,1	84,2	65,7	77,1	61,9	81,7	233,9	334,3	285,2	344,6	344,6	339,4	
área int=	1016,8	854,8	633,3	374,8	357,0	347,5	359,0	789,0	1420,5	1548,8	1574,5	1723,0	1710,0		
ΔKHN=	706,3	868,3	1089,8	1348,3	1366,0	1375,5	1364,0	934,0	302,5	174,3	148,5	0,0			9677,3
9	214,6	163,8	143,5	78,8	57,4	65,3	84,8	74,9	301,7	344,6	344,6	339,4	334,3	334,3	
área int=	946,0	768,3	555,8	340,5	306,8	375,3	399,3	941,5	1615,8	1723,0	1710,0	1684,3	1671,5		
ΔKHN=	777,0	954,8	1167,3	1382,5	1416,3	1347,8	1323,8	781,5	107,3	0,0					9258,0
10	243,0	204,6	129,1	82,9	79,9	71,8	91,7	233,9	334,3	324,5	334,3	334,3	334,3	334,3	
área int=	1119,0	834,3	530,0	407,0	379,3	408,8	814,0	1420,5	1647,0	1647,0	1671,5	1671,5	1671,5		
ΔKHN=	552,5	837,3	1141,5	1264,5	1292,3	1262,8	857,5	251,0	24,5	24,5	0,0				7508,3
11	180,5	184,5	152,4	84,8	69,4	45,9	51,8	129,1	241,6	306,0	329,3	339,4	334,3	334,3	
área int=	912,5	842,3	593,0	385,5	288,3	244,3	452,3	926,8	1369,0	1588,3	1671,8	1684,3	1671,5		
ΔKHN=	759,3	829,5	1078,8	1286,3	1383,5	1427,5	1219,5	745,0	302,8	83,5	0,0				9115,5
12	134,1	100,1	45,9	67,5	36,1	30,0	22,8	246,1	334,3	339,4	339,4	344,6	355,3	344,6	
área int=	585,5	365,0	283,5	259,0	165,3	132,0	672,3	1451,0	1684,3	1697,0	1710,0	1749,8	1749,8		
ΔKHN=	1098,8	1319,3	1400,8	1425,3	1519,0	1552,3	1012,0	233,3	0,0						9560,5
média=	181,1	145,2	122,6	84,3	71,1	60,9	69,2	175,4	279,1	320,9	311,7	336,5	337,3	339,9	
dp=	42,5	45,0	51,3	32,7	32,0	18,9	39,0	75,9	35,6	13,2	26,6	5,9	6,5	5,2	média=
															8858,3
															dp=
															844,1

Grupo 500															
Profundidade (µm)															
	5	10	15	20	25	30	40	50	70	90	110	130	220	330	ΔKHN
1	239,9	204,6	132,8	115,8	116,8	117,8	115,8	285,2	297,4	349,9	366,6	349,9	344,6	334,3	
área int=	1111,3	843,5	621,5	581,5	586,5	584,0	1002,5	1456,5	1618,3	1791,3	1791,3	1736,3	1697,3		
ΔKHN=	507,0	774,8	996,8	1036,8	1031,8	1034,3	615,8	161,8	0,0						6158,8
2	231,0	170,9	125,6	146,5	146,6	153,9	233,9	344,6	349,9	349,9	344,6	339,4	339,4	339,4	
área int=	1004,8	741,3	680,3	732,8	751,3	969,5	1446,3	1736,3	1749,5	1736,3	1710,0	1697,0	1697,0		
ΔKHN=	731,5	995,0	1056,0	1003,5	985,0	766,8	290,0	0,0							5827,8
3	236,9	202,2	118,9	73,3	90,9	101,8	65,7	123,3	360,9	315,0	366,6	339,4	339,4	334,3	
área int=	1097,8	802,8	480,5	410,5	481,8	418,8	472,5	1210,5	1689,8	1704,0	1765,0	1697,0	1684,3		
ΔKHN=	592,0	887,0	1209,3	1279,3	1208,0	1271,0	1217,3	479,3	0,0						8143,0
4	236,9	214,6	117,8	117,8	142,1	146,4	197,6	310,5	355,3	344,6	366,6	334,3	334,6	339,4	
área int=	1128,8	831,0	589,0	649,8	721,3	860,0	1270,3	1664,5	1749,8	1778,0	1752,3	1672,3	1685,0		
ΔKHN=	535,8	833,5	1075,5	1014,8	943,3	804,5	394,3	0,0							5601,5
5	228,1	204,6	182,5	125,6	129,1	167,3	344,6	344,6	360,9	366,6	360,9	349,9	334,3	334,3	
área int=	1081,8	967,8	770,3	636,8	741,0	1279,8	1723,0	1763,8	1818,8	1818,8	1777,0	1710,5	1671,5		
ΔKHN=	641,3	755,3	952,8	1086,3	982,0	443,3	0,0								4860,8
6	231,0	132,8	114,8	138,0	165,5	270,0	207,0	372,5	344,6	315,0	366,6	355,3	334,3	344,6	
área int=	909,5	619,0	632,0	758,8	1088,8	1192,5	1448,8	1792,8	1649,0	1704,0	1804,8	1724,0	1697,3		
ΔKHN=	883,3	1173,8	1160,8	1034,0	704,0	600,3	344,0	0,0							5900,0
7	233,9	231,0	204,6	172,8	102,7	102,7	93,9	152,4	315,0	315,0	366,6	339,4	339,4	344,6	
área int=	1162,3	1089,0	943,5	688,8	513,5	491,5	615,8	1168,5	1575,0	1704,0	1765,0	1697,0	1710,0		
ΔKHN=	541,8	615,0	760,5	1015,3	1190,5	1212,5	1088,3	535,5	129,0	0,0					7088,3
8	228,1	262,8	228,1	219,9	197,6	111,8	113,7	217,2	334,3	334,3	355,3	339,4	334,3	344,6	
área int=	1227,3	1227,3	1120,0	1043,8	773,5	563,8	827,3	1378,8	1671,5	1724,0	1736,8	1684,3	1697,3		
ΔKHN=	444,3	444,3	551,5	627,8	898,0	1107,8	844,3	292,8	0,0						5210,5
9	231,0	204,6	243,0	136,7	79,9	61,9	193,1	262,8	324,5	301,7	355,3	334,3	334,3	339,4	
área int=	1089,0	1119,0	949,3	541,5	354,5	637,5	1139,8	1468,3	1565,5	1642,5	1724,0	1671,5	1684,3		
ΔKHN=	553,5	523,5	693,3	1101,0	1288,0	1005,0	502,8	174,3	77,0	0,0					5918,3
10	252,6	199,9	150,8	155,5	104,4	89,5	108,0	249,3	334,3	324,5	360,9	334,3	334,3	344,6	
área int=	1131,3	876,8	765,8	649,8	484,8	493,8	893,3	1459,0	1647,0	1713,5	1738,0	1671,5	1697,3		
ΔKHN=	515,8	770,3	881,3	997,3	1162,3	1153,3	753,8	188,0	0,0						6421,8
11	246,1	202,2	184,5	138,0	104,4	65,7	117,8	259,3	324,5	344,6	349,9	339,4	334,3	324,5	
área int=	1120,8	966,8	806,3	606,0	425,3	458,8	942,8	1459,5	1672,8	1736,3	1723,3	1684,3	1647,0		
ΔKHN=	552,0	706,0	866,5	1066,8	1247,5	1214,0	730,0	213,3	0,0						6596,0
12	228,1	204,6	149,3	209,5	123,3	73,3	158,7	259,3	366,6	378,4	372,5	344,6	344,3	339,4	
área int=	1081,8	884,8	897,0	832,0	491,5	580,0	1045,0	1564,8	1862,5	1877,3	1792,8	1722,3	1709,3		
ΔKHN=	483,0	680,0	667,8	732,8	1073,3	984,8	519,8	0,0							5141,3
média=	235,3	202,9	162,7	145,8	125,3	121,8	162,5	265,1	339,0	336,6	361,0	341,6	337,3	338,6	
dp=	7,7	30,9	44,9	40,4	33,4	57,7	77,5	75,1	21,1	23,2	8,2	6,9	4,0	6,0	6072,3
															911,3

Grupo 1100															
Profundidade (μm)															
	5	10	15	20	25	30	40	50	70	90	110	130	220	330	ΔKHN
1	273,6	219,9	157,1	178,5	195,3	270,0	319,7	262,8	349,9	355,3	372,5	334,3	334,3	334,3	
área int=	1233,8	942,5	839,0	934,5	1163,3	1474,3	1456,3	1531,8	1763,0	1819,5	1767,0	1671,5	1671,5		
$\Delta\text{KHN=}$	529,3	820,5	924,0	828,5	599,8	288,8	306,8	231,3	0,0						4528,8
2	293,3	262,8	169,1	176,6	219,9	273,6	297,7	315,0	349,9	319,7	344,6	339,4	334,3	334,3	
área int=	1390,3	1079,8	864,3	991,3	1233,8	1428,3	1531,8	1662,3	1674,0	1660,8	1710,0	1684,3	1671,5		
$\Delta\text{KHN=}$	272,0	582,5	798,0	671,0	428,5	234,0	130,5	0,0							3116,5
3	219,9	285,2	249,3	243,0	222,6	178,5	329,3	306,0	344,6	334,3	349,9	344,6	355,3	344,6	
área int=	1262,8	1336,3	1230,8	1164,0	1002,8	1269,5	1588,3	1626,5	1697,3	1710,5	1736,3	1749,8	1749,8		
$\Delta\text{KHN=}$	363,8	290,3	395,8	462,5	623,8	357,0	38,3	0,0							2531,3
4	360,9	231,0	306,0	266,3	266,3	228,1	262,8	315,0	324,5	349,9	372,5	344,6	334,3	344,6	
área int=	1479,8	1342,5	1430,8	1331,5	1236,0	1227,3	1444,5	1598,8	1686,0	1806,0	1792,8	1697,3	1697,3		
$\Delta\text{KHN=}$	206,3	343,5	255,3	354,5	450,0	458,8	241,5	87,3	0,0						2397,0
5	289,2	246,1	199,9	195,3	169,1	155,5	310,5	329,9	378,4	355,3	384,6	349,9	360,9	324,5	
área int=	1338,3	1115,0	988,0	911,0	811,5	1165,0	1601,0	1770,8	1834,3	1849,8	1836,3	1777,0	1713,5		
$\Delta\text{KHN=}$	432,5	655,8	782,8	859,8	959,3	605,8	169,8	0,0							4465,5
6	252,6	186,6	207,0	228,1	126,6	140,7	266,3	378,4	306,0	349,9	366,6	355,3	329,3	334,3	
área int=	1098,0	984,0	1087,8	886,8	668,3	1017,5	1611,8	1711,0	1639,8	1791,3	1804,8	1711,5	1659,0		
$\Delta\text{KHN=}$	613,0	727,0	623,3	824,3	1042,8	693,5	99,3	0,0							4623,0
7	236,9	266,3	207,0	149,3	174,7	147,8	262,8	306,0	360,9	334,3	372,5	344,6	334,3	344,6	
área int=	1258,0	1183,3	890,8	810,0	806,3	1026,5	1422,0	1667,3	1738,0	1767,0	1792,8	1697,3	1697,3		
$\Delta\text{KHN=}$	409,3	484,0	776,5	857,3	861,0	640,8	245,3	0,0							4274,0
8	285,2	252,6	301,7	217,2	169,1	246,1	209,5	319,7	293,3	366,6	366,6	344,6	339,4	334,3	
área int=	1344,5	1385,8	1297,3	965,8	1038,0	1139,0	1323,0	1532,5	1649,8	1833,0	1778,0	1710,0	1684,3		
$\Delta\text{KHN=}$	305,3	264,0	352,5	684,0	611,8	510,8	326,8	117,3	0,0						3172,3
9	239,9	209,5	233,9	167,3	182,5	178,5	199,9	329,3	344,6	349,9	378,4	339,7	334,3	349,9	
área int=	1123,5	1108,5	1003,0	874,5	902,5	946,0	1323,0	1684,8	1736,3	1820,8	1795,3	1685,0	1710,5		
$\Delta\text{KHN=}$	561,3	576,3	681,8	810,3	782,3	738,8	361,8	0,0							4512,3
10	233,9	252,6	207,0	160,4	143,5	122,2	228,1	355,3	366,6	355,3	355,3	344,6	329,4	334,3	
área int=	1216,3	1149,0	918,5	759,8	664,3	875,8	1458,5	1804,8	1804,8	1776,5	1749,8	1685,0	1659,3		
$\Delta\text{KHN=}$	588,5	655,8	886,3	1045,0	1140,5	929,0	346,3	0,0							5591,3
11	249,3	170,9	249,3	174,7	233,9	188,7	170,9	339,4	360,9	349,9	378,4	344,6	355,3	339,4	
área int=	1050,5	1050,5	1060,0	1021,5	1056,5	899,0	1275,8	1750,8	1777,0	1820,8	1807,5	1749,8	1736,8		
$\Delta\text{KHN=}$	700,3	700,3	690,8	729,3	694,3	851,8	475,0	0,0							4841,5
12	190,9	285,2	176,6	126,7	125,6	140,7	270,0	297,4	349,9	360,9	366,6	329,3	339,4	339,4	
área int=	1190,3	1154,5	758,3	630,8	665,8	1026,8	1418,5	1618,3	1777,0	1818,8	1739,8	1671,8	1697,0		
$\Delta\text{KHN=}$	428,0	463,8	860,0	987,5	952,5	591,5	199,8	0,0							4483,0
média=	260,5	239,1	222,0	190,3	185,8	189,2	260,6	321,2	344,1	348,4	367,4	343,0	340,0	338,2	
dp=	43,8	36,5	47,9	41,0	43,7	52,8	50,1	29,3	24,8	13,0	12,0	6,8	10,9	6,9	média= 4044,7
															dp= 993,8

Grupo 250+0,25															
Profundidade (µm)															
	5	10	15	20	25	30	40	50	70	90	110	130	220	330	ΔKHN
1	268,2	251,4	207,0	259,3	170,9	172,8	255,9	281,2	334,3	344,6	372,5	334,3	344,6	344,6	
área int=	1298,8	1145,9	1165,8	1075,5	859,3	1071,8	1342,8	1538,8	1697,3	1792,8	1767,0	1697,3	1723,0		
ΔKHN=	398,5	551,4	531,5	621,8	838,0	625,5	354,5	158,5	0,0						4079,6
2	329,3	306,0	219,9	188,7	176,6	262,8	281,2	334,3	372,5	366,6	355,3	344,6	339,4	334,3	
área int=	1588,3	1314,8	1021,5	913,3	1098,5	1360,0	1538,8	1767,0	1847,8	1804,8	1749,8	1710,0	1684,3		
ΔKHN=	178,8	452,3	745,5	853,8	668,5	407,0	228,3	0,0							3534,0
3	252,6	259,3	188,7	180,5	202,2	155,5	212,0	324,5	334,3	355,3	372,5	339,4	339,4	334,3	
área int=	1279,8	1120,0	923,0	956,8	894,3	918,8	1341,3	1647,0	1724,0	1819,5	1779,8	1697,0	1684,3		
ΔKHN=	367,3	527,0	724,0	690,3	752,8	728,3	305,8	0,0							4095,3
4	233,9	310,5	202,2	209,5	123,3	132,8	209,5	432,0	390,8	360,9	329,3	390,8	344,6	334,3	
área int=	1361,0	1281,8	1029,3	832,0	640,3	855,8	1603,8	2057,0	1879,3	1725,5	1800,3	1838,5	1697,3		
ΔKHN=	242,8	322,0	574,5	771,8	963,5	748,0	0,0								3622,5
5	289,2	236,9	289,2	217,2	202,2	199,9	310,5	355,3	372,5	360,9	339,4	334,3	344,3	339,4	
área int=	1315,3	1315,3	1266,0	1048,5	1005,3	1276,0	1664,5	1819,5	1833,5	1750,8	1684,3	1696,5	1709,3		
ΔKHN=	349,3	349,3	398,5	616,0	659,3	388,5	0,0								2760,8
6	301,7	233,9	297,4	219,9	199,9	239,9	315,0	319,7	403,9	360,9	339,4	334,3	334,3	334,3	
área int=	1339,0	1328,3	1293,3	1049,5	1099,5	1387,3	1586,8	1809,0	1912,0	1750,8	1684,3	1671,5	1671,5		
ΔKHN=	470,0	480,8	515,8	759,5	709,5	421,8	222,3	0,0							3579,5
7	132,8	142,1	90,9	90,9	115,8	153,9	372,5	366,6	366,6	366,6	349,9	339,4	339,4	339,4	
área int=	687,3	582,5	454,5	516,8	674,3	1316,0	1847,8	1833,0	1833,0	1791,3	1723,3	1697,0	1697,0		
ΔKHN=	1009,8	1114,5	1242,5	1180,3	1022,8	381,0	-150,8	-136,0	-136,0	-94,3	-26,3	0,0			5407,5
8	293,3	273,6	186,6	104,4	222,6	163,8	222,6	360,9	390,8	378,4	344,6	349,9	334,3	344,6	
área int=	1417,3	1150,5	727,5	817,5	966,0	966,0	1458,8	1879,3	1923,0	1807,5	1736,3	1710,5	1697,3		
ΔKHN=	293,3	560,0	983,0	893,0	744,5	744,5	251,8	-168,8	-212,5	-97,0	-25,8	0,0			3966,0
9	273,6	217,2	186,6	127,9	197,6	182,5	152,4	262,8	390,8	372,5	372,5	349,9	334,3	349,9	
área int=	1227,0	1009,5	786,3	813,8	950,3	837,3	1038,0	1634,0	1908,3	1862,5	1806,0	1710,5	1710,5		
ΔKHN=	407,0	624,5	847,8	820,3	683,8	796,8	596,0	0,0							4776,0
10	310,5	334,3	222,6	202,2	174,7	178,5	212,0	339,4	378,4	372,5	390,8	344,6	349,9	339,4	
área int=	1612,0	1392,3	1062,0	942,3	883,0	976,3	1378,5	1794,5	1877,3	1908,3	1838,5	1736,3	1723,3		
ΔKHN=	182,5	402,3	732,5	852,3	911,5	818,3	416,0	0,0							4315,3
11	285,2	255,9	329,3	195,3	178,5	182,5	176,6	315,0	372,5	372,5	349,9	339,4	334,3	334,3	
área int=	1352,8	1463,0	1311,5	934,5	902,5	897,8	1229,0	1718,8	1862,5	1806,0	1723,3	1684,3	1671,5		
ΔKHN=	366,0	255,8	407,3	784,3	816,3	821,0	489,8	0,0							3940,3
12	285,2	262,8	214,6	195,3	202,2	185,0	231,0	344,6	390,8	390,8	355,3	372,5	339,4	339,4	
área int=	1370,0	1193,5	1024,8	993,8	968,0	1040,0	1439,0	1838,5	1954,0	1865,3	1819,5	1779,8	1697,0		
ΔKHN=	327,0	503,5	672,3	703,3	729,0	657,0	258,0	-141,5	-257,0	-168,3	-122,5	-82,8	0,0		3078,0
média=	271,3	257,0	219,6	182,6	180,5	184,2	245,9	336,4	374,9	366,9	356,0	347,8	339,9	339,0	
dp=	50,4	49,8	62,6	50,0	32,3	36,3	63,4	43,1	21,8	11,8	17,8	17,2	5,1	5,2	média= 3929,6 dp= 711,3

Grupo 250+0,50															
Profundidade (µm)															
	5	10	15	20	25	30	40	50	70	90	110	130	220	330	ΔKHN
1	246,1	249,3	197,6	197,6	281,2	324,5	297,4	334,3	355,3	349,9	334,3	334,3	334,3	339,4	
área int=	1238,5	1117,3	988,0	1197,0	1514,3	1554,8	1579,3	1724,0	1763,0	1710,5	1671,5	1671,5	1684,3		
ΔKHN=	485,5	606,8	736,0	527,0	209,8	169,3	144,8	0,0							2879,0
2	285,6	252,6	197,6	143,5	98,5	105,4	130,3	270,0	366,6	372,5	344,6	339,4	339,4	334,3	
área int=	1345,5	1125,5	852,8	605,0	509,8	589,3	1000,8	1591,5	1847,8	1792,8	1710,0	1697,0	1684,3		
ΔKHN=	246,0	466,0	738,8	986,5	1081,8	1002,3	590,8	0,0							5112,0
3	289,2	277,4	114,8	113,7	118,9	135,4	195,3	366,6	360,9	378,4	360,9	339,4	334,3	339,4	
área int=	1416,5	980,5	571,3	581,5	635,8	826,8	1404,8	1818,8	1848,3	1848,3	1750,8	1684,3	1684,3		
ΔKHN=	267,8	703,8	1113,0	1102,8	1048,5	857,5	279,5	-134,5	-164,0	-164,0	-66,5	0,0			4843,8
4	271,9	262,8	297,4	143,5	146,8	131,6	124,6	217,7	349,9	355,3	355,3	334,3	334,3	334,3	
área int=	1336,6	1400,5	1102,3	725,8	696,0	640,5	855,8	1419,0	1763,0	1776,5	1724,0	1671,5	1671,5		
ΔKHN=	334,9	271,0	569,3	945,8	975,5	1031,0	815,8	252,5	-91,5	-105,0	-52,5	0,0			4946,6
5	273,6	281,2	277,4	236,9	219,9	172,8	217,2	200,0	360,9	366,6	349,9	344,6	344,6	344,6	
área int=	1387,0	1396,5	1285,8	1142,0	981,8	975,0	1043,0	1402,3	1818,8	1791,3	1736,3	1723,0	1723,0		
ΔKHN=	336,0	326,5	437,3	581,0	741,3	748,0	680,0	320,8	-95,8	-68,3	-13,3	0,0			3993,5
6	319,7	222,6	222,6	252,6	259,3	252,6	355,3	397,3	366,6	384,6	355,3	378,4	334,3	339,4	
área int=	1355,8	1113,0	1188,0	1279,8	1279,8	1519,8	1881,5	1909,8	1878,0	1849,8	1834,3	1781,8	1684,3		
ΔKHN=	426,0	668,8	593,8	502,0	502,0	262,0	-99,8	-128,0	-96,3	-68,0	-52,5	0,0			2510,0
7	255,9	193,1	195,3	40,1	61,1	55,6	152,4	355,3	349,9	349,9	310,5	334,3	339,4	344,6	
área int=	1122,5	971,0	588,5	253,0	291,8	520,0	1269,3	1763,0	1749,5	1651,0	1612,0	1684,3	1710,0		
ΔKHN=	528,5	680,0	1062,5	1398,0	1359,3	1131,0	381,8	-112,0	-98,5	0,0					6330,5
8	236,9	243,0	344,6	334,3	273,6	324,5	319,7	334,3	403,9	378,4	355,3	339,4	349,9	344,6	
área int=	1199,8	1469,0	1697,3	1519,8	1495,3	1610,5	1635,0	1845,5	1955,8	1834,3	1736,8	1723,3	1736,3		
ΔKHN=	645,8	376,5	148,3	325,8	350,3	235,0	210,5	0,0							2292,0
9	246,1	217,2	199,9	193,1	228,1	143,5	193,1	310,5	329,3	319,7	334,3	334,3	339,4	334,3	
área int=	1158,3	1042,8	982,5	1053,0	929,0	841,5	1259,0	1599,5	1622,5	1635,0	1671,5	1684,3	1684,3		
ΔKHN=	464,3	579,8	640,0	569,5	693,5	781,0	363,5	23,0	0,0						4114,5
10	339,4	310,5	262,8	262,8	138,0	118,9	270,0	334,3	355,3	355,3	378,4	334,3	334,3	334,3	
área int=	1624,8	1433,3	1314,0	1002,0	642,3	972,3	1510,8	1724,0	1776,5	1834,3	1781,8	1671,5	1671,5		
ΔKHN=	99,3	290,8	410,0	722,0	1081,8	751,8	213,3	0,0							3568,8
11	246,1	277,4	228,1	110,2	73,8	132,8	73,3	372,5	344,6	334,3	339,4	355,3	334,3	339,4	
área int=	1308,8	1263,8	845,8	460,0	516,5	515,3	1114,5	1792,8	1697,3	1684,3	1736,8	1724,0	1684,3		
ΔKHN=	375,5	420,5	838,5	1224,3	1167,8	1169,0	569,8	-108,5	-13,0	0,0					5643,8
12	267,0	249,0	222,0	193,0	172,0	172,8	213,0	320,0	360,0	355,0	349,0	344,0	339,0	339,0	
área int=	1290,0	1177,5	1037,5	912,5	862,0	964,5	1332,5	1700,0	1787,5	1760,0	1732,5	1707,5	1695,0		
ΔKHN=	410,0	522,5	662,5	787,5	838,0	735,5	367,5	0,0							4323,5
média=	273,1	253,0	230,0	185,1	172,6	172,5	211,8	317,7	358,6	358,3	347,3	342,7	338,1	339,0	
dp=	31,4	32,1	59,2	80,3	78,2	84,8	85,6	60,4	17,6	19,1	16,8	12,9	5,0	4,1	4,1
															4213,2
															1247,9

Grupo 250+1,0															
Profundidade (µm)															
	5	10	15	20	25	30	40	50	70	90	110	130	220	330	ΔKHN
1	186,6	202,2	190,9	140,7	143,6	110,8	135,4	246,1	384,6	378,4	372,5	334,3	334,3	339,4	
área int=	972,0	982,8	829,0	710,8	636,0	615,5	953,8	1576,8	1907,5	1877,3	1767,0	1671,5	1684,3		
ΔKHN=	699,5	688,8	842,5	960,8	1035,5	1056,0	717,8	94,8	-236,0	-205,8	-95,5	0,0			5558,3
2	225,3	261,1	220,7	201,7	174,7	195,3	266,4	324,5	344,6	344,9	355,3	355,3	355,3	339,4	
área int=	1216,0	1204,4	1055,8	940,9	925,0	1154,1	1477,1	1672,8	1723,8	1750,5	1776,5	1776,5	1736,8		
ΔKHN=	456,8	468,4	617,0	731,9	747,8	518,6	195,6	0,0							3736,0
3	262,8	174,7	228,1	273,6	266,3	259,3	324,5	270,0	360,9	366,6	360,9	344,6	344,6	344,6	
área int=	1093,8	1007,0	1254,3	1349,8	1314,0	1459,5	1486,3	1577,3	1818,8	1818,8	1763,8	1723,0	1723,0		
ΔKHN=	629,3	716,0	468,8	373,3	409,0	263,5	236,8	145,8	-95,8	-95,8	-40,8	0,0			3010,0
4	270,0	180,5	140,7	207,0	169,1	197,6	301,7	366,6	372,5	349,9	339,4	339,4	334,3	334,6	
área int=	1126,3	803,0	869,3	940,3	916,8	1248,3	1670,8	1847,8	1806,0	1723,3	1697,0	1684,3	1672,3		
ΔKHN=	544,5	867,8	801,5	730,5	754,0	422,5	0,0								4120,8
5	285,2	339,4	329,3	289,2	273,6	222,2	277,4	324,5	277,4	355,3	349,9	344,6	344,6	339,4	
área int=	1561,5	1671,8	1546,3	1407,0	1239,5	1249,0	1504,8	1504,8	1581,8	1763,0	1736,3	1723,0	1710,0		
ΔKHN=	201,5	91,3	216,8	356,0	523,5	514,0	258,3	258,3	181,3	0,0					2600,8
6	297,4	277,4	252,6	188,7	184,5	155,5	219,9	355,3	349,9	366,6	366,6	339,4	344,2	334,3	
área int=	1437,0	1325,0	1103,3	933,0	850,0	938,5	1438,0	1763,0	1791,3	1833,0	1765,0	1709,0	1696,3		
ΔKHN=	326,0	438,0	659,8	830,0	913,0	824,5	325,0	0,0							4316,3
7	239,9	306,0	146,4	117,8	114,8	162,1	334,3	285,2	355,3	384,6	355,3	349,9	334,3	339,4	
área int=	1364,8	1131,0	660,5	581,5	692,3	1241,0	1548,8	1601,3	1849,8	1849,8	1763,0	1710,5	1684,3		
ΔKHN=	236,5	470,3	940,8	1019,8	909,0	360,3	52,5	0,0							3989,0
8	252,6	197,6	270,0	231,0	193,1	202,2	319,7	243,5	239,9	378,6	349,9	349,9	339,4	334,3	
área int=	1125,5	1169,0	1252,5	1060,3	988,3	1304,8	1408,0	1208,5	1546,3	1821,3	1749,5	1723,3	1684,3		
ΔKHN=	597,8	554,3	470,8	663,0	735,0	418,5	315,3	514,8	177,0	-98,0	-26,3	0,0			4322,0
9	329,3	319,7	281,2	233,9	252,6	170,9	239,9	195,3	293,3	360,9	355,3	349,9	339,4	339,4	
área int=	1622,5	1502,3	1287,8	1216,3	1058,8	1027,0	1088,0	1221,5	1635,5	1790,5	1763,0	1723,3	1697,0		
ΔKHN=	168,0	288,3	502,8	574,3	731,8	763,5	702,5	569,0	155,0	0,0					4455,0
10	259,3	266,3	222,6	219,9	143,5	138,0	233,9	219,9	334,3	384,6	360,9	355,3	334,3	339,4	
área int=	1314,0	1222,3	1106,3	908,5	703,8	929,8	1134,5	1385,5	1797,3	1863,8	1790,5	1724,0	1684,3		
ΔKHN=	410,0	501,8	617,8	815,5	1020,3	794,3	589,5	338,5	-73,3	-139,8	-66,5	0,0			4808,0
11	195,3	193,1	207,0	225,3	131,6	140,7	319,7	301,7	222,6	344,6	355,3	344,6	334,3	339,4	
área int=	971,0	1000,3	1080,8	892,3	680,8	1151,0	1553,5	1310,8	1418,0	1749,8	1749,8	1697,3	1684,3		
ΔKHN=	726,3	697,0	616,5	805,0	1016,5	546,3	143,8	386,5	279,3	-52,5	-52,5	0,0			5112,0
12	217,2	252,6	219,9	79,9	104,4	140,7	355,3	281,2	281,2	339,4	306,0	339,4	334,3	334,3	
área int=	1174,5	1181,3	749,5	460,8	612,8	1240,0	1591,3	1406,0	1551,5	1613,5	1613,5	1684,3	1671,5		
ΔKHN=	439,0	432,3	864,0	1152,8	1000,8	373,5	22,3	207,5	62,0	0,0					4554,0
média=	251,7	247,6	225,8	200,7	179,3	174,6	277,3	284,5	318,0	362,9	352,3	345,6	339,4	338,2	
dp=	41,8	57,1	53,6	61,3	57,8	42,0	62,2	52,9	53,5	16,2	16,8	6,7	6,6	3,2	4215,2
															825,8

Grupo 250+3,0															
Profundidade (µm)															
	5	10	15	20	25	30	40	50	70	90	110	130	220	330	ΔKHN
1	51,5	25,7	42,0	109,9	152,4	180,5	270,0	273,6	270,0	277,4	334,3	344,6	334,3	334,3	
área int=	193,0	169,3	379,8	655,8	832,3	1126,3	1359,0	1359,0	1368,5	1529,3	1697,3	1697,3	1671,5		
ΔKHN=	1504,3	1528,0	1317,5	1041,5	865,0	571,0	338,3	338,3	328,8	168,0	0,0				8000,5
2	118,9	92,4	90,2	85,5	48,3	47,7	105,3	339,4	315,0	293,3	324,5	329,3	334,3	349,9	
área int=	528,3	456,5	439,3	334,5	240,0	382,5	1111,8	1636,0	1520,8	1544,5	1634,5	1659,0	1710,5		
ΔKHN=	1130,8	1202,5	1219,8	1324,5	1419,0	1276,5	547,3	23,0	138,3	114,5	24,5	0,0			8420,5
3	26,4	34,3	25,2	62,3	79,3	152,4	182,5	153,9	193,1	266,3	319,7	334,3	339,4	339,4	
área int=	151,8	148,8	218,8	354,0	579,3	837,3	841,0	867,5	1148,5	1465,0	1635,0	1684,3	1697,0		
ΔKHN=	1532,5	1535,5	1465,5	1330,3	1105,0	847,0	843,3	816,8	535,8	219,3	49,3	0,0			10280,0
4	42,0	44,4	135,4	167,3	162,1	174,7	233,9	285,2	255,9	289,2	329,3	339,4	344,6	339,4	
área int=	216,0	449,5	756,8	823,5	842,0	1021,5	1297,8	1352,8	1362,8	1546,3	1671,8	1710,0	1710,0		
ΔKHN=	1455,8	1222,3	915,0	848,3	829,8	650,3	374,0	319,0	309,0	125,5	0,0				7048,8
5	152,4	243,0	144,9	130,3	152,4	270,0	231,0	273,6	293,3	306,0	315,0	334,2	339,4	334,3	
área int=	988,5	969,8	688,0	706,8	1056,0	1252,5	1261,5	1417,3	1498,3	1552,5	1623,0	1684,0	1684,3		
ΔKHN=	695,5	714,3	996,0	977,3	628,0	431,5	422,5	266,8	185,8	131,5	61,0	0,0			5510,0
6	50,9	68,9	67,5	107,1	104,4	96,1	108,1	233,9	199,9	262,8	310,5	339,4	339,4	334,3	
área int=	299,5	341,0	436,5	528,8	501,3	510,5	855,0	1084,5	1156,8	1433,3	1624,8	1697,0	1684,3		
ΔKHN=	1397,5	1356,0	1260,5	1168,3	1195,8	1186,5	842,0	612,5	540,3	263,8	72,3	0,0			9895,3
7	157,1	126,7	77,1	53,0	69,8	76,5	90,9	306,0	289,2	277,4	319,7	339,4	334,3	334,3	
área int=	709,5	509,5	325,3	307,0	365,8	418,5	992,3	1488,0	1416,5	1492,8	1647,8	1684,3	1671,5		
ΔKHN=	974,8	1174,8	1359,0	1377,3	1318,5	1265,8	692,0	196,3	267,8	191,5	36,5	0,0			8854,0
8	63,0	69,0	89,0	108,0	130,0	130,0	205,0	270,0	275,0	290,0	320,0	337,0	338,0	339,0	
área int=	330,0	395,0	492,5	595,0	650,0	837,5	1187,5	1362,5	1412,5	1525,0	1642,5	1687,5	1692,5		
ΔKHN=	1357,5	1292,5	1195,0	1092,5	1037,5	850,0	500,0	325,0	275,0	162,5	45,0	0,0			8132,5
9	69,4	41,8	86,1	105,3	126,7	116,8	98,5	142,1	246,1	297,4	266,3	329,3	334,3	344,6	
área int=	278,0	319,8	478,5	580,0	608,8	538,3	601,5	970,5	1358,8	1409,3	1489,0	1659,0	1697,3		
ΔKHN=	1419,3	1377,5	1218,8	1117,3	1088,5	1159,0	1095,8	726,8	338,5	288,0	208,3	38,3	0,0		10075,8
10	21,7	21,8	65,3	134,1	167,3	204,6	231,0	277,4	310,5	306,0	324,5	344,6	339,4	334,3	
área int=	108,8	217,8	498,5	753,5	929,8	1089,0	1271,0	1469,8	1541,3	1576,3	1672,8	1710,0	1684,3		
ΔKHN=	1564,0	1455,0	1174,3	919,3	743,0	583,8	401,8	203,0	131,5	96,5	0,0				7272,0
11	35,5	38,1	78,2	131,6	199,9	228,1	285,2	270,0	285,2	266,3	334,3	306,0	339,4	339,4	
área int=	184,0	290,8	524,5	828,8	1070,0	1283,3	1388,0	1388,0	1378,8	1501,5	1600,8	1613,5	1697,0		
ΔKHN=	1513,0	1406,3	1172,5	868,3	627,0	413,8	309,0	309,0	318,3	195,5	96,3	83,5	0,0		7312,3
12	16,3	17,5	41,2	93,9	155,5	188,7	289,2	349,9	266,3	293,3	334,3	360,9	349,9	334,3	
área int=	84,5	146,8	337,8	623,5	860,5	1194,8	1597,8	1540,5	1399,0	1569,0	1738,0	1777,0	1710,5		
ΔKHN=	1653,5	1591,3	1400,3	1114,5	877,5	543,3	140,3	197,5	339,0	169,0	0,0				8026,0
média=	67,1	68,6	78,5	107,4	129,0	155,5	194,2	264,6	266,6	285,5	319,4	336,5	338,9	338,1	
dp=	49,1	63,5	35,4	31,7	45,2	65,0	75,5	63,0	38,5	15,1	18,4	12,8	4,7	5,0	média= 8235,6
															dp= 1396,9

ANEXO N

VALORES MÉDIOS DO CONTEÚDO DE F, Ca E P NO ESMALTE

F no esmalte

	Placebo	250	500	1100	250+0,25	250+0,50	250+1,0	250+3,0
1	0,96	1,49	2,99	4,81	2,79	3,62	1,81	1,91
2	1,70	2,12	4,46	4,91	2,71	2,69	3,06	2,43
3	1,33	2,95	2,60	5,88	3,93	3,20	3,66	2,60
4	1,50	1,98	4,94	3,37	2,16	2,77	3,04	1,65
5	1,69	2,75	4,33	3,68	3,40	4,71	4,25	2,44
6	1,26	2,99	2,98	5,85	2,86	2,15	2,98	2,37
7	1,98	2,67	2,35	2,92	2,33	2,04	3,17	1,88
8	1,95	3,15	1,95	4,96	2,88	1,91	2,33	2,32
9	1,58	2,06	3,51	6,91	2,19	2,80	3,86	2,51
10	1,63	2,37	2,03	5,18	2,48	1,86	3,71	1,83
11	1,54	2,98	2,13	3,33	2,72	2,48	1,60	2,60
12	1,39	1,94	4,80	5,35	4,01	3,73	2,57	2,60
média=	1,54	2,46	3,26	4,76	2,9	2,8	3,0	2,3
dp=	0,29	0,53	1,12	1,21	0,6	0,9	0,8	0,3

Ca no esmalte

	Placebo	250	500	1100	250+0,25	250+0,50	250+1,0	250+3,0
1	610,07	917,63	1663,22	1426,90	1754,98	1066,23	944,36	925,72
2	863,30	724,21	1482,50	1366,34	955,35	1169,11	1164,45	1023,75
3	791,33	914,31	869,22	1244,74	1078,14	1125,24	1205,47	891,48
4	881,78	724,53	1055,11	1147,40	894,63	928,43	974,73	589,57
5	1061,63	1004,72	1053,94	1071,29	867,60	1398,77	1699,48	753,72
6	753,78	912,57	983,74	1182,73	1179,00	909,74	825,28	1038,06
7	898,89	862,19	891,44	1103,20	1688,76	1077,23	897,87	681,53
8	1010,79	1034,38	645,89	1324,75	1233,73	909,65	836,99	914,08
9	952,88	1042,27	1050,31	1327,38	969,61	1128,08	1237,68	996,59
10	823,93	1167,50	765,57	1019,66	999,21	964,65	1053,68	837,69
11	971,89	987,05	836,73	926,62	1042,30	1125,27	1032,17	1073,20
12	822,95	872,18	1055,12	1211,68	1489,27	880,49	1177,80	862,09
média=	870,3	930,3	1029,4	1196,1	1179,4	1056,9	1087,5	882,3
dp=	123,0	128,6	287,6	150,5	305,1	148,9	239,3	148,2

P no esmalte

	Placebo	250	500	1100	250+0,25	250+0,50	250+1,0	250+3,0
1	122,3	206,9	331,5	386,3	342,8	210,7	208,1	193,1
2	273,2	160,8	326,3	382,7	201,7	283,1	246,8	241,9
3	174,5	379,6	163,8	391,4	233,8	207,7	247,7	198,9
4	215,2	165,1	232,7	167,1	167,0	164,1	185,3	102,5
5	249,8	397,0	392,6	215,1	175,8	302,9	219,4	290,8
6	145,3	179,6	98,3	309,5	220,0	207,1	183,1	243,9
7	231,1	149,8	255,2	130,4	269,7	151,4	181,8	131,9
8	252,9	318,4	148,0	282,6	177,5	184,2	182,7	235,9
9	200,8	179,8	270,2	347,6	231,2	186,5	342,4	240,9
10	217,6	175,1	158,3	322,6	211,8	276,1	281,3	140,0
11	207,0	168,9	172,3	161,1	167,3	228,5	115,2	298,3
12	177,6	164,3	408,1	128,6	251,7	227,5	246,4	176,1
média=	205,6	220,4	246,4	268,7	220,9	219,1	220,0	207,8
dp=	44,7	90,0	101,6	102,9	51,0	47,4	58,4	61,9