

SANDRA REGINA MENDES TORRES

***CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DO ESMALTE DE DENTES DECÍDUOS E  
PERMANENTES POR ESPECTROSCOPIA RAMAN***

Brasília  
2008

SANDRA REGINA MENDES TORRES

***CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DO ESMALTE DE DENTES DECÍDUOS E  
PERMANENTES POR ESPECTROSCOPIA RAMAN***

Dissertação apresentada ao final do curso,  
como parte dos requisitos para obtenção do  
título de Mestre em Ciências da Saúde, pela  
Faculdade de Ciências da Saúde da  
Universidade de Brasília.

Área de Concentração:  
Odontologia

Orientadora:  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Cristina Barreto Bezerra

Brasília  
2008

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Torres, Sandra Regina Mendes.

Caracterização comparativa do esmalte de dentes decíduos e permanentes por Espectroscopia Raman / Sandra Regina Mendes Torres. Brasília: S. R. M. Torres, 2008.

51 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília. Faculdade de Ciências da Saúde. Departamento de Odontologia, 2008.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Barreto Bezerra

1. Espectroscopia Raman. 2. Esmalte Humano. 3. Carbonato. 4. Matéria Orgânica. I. Título.

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

SANDRA REGINA MENDES TORRES

### CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DO ESMALTE DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES POR ESPECTROSCOPIA RAMAN

Dissertação apresentada ao final do curso, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, pela Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

*Aos pequenos e queridos pacientes...*

*Dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço imensamente,*

*A Deus, por estar sempre presente,*

*Aos meus pais, Torres e Aretusa, aos meus irmãos Márcia, Karina e Júnior pelo amor incondicional e apoio de toda a minha vida,*

*Ao Cláucio, a quem tenho imenso amor, agradeço pela dedicação, incentivo e amor, no decorrer de nossa vida juntos,*

*Ao Sr<sup>o</sup> Luís, Bibi e Lélia, minha segunda família, por me aceitarem em suas vidas,*

*Em especial ao Fillipe, que foi muito além do seu objetivo inicial, tornando-se uma presença de valor inestimável, sem a qual seria impossível a realização deste trabalho,*

*À Dr<sup>a</sup> Ana Cristina, por acreditar, dedicar e se empenhar na orientação deste trabalho. Agradeço pela oportunidade de trabalhar ao seu lado,*

*À Dr<sup>a</sup> Soraya, pela sugestão, orientação e motivação na realização deste trabalho,*

*Ao Dr<sup>o</sup> Jorge, pela colaboração e por estar sempre disponível para ajudar mesmo com todas as suas tarefas diárias,*

*Às amigas Aline e Adriana, que souberam ajudar-me tanto na elaboração deste trabalho, quanto acalmar-me nas horas mais difíceis,*

*Ao Laboratório de Catálise, representado pela pessoa do Pesquisador José Alves Dias, pela oportunidade de utilizar os equipamentos necessários para execução do experimento,*

*A todos que colaboraram direta ou indiretamente, na minha vida profissional e pessoal.*

*E principalmente aos pacientes que gentilmente doaram os dentes utilizados neste experimento.*

*“...Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou...  
tempo de chorar, e tempo de rir, e tempo de dançar;  
tempo de espalhar pedras, e tempo de ajuntar pedras; tempo de abraçar, e tempo de abster-se de abraçar;  
tempo de buscar, e tempo de perder; tempo de guardar,  
tempo de estar calado, e tempo de falar;  
tempo de amar, e tempo de odiar; tempo de guerra, e tempo de paz...  
Eu disse no meu coração: Deus julgará o justo e o ímpio;  
porque há um tempo para todo propósito e para toda obra.  
Pelo que tenho visto que não há coisa melhor do que alegrar-se o homem nas suas obras;  
porque esse é o seu quinhão...”*

*(Eclesiastes 1:3)*

## RESUMO

O propósito deste estudo foi caracterizar o esmalte de dentes decíduos e permanentes, criando parâmetros de comparação para estudos futuros. A Espectroscopia Raman identifica ligações características de matérias orgânicas e inorgânicas através da mudança polarizabilidade associada aos diferentes modos vibracionais das moléculas. Foram usados terceiros molares permanentes (15) e segundos molares decíduos (15). As amostras foram armazenadas em água sob refrigeração. Os espectros Raman foram obtidos em temperatura ambiente (25°C) e as amostras analisadas usando a Espectroscopia Raman com Transformada de Fourier. Os espectros Raman do esmalte de dentes decíduos e permanentes mostraram nove faixas distintas no intervalo 200  $\text{cm}^{-1}$  a 3000  $\text{cm}^{-1}$ . Resultados mostraram uma forte vibração 960  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde ao  $\text{PO}_4^{-3}$ . É também evidente o fosfato  $\nu_3$  no intervalo 1028-1075, fosfato  $\nu_4$  em 591  $\text{cm}^{-1}$  e o fosfato  $\nu_2$  em 430  $\text{cm}^{-1}$ . A banda em 1070  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuída ao carbonato tipo B. As faixas em 1245  $\text{cm}^{-1}$ , 1451  $\text{cm}^{-1}$ , 1667  $\text{cm}^{-1}$  e em 2940  $\text{cm}^{-1}$  identificaram a amida III,  $\text{CH}_2$ , amida I, e  $\text{CH}_2$ . O  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$ , amida I e amida III identificam as ligações que caracterizam a matéria orgânica, enquanto os grupos fosfato e carbonato identificam as ligações que caracterizam a matéria inorgânica. Os resultados foram analisados pelo teste de  $t$  de Student, com  $p \leq 0,006$ . Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores das faixas espectrais do fosfato para o esmalte entre os dentes decíduos e permanentes. O esmalte dos dentes decíduos apresentou conteúdo significativamente maior de carbonato do que o esmalte permanente ( $p = 0,003$ ). Os conteúdos de amida I, o  $\text{CH}$  e amida III também se mostraram significativamente mais elevados em decíduos que no esmalte permanente (com  $p = 0,0001$ ,  $p = 0,002$  e  $p = 0,0018$ , respectivamente). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores da faixa  $\text{CH}_2$  para dentes decíduos e permanentes. Com base na metodologia empregada poder-se concluir que o esmalte dos dentes decíduos tem um conteúdo maior de componentes orgânicos, bem como de carbonato. A diferença do comportamento químico do esmalte pode provavelmente modificar suas características estruturais.

Palavras-chave: Espectroscopia Raman. Esmalte Humano. Carbonato. Matéria Orgânica.

## ABSTRACT

The aim of this study was the characterization of primary and permanent teeth enamel, producing comparison parameters to future studies. The Raman spectroscopy identifies the content of organic and inorganic matters through polarized change associated with molecule vibration modes. Third permanent (n=15) and second primary molars (n=15) were used. Samples were stored in water under refrigeration. The Raman spectra were obtained at room temperature (25°C) and the samples analyzed for Fourier Transform Raman Spectroscopy. The Raman spectra of the primary and permanent teeth enamel have shown nine distinct bands ranging from 200  $\text{cm}^{-1}$  to 3000  $\text{cm}^{-1}$ . Spectra showed strong vibration  $\text{PO}_4^{-3}$  at 960  $\text{cm}^{-1}$ . It is also evident for  $\nu_3$  phosphate at 1028-1075  $\text{cm}^{-1}$  and  $\nu_4$  phosphate at 591  $\text{cm}^{-1}$  and  $\nu_2$  phosphate at 430  $\text{cm}^{-1}$ . The band at 1070  $\text{cm}^{-1}$ , assigned to type B carbonate. The bands at 1245  $\text{cm}^{-1}$ , 1451  $\text{cm}^{-1}$ , 1667  $\text{cm}^{-1}$  and 2940  $\text{cm}^{-1}$  identified amide III,  $\text{CH}_2$ , amide I, and CH. The CH,  $\text{CH}_2$ , amide I, amide III groups identify linkages featured in organic matter, while phosphate and carbonate groups identify linkages featured in inorganic matter. The results were analyzed using Student's t Test ( $p \leq 0.006$ ). There were no statistically significant difference between the phosphate bands values for the primary and permanent teeth enamel. The deciduous enamel contained significantly more carbonate than permanent enamel ( $p = 0.003$ ). The CH, amide I and amide III was also significantly higher in deciduous than in permanent enamel (with  $p = 0.0001$ ,  $p = 0.002$ , and  $p = 0.0018$  respectively). There was no statistically significant difference between the  $\text{CH}_2$  band values for the primary and permanent teeth enamel. Based on the employed methodology it could be concluded that the enamel of primary teeth has a higher amount of organic components, as well as carbonate content. The difference of chemical behavior of the enamel can probably be able to modify their structural characteristics.

Key Words: Raman Spectroscopy. Human enamel. Carbonate. Organic matters.

## Lista de Ilustrações

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 .....  | 15 |
| Figura 2 – Tipos de vibrações moleculares .....                               | 23 |
| Figura 3 – Sistema de espectroscopia Raman.....                               | 24 |
| Figura 4 – Espectros Raman dos segundos molares decíduos .....                | 28 |
| Figura 5 – Espectros Raman dos terceiros molares permanentes.....             | 29 |
| Figura 6 – Médias dos espectros dos dentes decíduos e dos dentes permanentes. | 30 |

## Lista de Tabelas

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 – Média amostral, erro padrão e valor de p..... | 31 |
| Tabela 2 – Dente Decíduo 1.....                          | 39 |
| Tabela 3 – Dente Permanente 1 .....                      | 39 |
| Tabela 4 – Dente Decíduo 2.....                          | 39 |
| Tabela 5 – Dente Permanente 2 .....                      | 40 |
| Tabela 6 – Dente Decíduo 3.....                          | 40 |
| Tabela 7 – Dente Permanente 3 .....                      | 40 |
| Tabela 8 – Dente Decíduo 4.....                          | 40 |
| Tabela 9 – Dente Permanente 4 .....                      | 41 |
| Tabela 10 – Dente Decíduo 5.....                         | 41 |
| Tabela 11 – Dente Permanente 5 .....                     | 41 |
| Tabela 12 – Dente Decíduo 6.....                         | 41 |
| Tabela 13 – Dente Permanente 6 .....                     | 42 |
| Tabela 14 – Dente Decíduo 7.....                         | 42 |
| Tabela 15 – Dente Permanente 7 .....                     | 42 |
| Tabela 16 – Dente Decíduo 8.....                         | 42 |
| Tabela 17 – Dente Permanente 8 .....                     | 43 |
| Tabela 18 – Dente Decíduo 9.....                         | 43 |
| Tabela 19 – Dente Permanente 9 .....                     | 43 |
| Tabela 20 – Dente Decíduo 10.....                        | 43 |
| Tabela 21 – Dente Permanente 10 .....                    | 44 |
| Tabela 22 - Dente Decíduo 11 .....                       | 44 |
| Tabela 23 – Dente Permanente 11 .....                    | 44 |
| Tabela 24 – Dente Decíduo 12.....                        | 44 |
| Tabela 25 – Dente Permanente 12 .....                    | 45 |
| Tabela 26 – Dente Decíduo 13.....                        | 45 |
| Tabela 27 – Dente Permanente 13 .....                    | 45 |
| Tabela 28 – Dente Decíduo 14.....                        | 45 |
| Tabela 29 – Dente Permanente 14 .....                    | 46 |
| Tabela 30 - Dente Decíduo 15 .....                       | 46 |
| Tabela 31 – Dente Permanente 15 .....                    | 46 |

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>11</b> |
| <b>OBJETIVOS</b> .....   | <b>13</b> |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....                                      | <b>14</b> |
| 2.1 ODONTOGÊNESE .....   | 14        |
| 2.2 AMELOGÊNESE .....  | 15        |
| 2.2.1 CICLO VITAL DOS AMELOBLASTOS .....                                   | 16        |
| 2.3 ESMALTE .....  | 17        |
| 2.3.1 <i>Composição física</i> .....                                       | 18        |
| 2.3.2 <i>Composição química</i> .....                                      | 18        |
| 2.3.2.1 <i>Composição Mineral</i> .....                                    | 18        |
| 2.3.2.2 <i>Composição Orgânica</i> .....                                   | 20        |
| 2.4. ESPECTROSCOPIA RAMAN .....  | 21        |
| <b>3. METODOLOGIA</b> .....  | <b>25</b> |
| 3.1. LOCAL .....   | 25        |
| 3.2 AMOSTRA .....  | 25        |
| 3.2.1 <i>Crterios de exclusão:</i> .....                                   | 25        |
| 3.3. PROCEDIMENTOS DE COLETA .....   | 26        |
| 3.3 ANÁLISE DE DADOS .....   | 26        |
| 3.3.1. <i>Análise Vibracional</i> .....                                    | 26        |
| 3.3.2. <i>Análise Estatística</i> .....                                    | 27        |
| <b>4. RESULTADOS</b> .....   | <b>28</b> |
| <b>5. DISCUSSÃO</b> .....  | <b>32</b> |
| <b>6. CONCLUSÕES</b> .....   | <b>38</b> |
| <b>7. ANEXOS</b> .....   | <b>39</b> |
| 7.1. RESULTADOS DA NORMALIZAÇÃO DAS ÁREAS DOS ESPECTROS DAS AMOSTRAS ..... | 39        |
| <b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....                                 | <b>47</b> |

## INTRODUÇÃO

Os dentes são compostos por dois tecidos mineralizados (esmalte e dentina). O esmalte é de origem ectodérmica, enquanto a dentina e o cemento são de origem ectomesenquimática. O esmalte dentário é formado, predominantemente por componentes inorgânicos sob a forma de hidroxiapatita e o restante por proteínas não-colágenas e água. A dentina e o cemento possuem semelhanças em suas formações, ou seja, todos são tecidos conjuntivos especializados e o colágeno desempenha um amplo papel na determinação de suas estruturas. O esmalte, apesar de não ser um tecido conjuntivo e o colágeno não estar envolvido na sua constituição, tem a formação resultante de muitos princípios envolvidos na formação dos tecidos mineralizados (TEN CATE, 2001). Tanto os dentes permanentes quanto nos decíduos desenvolvem-se da mesma forma, ainda que existam diferenças anatômicas e de composição mineral (GAMA, 2002; WILSON; BEYNON, 1988).

O esmalte é a estrutura dentária de revestimento coronário e possui o maior índice de mineralização do organismo. Sua espessura é diferente conforme a região considerada num mesmo dente, além de variar consideravelmente de um tipo de dente para o outro (FAVA *et al.*, 1999). O conteúdo inorgânico do esmalte é constituído de fosfato de cálcio cristalino que pode incorporar íons durante a sua formação. O conteúdo orgânico, que aparece entre os cristais, é composto pelo polipeptídeo amelogenina rico em tirosina, uma sequência de peptídeos firmemente ligados aos cristais de hidroxiapatita, assim como às proteínas não-amelogeninas (TEN CATE, 2001).

Espectroscopia é a designação para toda técnica de levantamento de dados físico-químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente em uma amostra. Existem diversos métodos de análises espectroscópicas, tanto moleculares quanto atômicos, sendo que para cada um deles os instrumentos apresentam características específicas. A Espectroscopia Raman é um método de espectroscopia de dispersão e foi a técnica escolhida para o desenvolvimento deste trabalho, pois trata-se de uma técnica vibracional não-destrutiva que permite a caracterização simultânea da matéria orgânica e inorgânica do dente. Além disso, mostra ser uma técnica de alta precisão e sensibilidade (YUANYUAN; HSU, 2007).

A espectroscopia Raman tem sido aplicada a análises qualitativas e quantitativas de sistemas inorgânicos e orgânicos, além de poder detectar doenças em seu estágio inicial de desenvolvimento (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002). Além disso, como a técnica pode ser utilizada através de fibra óptica, a caracterização e o diagnóstico podem ser feitos *in vivo* de forma não invasiva (SOUZA *et al.*, 2003). A caracterização do esmalte de dentes decíduos e permanentes hígidos se faz necessária para que, a partir da análise do tecido normal, possam ser feitas comparações com o tecido patológico (GILCHRIST *et al.*, 2007). Além disso, o laser utilizado na técnica, o Er: YAG, é bastante utilizado para uso odontológico, devido a curta duração do pulso do laser, podendo prevenir a propagação da energia térmica no tecido dental (MERGULHÃO, 2006)

O propósito deste estudo foi caracterizar o esmalte de dentes decíduos e permanentes, criando parâmetros de comparação para estudos futuros. As amostras foram analisadas utilizando espectroscopia Raman com transformada de Fourier. Esta técnica identifica ligações características de compostos orgânicos e inorgânicos através da mudança de polarizabilidade (representa a facilidade de distorção da configuração eletrônica de uma espécie, quando condicionada a interação de um campo elétrico) associada a modos vibracionais das moléculas.

## OBJETIVOS

### Geral

Investigar a estrutura do esmalte hígido de dentes decíduos e permanentes utilizando Espectroscopia Raman.

### Específico

Investigar o conteúdo de matéria orgânica dos dentes decíduos e permanentes;

Investigar o conteúdo de carbonato dos dentes decíduos e permanentes;

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

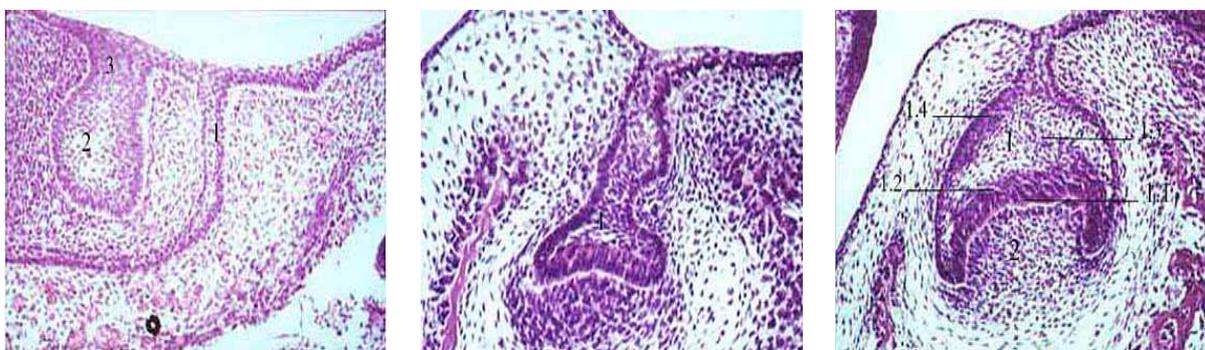
### 2.1 Odontogênese

A odontogênese inicia-se pela interação entre o epitélio bucal e o ectomesênquima subjacente, que dará origem à banda epitelial primária. A banda epitelial primária subdivide-se em lâmina vestibular e lâmina dentária. A lâmina vestibular situa-se labial e bucalmente em relação à lâmina dentária, prolifera e degenera-se na porção central para formar o vestíbulo situado entre as porções alveolares da maxila e da mandíbula, e lábios e bochechas. A lâmina dentária apresenta células ectodérmicas que formam um espessamento em certos pontos e formam brotos que invadem o ectomesênquima subjacente. Cada broto é responsável pela formação do órgão do esmalte do germe de um dente decíduo. Os dentes permanentes surgirão a partir de uma extensão lingual da borda livre da lâmina dentária. (SARAWY, BHUSSRY, 1989; TEN CATE, 2001).

A partir desse instante, o desenvolvimento dos dentes continua em três estágios: broto, capuz e sino. No estágio de broto ocorre a primeira invasão epitelial para o interior do ectomesênquima. O broto epitelial continua a se proliferar no interior do ectomesênquima. Neste estágio é possível identificar os elementos formadores dos dentes e seus tecidos de suporte. O *órgão dentário* aparece como um crescimento interno do epitélio com forma de capuz assentado sobre uma esfera de ectomesênquima condensado. Essa esfera de células ectomesenquimais condensadas denomina-se *papila dentária* e origina a dentina e os primórdios da polpa (Figura 1b) (TEN CATE, 2001). Suas células periféricas, com o aumento de volume formam os odontoblastos responsáveis pela produção de dentina. O ectomesênquima que envolve o órgão do esmalte e a papila dentária é o folículo dentário, e origina o periodonto de inserção do dente (SARAWY, BHUSSRY, 1989)

A proliferação epitelial não é interrompida e o órgão do esmalte adquire forma de campânula pela invaginação do epitélio interno que se aproxima muito da superfície profunda do epitélio externo (Figura 1c) (SARAWY, BHUSSRY, 1989). O epitélio interno é formado a partir das células que se encontram na periferia do órgão dentário, que irão sofrer diferenciação em ameloblastos. (TEN CATE, 2001).

Encontra-se também nesta fase, o estrato intermediário, que consiste em um grupo de células achatadas que aparecem entre os ameloblastos e o retículo estrelado (LEAL, 2005).



**Figura 1**

**Figura 1 a** – Estágio de Botão Lâmina vestibular (1), Botão dentinário (2), Lâmina dentária primária (3); **Figura 1 b** – Estágio de capuz; **Figura 1 c** – Estágio de Câmara Ilustração do Órgão Dentário (1), Células do epitélio interno (1.1), Células do estrato intermediário (1.2), Células do retículo estrelado (1.3), Células do epitélio externo (1.4), Papila dentária (2)

A formação da dentina marca o início do estágio de coroa do desenvolvimento do dente. No local da ponta da futura cúspide, cessa a atividade mitótica, e as células cilíndricas baixas do epitélio dentário interno se alongam, tornando-se altas e colunares com seu núcleo alinhado adjacente ao estrato intermediário em direção oposta à papila dentária (LEAL, 2005). As células ectomesenquimais indiferenciadas aumentam rapidamente de tamanho e, basicamente, diferenciam-se em odontoblastos (TEN CATE, 2001). Este limite entre a camada ameloblástica e os odontoblastos, corresponde à futura junção amelodentinária (SARAWY; BHUSSRY, 1989).

## 2.2 Amelogênese

A amelogênese inicia-se na fase de coroa do desenvolvimento do dente (EISENMANN, 2001). A sua formação se dá em duas fases: a formação da matriz e a mineralização. A deposição de matriz orgânica ocorre quando a primeira camada de dentina já houver sido depositada, tendo início ao nível das cúspides ou bordas incisais das coroas dos dentes. A segunda fase corresponde a mineralização gradual e completa do esmalte, e trata-se da fase de maturação. Esta fase tem início nas camadas profundas, antes que se complete a deposição de matriz nas camadas

superficiais. Por tratar-se de um processo em que os cristais de hidroxiapatita aumentam em espessura, há uma diminuição dos espaços entre eles e a maturação torna o esmalte mais denso e menos permeável e após o irrompimento do dente, o esmalte continua absorvendo conteúdo mineral (maturação pós-eruptiva) (LEAL, 2005)

### **2.2.1 Ciclo Vital dos ameloblastos**

Os ameloblastos passam por fases sucessivas de desenvolvimento, que constituem o seu ciclo vital, e podem ser classificadas em: morfogenética, de diferenciação, secretora, de maturação e de proteção. (KATCHBURIAN; ARANA, 1999)

A fase morfogenética corresponde ao início do estágio de campânula. Nesta fase, as células do epitélio interno se multiplicam, são cúbicas ou colunares baixas, com núcleo grande e central ou levemente próximo à lâmina basal que as separa da papila dentária. No estágio de diferenciação, as células do epitélio dentário interno diferenciam-se em ameloblastos, alongando-se e seus núcleos deslocam-se proximalmente em direção ao estrato intermediário. Com a inversão da polaridade, as células do epitélio interno do órgão do esmalte denominam-se pré-ameloblastos, que induzem a diferenciação das células da periferia da papila dentária em odontoblastos. Ainda nesta fase, os pré-ameloblastos tornam-se ameloblastos diferenciados capazes de secretar matriz do esmalte (TEN CATE, 2001).

A fase secretora marca o início da amelogênese, e os ameloblastos possuem todas as características de células sintetizadoras e secretoras de proteínas. A síntese da proteína de esmalte ocorre no retículo endoplasmático granular, de onde passa para o complexo de Golgi, que é condensada e armazenada em grânulos secretores que migram para a extremidade distal da célula, e os conteúdos são liberados sobre a dentina do manto recém-formada. Os cristais de hidroxiapatita são reunidos nesse primeiro esmalte recém-formado e se entrecruzam com os cristais de dentina. Na fase de maturação água e material orgânico são seletivamente removidos do esmalte, enquanto material inorgânico adicional é introduzido. No estágio protetor, os ameloblastos perdem a ondulação da superfície distal. Os

ameloblastos pós-secretores encurtam-se e perdem os processos de Tomes e são envolvidos no processo de maturação do esmalte. Quando a maturação é completada, os ameloblastos e a camada de células pavimentosas passam a constituir o epitélio reduzido do órgão do esmalte, que tem função protetora (ASSIS *et al*, 1999).

### 2.3 Esmalte

A espectroscopia Raman tem sido aplicada a análises qualitativas e quantitativas de sistemas inorgânicos e orgânicos, além de poder detectar doenças em seu estágio inicial de desenvolvimento (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002). Através da técnica pode-se obter informações sobre os compostos presentes na molécula de hidroxiapatita (YUANYUAN; HSU (2007); SCHULZE *et al.*,(2004); TSUDA; ARENDS (1994;1997); RIBEIRO; SATHAIAH; PACHECO(2001); GILCHRIST *et al.*, (2007); CLASEN E RUYTER (1997).

Em condições normais, o esmalte apresenta-se duro e friável devido ao alto conteúdo mineral. É formado por cristais de hidroxiapatita (HA), um fosfato de cálcio hidratado, cuja fórmula química é representada por:  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  e por íons em concentrações diversas (SALEH *et al.*, 2004). Entre os tecidos que constituem os dentes, apenas o esmalte não apresenta vitalidade e nem capacidade de neoformação; porém, podem ocorrer interações iônicas na cavidade bucal e mudanças em sua estrutura cristalina (SARAWY, BHUSSRY, 1989; FELSZEGHY *et al.*, 2000; GASGA, 2001).

Ele é formado por 97% de conteúdo inorgânico e 3 % de matéria orgânica e água. O conteúdo orgânico tem sua natureza basicamente protéica, com raros carboidratos e lipídeos. O esmalte superficial é mais duro, denso e menos poroso que o esmalte subsuperficial. Dureza e densidade não apenas decrescem da superfície em direção ao interior, mas também da cúspide ou borda incisal em direção à margem cervical (BERKOVITZ *et al.*, 2004; TEN CATE, 2001)

### 2.3.1 Composição física

Macroscopicamente a superfície do esmalte de um dente recém irrompido aparece lisa e brilhante. Microscopicamente encontram-se regiões de esmalte aprismático, regiões interprismáticas e prismáticas (KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

O esmalte aprismático apresenta variação na espessura e localização, bem como maior prevalência nos dentes decíduos (FAVA *et al.*, 1999). Sua espessura nos dentes decíduos é de sete micrômetros e nos permanentes varia de quatro a cinco micrômetros. Os prismas são formados por cristais de hidroxiapatita que correm da junção amelodentinária para a superfície. O espaço entre os cristais é ocupado por água e material orgânico (FEJERSKOV; JOSEPHSEN; NYVAD, 1989; BERKOVITZ; HOLLAND; MOXHAM, 2004; EISENMANN, 2001).

### 2.3.2 Composição química

#### 2.3.2.1 Composição Mineral

A apatita é um fosfato de cálcio que possui estrutura hexagonal formada por um sítio tetraédrico ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) que está ligado ao cálcio em dois sítios estruturais diferentes. Ela é formada por um padrão definido de arranjo iônico que permite considerável variação na sua composição através da substituição, troca e adsorção de íons (TEN CATE, 2001). As variantes mais freqüentes de apatita são: fluorapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ] e hidroxiapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ ]. As substituições dentro da rede cristalina da apatita são variadas e sempre presentes, podendo haver um número elevado de combinações. (DUGGAL *et al.*, 1991; TSUDA; ARENDS, 1994).

Tais substituições podem acontecer de forma rápida ou lenta, podendo durar anos, dependendo de fatores como, desgaste, difusão de íons através da saliva, oxidação, decomposição e precipitação. Os cristais de fosfato de cálcio sob a forma de hidroxiapatita tendem a incorporar grande número de elementos traços, que são elementos minerais necessários ao organismo. (REITZNEROVÁ *et al.*, 2000; FEJERSKOV; KIDD, 2005; DUGGAL *et al.*, 1991; NILSSON, 1998))

Essas substituições podem alterar a cristalinidade, as dimensões dos cristais, a textura superficial, a estabilidade e a solubilidade da estrutura da hidroxiapatita. O cálcio pode ser substituído pelo magnésio e pelo sódio; fluoretos e cloretos podem ocupar a posição da hidroxila; e o carbonato pode ocupar tanto o lugar da hidroxila quanto do fosfato. A substituição da hidroxila por fluoretos diminui a solubilidade dos cristalitos, enquanto que a substituição pelo carbonato faz aumentar a solubilidade. Esse padrão de variabilidade iônica reflete o meio ambiente, podendo ser usado clinicamente para modificar a estrutura dos cristais (MAVROPOULOS, 1999).

Em estudo de avaliação da composição química do esmalte dentário através da análise por microsonda eletrônica em molares decíduos hígidos e cariados de crianças na faixa etária de três a doze anos de idade, nascidas e residentes no Distrito Federal, mostrou que os íons Ca, Se, Mn e Sr são encontrados em maiores concentrações em dentes sadios e os íons Mg e P são encontrados em maior quantidade no esmalte dos dentes cariados. Os íons Na, Fe e Zn não apresentam diferenças estatisticamente significantes de concentração entre os grupos (PEREIRA, 2005). E embora a estrutura da apatita seja preservada, as alterações químicas e estruturais que acompanham tais substituições podem afetar substancialmente as propriedades físicas e químicas do mineral e influenciar a estabilidade, a reatividade química e a dureza do esmalte, tornando-o mais ou menos susceptível às perdas minerais (DUGGAL *et al.*, 1991; REITZNEROVA *et al.*, 2000).

A estrutura molecular do cristal de hidroxiapatita do esmalte contém aproximadamente 2 a 3% de carbonato. Este é incorporado durante o seu desenvolvimento e afeta a estabilidade química e a estrutura física (SYDNEY-ZAX, MAYER, DEUTSCH, 1991; NELSON, 1981).

A espectroscopia Raman é útil para o estudo dessas mudanças físicas e químicas que ocorrem em tecidos dentários oferecendo inúmeras possibilidades de aplicações clínicas diagnósticas. Pois os espectros de dentes cariados apresentam características diferentes quando comparados com espectros de dentes hígidos. Os diferentes estágios das lesões provocam mudanças nos parâmetros espectrais como: intensidade, posição e largura dos picos Raman (RIBEIRO; SATHIAH;

PACHECO, 2001).

### **2.3.2.2 Composição Orgânica**

O esmalte maduro contém 1 a 2% de matriz orgânica. O conteúdo orgânico de regiões onde o componente prismático é linear e regular pode ser tão baixo quanto 0,05% por peso; onde os prismas e os cristais são mais irregulares pode ser tão alto quanto 3%. (BERKOVITZ; HOLLAND; MOXHAM, 2004).

Nos tecidos conjuntivos mineralizados, a matriz orgânica consiste em uma proteína fibrosa (colágeno tipo I) associada com quantidade e tipos variáveis de outras macromoléculas (proteoglicanos, fosfolípidos e fosfoproteínas). No esmalte, o componente orgânico consiste em uma família característica de proteínas do esmalte (TEN CATE, 2001). A composição da matriz do esmalte é basicamente protéica de natureza não-colágena, contendo alguns lipídios e carboidratos. São considerados dois grupos de proteínas: as amelogeninas e as não-amelogeninas. As primeiras são as mais abundantes, correspondem a 90% das proteínas do esmalte; são hidrofóbicas e ricas em prolina. O segundo grupo inclui as fosfoproteínas glicosiladas acídicas (enamelinina e tufelinina) e glicoproteínas sulfatadas (ameloblastina, amelina e bainhalina) (GLIMCHER, LEVIN, BONAR, 1965; FELSZEGHY, 2000).

Na matriz orgânica recém-secretada, as principais proteínas são as amelogeninas, enquanto que as não-amelogeninas representam menos de 10% do produto de secreção. Além dessas, as metaloproteinases e as serina proteinases são algumas das proteínas enzimáticas identificadas na matriz orgânica do esmalte. Na fase secretora da amelogênese, o ameloblasto ao mesmo tempo em que secreta, inicia lentamente o processo de reabsorção, principalmente das amelogeninas, permitindo o início do crescimento dos cristais de hidroxiapatita. No processo de maturação, as amelogeninas são enzimaticamente degradadas e seus subprodutos reabsorvidos pelo odontoblasto, permitindo uma gradual expansão lateral e longitudinal dos cristais. Embora, essas proteínas correspondam a 1% em peso, cobrem os cristais e influenciam o comportamento químico do esmalte (FERSJESKOV, KIDD, 1989; SMITH, 1998).

A amelogenina humana é rica em prolina e glutamina. Quando adicionadas à matriz se espalham através de toda a espessura de esmalte em desenvolvimento, resultando em um gel através do qual moléculas e íons podem se difundir rapidamente. Logo depois de secretada, sofre degradação por enzimas proteolíticas de forma que a matriz do esmalte torna-se uma mistura heterogênea de proteínas. (BERKOVITZ, HOLLAND, MOXHAM, 2004).

A tufelina está presente em concentração muito mais baixa do que a enamelinina, sendo secretada em curto espaço de tempo. Encontra-se confinada à região da junção amelodentinária, onde provavelmente atua na mineralização do esmalte, podendo inibir o crescimento do cristal (ZEICHNER-DAVID, 1995).

No mecanismo de mineralização do esmalte ocorre uma formação quase imediata de cristalito nas proteínas do esmalte recém-secretado. Como a proteína do esmalte é depositada quase diretamente sobre a dentina mineralizada, considera-se que a mineralização do esmalte ocorra pelo crescimento do cristal (IMPARATO *et al*, 2003).

#### **2.4. Espectroscopia Raman**

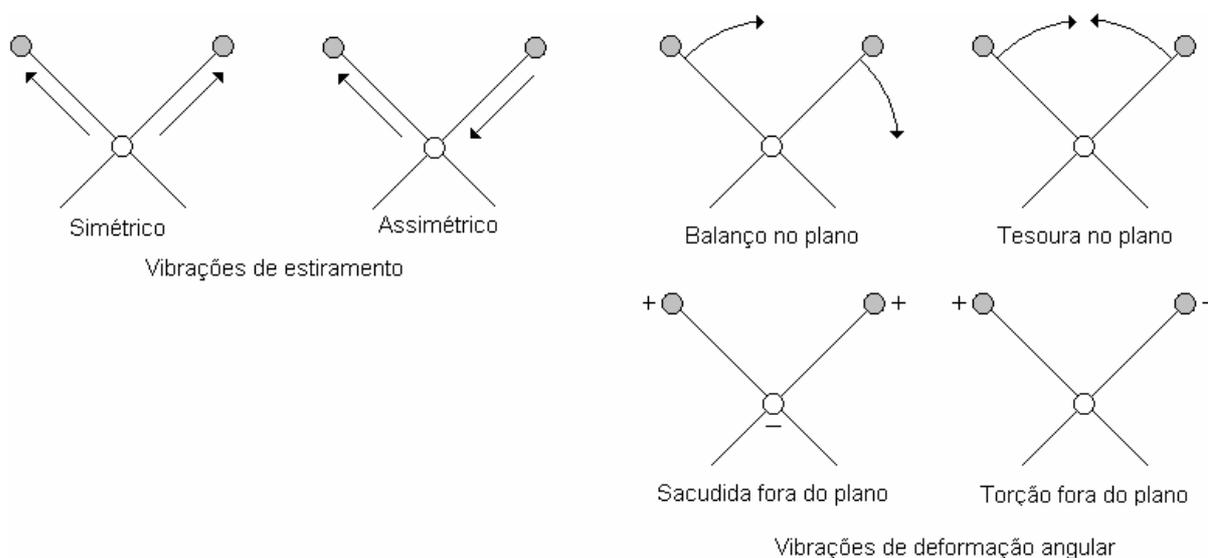
Espectroscopia é a designação para toda técnica de obtenção de dados físico- químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente em uma amostra. É o método utilizado para análise de elementos simples da estrutura química de compostos inorgânicos ou grupos funcionais de uma substância orgânica utilizando radiação electromagnética. São três os principais tipos de processo pelos quais a radiação interage com a amostra: espectroscopia de absorção (correlaciona a quantidade da energia absorvida em função do comprimento de onda da radiação incidente), a espectroscopia de emissão (analisa a quantidade de energia emitida por uma amostra contra o comprimento de onda da radiação emitida) e a espectroscopia de espalhamento (determina a quantidade da energia espalhada (dispersa) em função de parâmetros como o comprimento de onda e ângulo de incidência).

A espectroscopia Raman é um tipo de método instrumental de análise baseado no fenômeno do espalhamento da radiação que envolve interações da radiação eletromagnética com o analito (parte da amostra que é foco da análise química). Em 1928, o físico C. V. Raman descobriu que o comprimento de onda visível de uma pequena fração da radiação espalhada por certas moléculas difere daquele do feixe incidente, e que o deslocamento de comprimento de onda depende da estrutura química das moléculas responsáveis pelo espalhamento. Esta análise espectral é especialmente importante devido ao fato de cada substância existente na natureza possuir seu espectro (resultado obtido quando as radiações eletromagnéticas são emitidos nos seus comprimentos de onda ou frequência correspondentes) característico. A informação armazenada nas características físicas ou químicas do analito é convertida em um tipo de informação que pode ser manipulada e interpretada (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

Sob o ponto de vista energético, o processo de espalhamento Raman pode ser descrito como a transição de uma molécula do estado fundamental para o estado vibracional excitado. Visto que cada amostra molecular possui seu próprio conjunto vibracional molecular, o espectro Raman de uma amostra em particular consistirá de uma série de picos, cada um relacionado à sua frequência vibracional característica, fornecendo assim, a identificação para a molécula que está sendo estudada. Os instrumentos com transformada de Fourier são os que utilizam técnicas de filtragem para a eliminação de ruídos e interferências dos sinais. Esta melhor relação sinal-ruído proporciona aumento na velocidade e confiabilidade dos dados (SOUZA *et al.*, 2003).

A identificação das moléculas é possível, pois as posições relativas dos átomos em uma molécula não são fixas, variam continuamente em função de inúmeros tipos de vibrações em torno das ligações da molécula. Tais vibrações podem se enquadrar em duas categorias: estiramentos e deformações angulares. Uma vibração de estiramento envolve uma variação contínua na distância interatômica no longo eixo da ligação entre dois átomos. As vibrações de deformação são caracterizadas pela variação do ângulo entre duas ligações, e são de quatro tipos: tesoura, balanço, sacudida e torção, que estão mostrados na Figura 2 (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002 ; GUIMARÃES; BRUGNERA; BOLOGNESE,

2006).



**Figura 2 – Tipos de vibrações moleculares** <sup>1</sup>

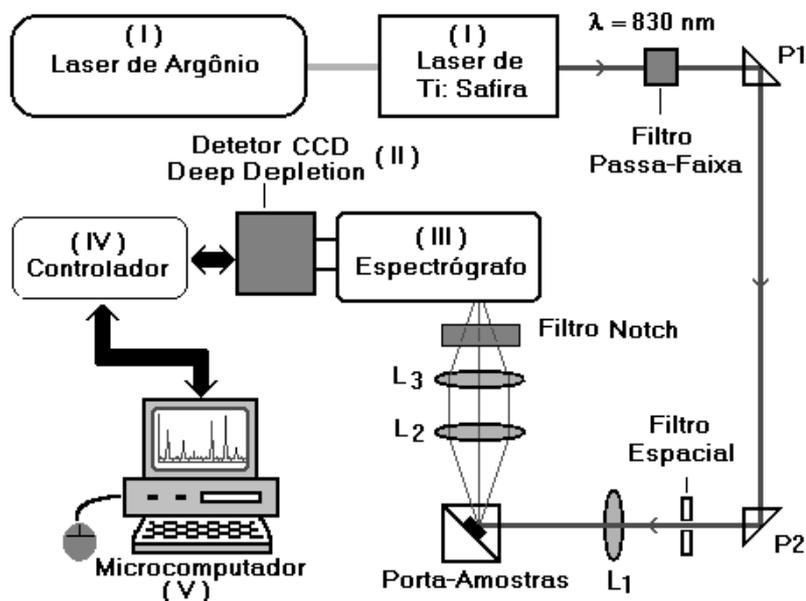
Nota: Tipos de vibrações moleculares. + indica movimento para fora da página, na direção do leitor; - indica movimento para longe do leitor.

A identificação positiva de um composto a partir de um espectro pode ser feita a partir de tabelas de correlação (que mostra a frequência dos grupos), catálogos de espectros, bem como trabalhos que descrevem detalhadamente identificação dos compostos (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

O diagrama de um espectrofotômetro Raman (Figura 3) explica o seu funcionamento. Um espectro Raman é obtido fazendo-se um *laser* incidir sobre a amostra que se quer estudar. A luz espalhada é dispersa por um monocromador no espectrômetro (monocromador tem por base o uso de redes de difração de modo a separar os diversos comprimentos de onda através de interferência). O sinal Raman é coletado por um filtro de rejeição do tipo notch, que separa sinais baseando-se nas suas diferenças de frequência. O sinal Raman é então transmitido para o espectrógrafo (equipamento que realiza um registro fotográfico de um espectro luminoso) e suas componentes são recolhidas em um detector Ge, que converte a intensidade da luz em sinais elétricos, que são interpretados em um computador na

<sup>1</sup> SKOOG, D. A. ; HOLLER, F. J; NIEMAN, T. A. Princípios de Análise Instrumental. 5ª ed. Bookman, 2002 pg. 345

forma de um espectro Raman (SOUZA *et al.*, 2003).



**Figura 3 – Sistema de espectroscopia Raman.**

Um laser de argônio de 5W é usado para bombear um laser de estado sólido de Ti:safira. O sinal Raman espalhado na amostra é coletado a 90 graus utilizando-se filtros de rejeição do tipo notch e focalizados na entrada da fenda do espectrógrafo. Os filtros notch eliminam a luz Rayleigh espalhada e transmitem o sinal Raman para o espectrógrafo. A luz dispersada pelo espectrógrafo é detectada por um CCD Deep Depletion refrigerado por nitrogênio líquido, que converte a intensidade da luz em sinais elétricos que são interpretados em um computador.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. Local**

O presente experimento foi conduzido no Laboratório de Catálise do Instituto de Química da Universidade de Brasília (Campus Universitário Darcy Ribeiro, Instituto Central de Ciências, Sala BSS-141).

#### **3.2 Amostra**

Foram utilizados 30 dentes distribuídos em dois grupos: 3<sup>o</sup> molares permanentes irrompidos (15) e 2<sup>os</sup> molares decíduos (15). Os dentes permanentes foram provenientes de extração indicada, doados pelos pacientes da Clínica de Cirurgia Bucomaxilofacial do Hospital Universitário de Brasília e de clínicas particulares, que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os dentes decíduos foram provenientes de exfoliação natural, doados pelos pacientes da Clínica de Odontopediatria do Hospital Universitário de Brasília e de clínicas particulares que concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (CEP-FM 014/2007).

Todas as amostras foram provenientes de pacientes nascidos e residentes no Distrito Federal que ingerem água fluoretada.

##### **3.2.1 Critérios de exclusão:**

- 1) Recusa em participar da pesquisa após esclarecimento dos procedimentos do estudo.
- 2) Pacientes que não ingerem água fluoretada
- 3) Amostras com vestígios de lesão de cárie, inclusive lesões de mancha branca;
- 4) Amostras com alterações no esmalte, como trincas e hipoplasia.
- 5) Terceiros molares inclusos.

### 3.3. Procedimentos de coleta

As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos logo após a exodontia e mantidas em água e sob refrigeração até o momento do processamento.

### 3.3 Análise de dados

#### 3.3.1. Análise Vibracional

Espectroscopia de Raman com transformada de Fourier (FT- Raman): Os espectros Raman da amostra foram obtidos em condição de temperatura ambiente (25 °C) com 128 varreduras e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  no modelo Bruker FRA 106/S acoplado ao espectômetro Bruker Equinox 55 (espectrômetro é um instrumento óptico utilizado para medir as propriedades da luz em uma determinada faixa do espectro eletromagnético). Foi usado um laser neodímio (Nd: YAG) de comprimento de onda de 1.064 nm (unidade de medição de comprimento de onda de luz visível) e potência de 100 mW (megawatt). Um detector Ge refrigerado por nitrogênio líquido foi utilizado para coletar o sinal Raman, e converter a intensidade da luz em sinais elétricos, que são interpretados em um computador na forma de um espectro Raman. A região espectral analisada foi de 200  $\text{cm}^{-1}$  até 3000  $\text{cm}^{-1}$ .

Foram obtidos 5 espectros de cada uma das 30 amostras com uma fonte de laser incidindo na altura do terço médio da face vestibular do dentes, originando um total de 150 espectros, sendo 75 referentes à leitura dos dentes decíduos e 75 referentes à leitura dos dentes permanentes. Durante a irradiação, o espectro da radiação espalhada é medida na mesma direção do feixe incidente, que irá gerar um espectro cuja abscissa corresponde ao deslocamento Raman ( $\Delta\bar{\nu}$ ), definido como a diferença de comprimento de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) entre a radiação observada e a fonte. A ordenada corresponde ao pico de absorbância (capacidade intrínseca dos materiais em absorver radiações em frequência específica) do analito. Valores numéricos presentes nas tabelas 2 a 31 representam a cálculo das médias de cada uma das áreas do espectro.

Após a correção automática do desvio da linha de base, as áreas dos picos

foram integradas utilizando-se o programa OPUS NT 3.1.(Optics User Software).

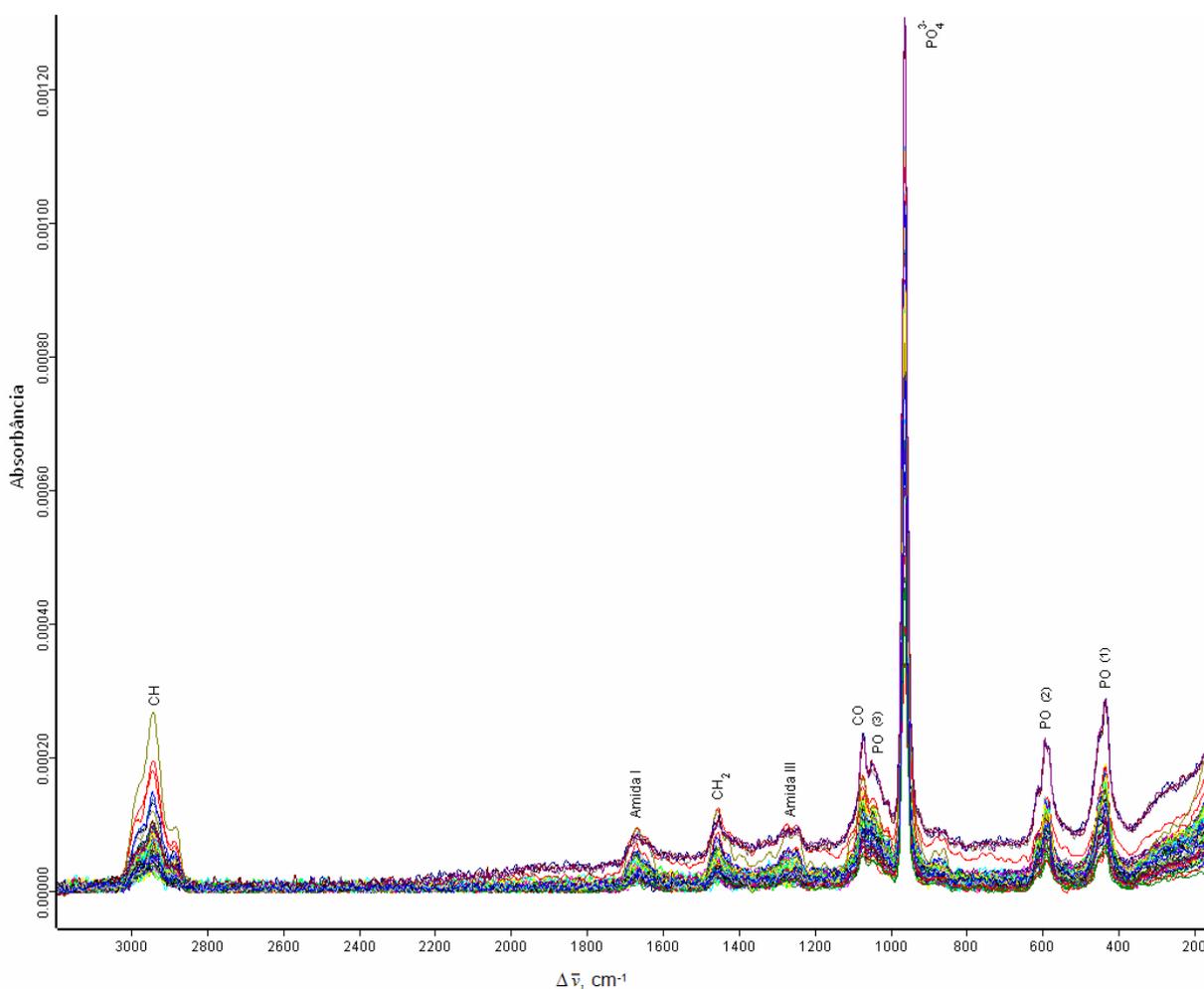
### 3.3.2. Análise Estatística

O programa SAS V.8.1 (Cary, Carolina do Norte, EUA) foi utilizado para a análise estatística dos dados. Os resultados foram obtidos pela média entre os valores numéricos correspondentes às áreas dos espectros Raman no intervalo de  $3.000\text{ cm}^{-1}$  a  $200\text{ cm}^{-1}$  e o número de repetições de irradiações de cada amostra. As estatísticas descritivas médias e erro padrão foram computadas. Testes  $t$  de Student foram realizados para testar a hipótese de não haver diferença nos valores das diferentes áreas do espectro entre dentes decíduos e permanentes. O nível de significância foi ajustado de acordo com o método de correção de Bonferroni e foi estabelecido em 0,006.

O erro das mensurações foi calculado segundo a fórmula de Dahlberg  $\sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$ , onde “d” é a diferença entre duas medidas feitas pelo mesmo observador em um intervalo de 2 semanas e “n” é o tamanho da amostra. Vinte por cento dos dentes foram selecionados aleatoriamente para esta avaliação. O Erro foi 0,0014.

#### 4. RESULTADOS

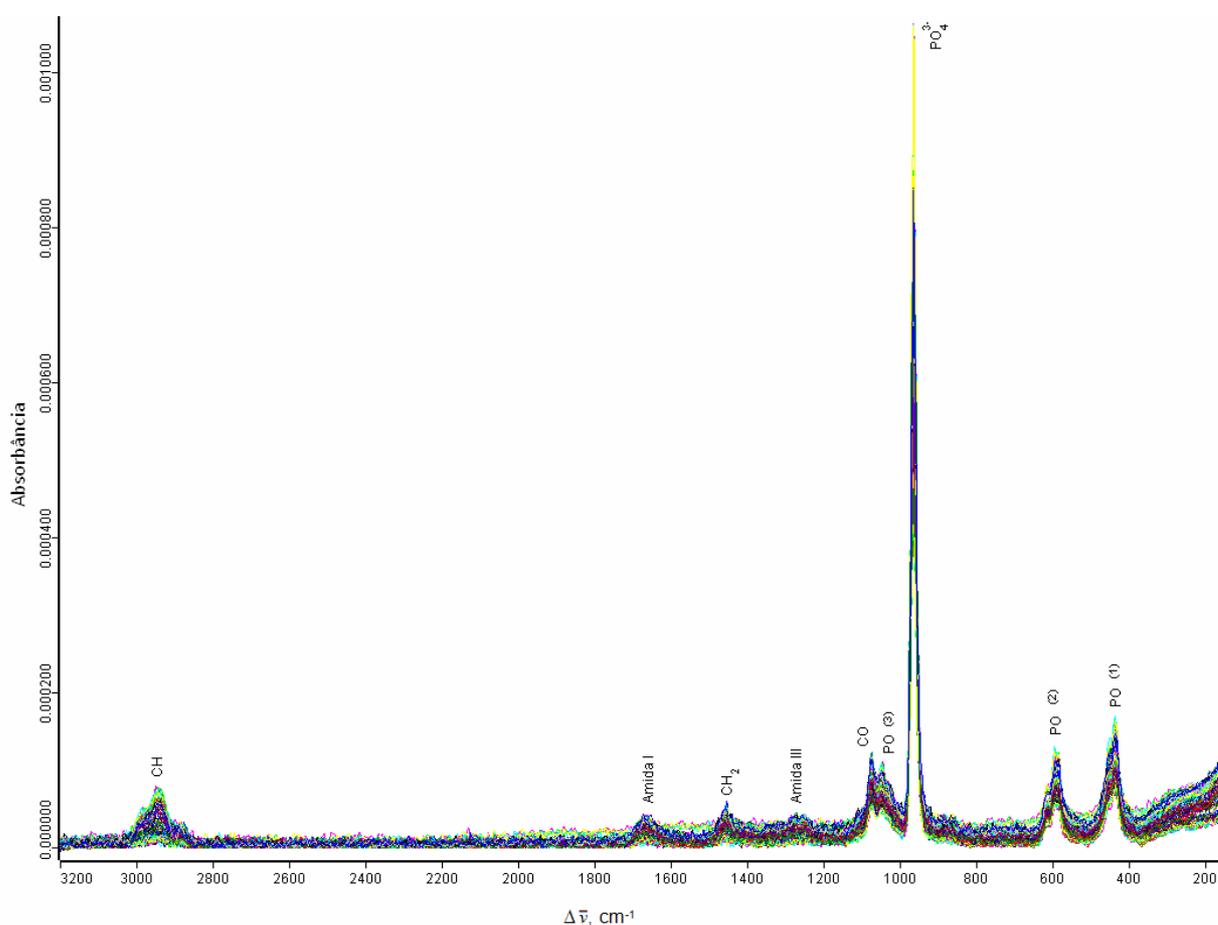
**Figura 4 – Espectros Raman dos segundos molares decíduos**, dentro do intervalo da região espectral envolvida ( $200\text{ cm}^{-1}$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$ ) encontram-se setenta e cinco espectros obtidos, sendo 5 de cada uma das 15 amostras de dentes decíduos. Em  $2940\text{ cm}^{-1}$ , encontra-se a banda correspondente a CH, enquanto que em  $1667\text{ cm}^{-1}$  localiza-se a amida I,  $1451\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao  $\text{CH}_2$ ,  $1245\text{ cm}^{-1}$  refere-se à amida III e o pico de carbonato foi caracterizado em  $1070\text{ cm}^{-1}$ , identifica carbonato tipo B. Os picos caracterizados no intervalo de  $1028\text{-}1075\text{ cm}^{-1}$ ,  $960\text{ cm}^{-1}$ ,  $591\text{ cm}^{-1}$  e  $430\text{ cm}^{-1}$ , identificam os picos de diferentes modos vibracionais do grupo fosfato.



**Figura 4 – Espectros Raman dos segundos molares decíduos**

Espectros Raman de setenta e cinco irradiações de 15 amostras de segundos molares decíduos.

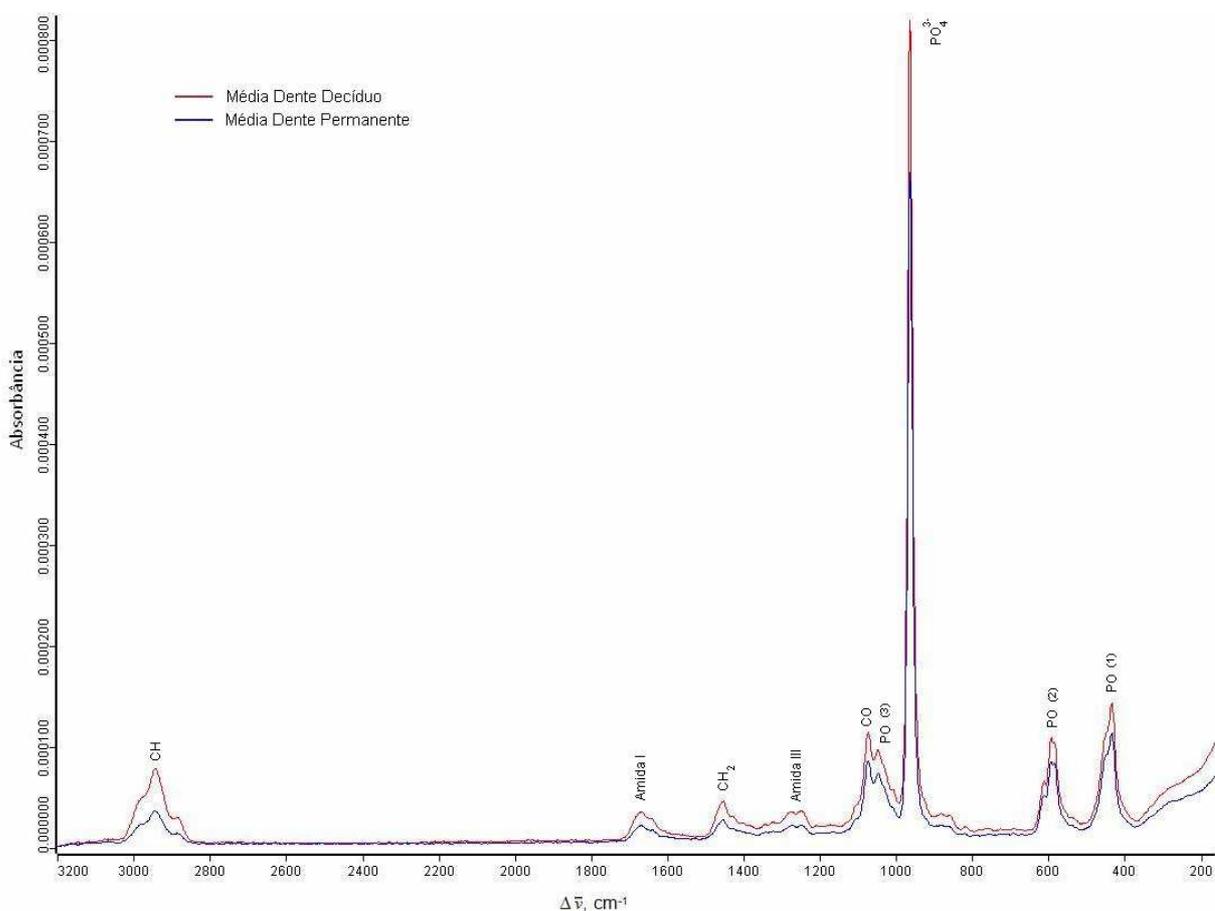
Figura 5 - Espectros Raman dos terceiros molares permanentes. Encontram-se setenta e cinco espectros, sendo 5 de cada uma das 15 amostras de dentes permanentes. Em  $2940\text{ cm}^{-1}$ , encontra-se a banda correspondente a CH, enquanto que em  $1667\text{ cm}^{-1}$  localiza-se a amida I,  $1451\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao  $\text{CH}_2$ ,  $1245\text{ cm}^{-1}$  refere-se à amida III e o pico de carbonato foi caracterizado em  $1070\text{ cm}^{-1}$ , identifica carbonato tipo B. Os picos caracterizados no intervalo de  $1028\text{-}1075\text{ cm}^{-1}$ ,  $960\text{ cm}^{-1}$ ,  $591\text{ cm}^{-1}$  e  $430\text{ cm}^{-1}$ , identificam os picos do grupo fosfato.



**Figura 5 – Espectros Raman dos terceiros molares permanentes**

Espectros Raman correspondentes a setenta e cinco irradiações de 15 amostras de terceiros molares permanentes.

Na Figura 6, os espectros mostram a relação entre as médias dos espectros dos dentes decíduos e permanentes. Ambos os espectros mostram um forte pico que corresponde a  $\text{PO}_4^{3-}$  em  $960\text{ cm}^{-1}$ . É também evidente o fosfato (3) em  $1028\text{--}1075\text{ cm}^{-1}$  e fosfato (2) em  $591\text{ cm}^{-1}$  e fosfato (1) em  $430\text{ cm}^{-1}$ . O pico de carbonato foi caracterizado em  $1070\text{ cm}^{-1}$ , identifica carbonato tipo B, sobrepondo-se com a banda do fosfato (3) entre  $1028$  e  $1075\text{ cm}^{-1}$ . Em  $1245\text{ cm}^{-1}$  refere-se à amida III,  $1451\text{ cm}^{-1}$  à  $\text{CH}_2$ ,  $1667\text{ cm}^{-1}$   $\text{CH}_2$  e o CH encontra-se na banda de  $2940\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 6 – Médias dos espectros dos dentes decíduos e dos dentes permanentes.**

Espectro Raman (azul) correspondente à média entre os 75 espectros dos dentes decíduos.

Espectro Raman (vermelho) corresponde à média entre os 75 espectros dos dentes permanentes.

A Tabela 1 exibe os dados estatísticos da média amostral, erro padrão e o valor de p referentes às áreas dos espectros dos dentes decíduos e permanentes.

| Componentes | Espectro                               | Decíduos |             | Permanentes |             | p       |
|-------------|--|----------|-------------|-------------|-------------|---------|
|             |  | Média    | Erro Padrão | Média       | Erro Padrão |         |
| Orgânicos   | Área 1 - CH                            | 0,0057   | 0,0004      | 0,0027      | 0,0005      | 0,0001* |
|             | Área 2 - Amida I                       | 0,0016   | 0,0001      | 0,0009      | 0,0002      | 0,002*  |
|             | Área 3 - CH <sub>2</sub>               | 0,0016   | 0,0002      | 0,0010      | 0,0001      | 0,0080  |
|             | Área 4 - Amida III                     | 0,0010   | 0,0004      | 0,0005      | 0,0001      | 0,0018* |
| Inorgânicos | Área 5 - CO                            | 0,0044   | 0,0002      | 0,0034      | 0,0002      | 0,003*  |
|             | Área 6 - PO (3)                        | 0,0136   | 0,0007      | 0,0109      | 0,0006      | 0,0070  |
|             | Área 7 - PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> | 0,0035   | 0,0002      | 0,0027      | 0,0001      | 0,0080  |
|             | Área 8 - PO (2)                        | 0,0048   | 0,0003      | 0,0038      | 0,0002      | 0,0110  |
|             | Área 9 - PO(1)                         | 0,0168   | 0,0014      | 0,0117      | 0,0010      | 0,0064  |

**Tabela 1 – Média amostral, erro padrão e valor de p**

Dados estatísticos da média amostral, erro padrão e p-valor referentes às áreas dos espectros dos dentes decíduos e permanentes (p≤0,006)

## 5. DISCUSSÃO

O esmalte humano de dentes decíduos e permanentes foi analisado utilizando Espectroscopia Raman, que identifica ligações características de compostos orgânicos e inorgânicos através da mudança de polarizabilidade associada a modos vibracionais das moléculas. Os espectros obtidos a partir da técnica caracterizaram a composição e concentração de substâncias minerais e orgânicas dos dentes decíduos e permanentes criando parâmetros de comparação entre eles.

Não foram encontrados estudos similares na literatura internacional de comparação de grupos orgânicos e inorgânicos entre dentes decíduos e permanentes por Espectroscopia Raman. Além disso, os trabalhos cujas metodologias mostraram similaridades com esta pesquisa, apresentaram diferenças quanto aos objetivos ou quanto ao tipo de amostra estudada. Portanto, vale salientar que este trabalho possui características de ineditismo em sua metodologia e contexto.

Para análise dos resultados os espectros (figuras 6 e 7) foram divididos em picos de fosfato, carbonato e de matéria orgânica. A análise estatística dos dados sugere maior conteúdo de matéria orgânica e de carbonato nos dentes decíduos.

Neste estudo, a caracterização dos picos dos espectros que se mostraram representados pelos compostos CH, amida I, amida III, CH<sub>2</sub>, CO e fosfato (tabela 1) foi feita com base nos trabalhos de Tsuda; Arends (1994; 1997); Ribeiro; Sathaiiah, Pacheco (2001); Schulze *et al.* (2004); Yuanyuan; Hsu (2007); Gilchrist *et al.* (2007).

Estudo analisando o esmalte de incisivos centrais decíduos hígidos por Espectroscopia Raman (laser neodímio Nd: YAG de comprimento de onda de 1.064 nm), também identificaram que os picos de fosfato encontram-se em diferentes modos vibracionais, localizando-se nas regiões: 960, 591 cm<sup>-1</sup>, 430 cm<sup>-1</sup> e no intervalo de 1028-1075 cm<sup>-1</sup> ( YUANYUAN; HSU ,2007).

As bandas do espectro Raman (laser He-Ne de comprimento de onda de 632.8 nm) do esmalte podem ser atribuídas à apatita mineral em  $960\text{ cm}^{-1}$ ,  $591\text{ cm}^{-1}$ ,  $430\text{ cm}^{-1}$  e no intervalo de  $1028\text{-}1075\text{ cm}^{-1}$ . A técnica pode caracterizar a distribuição espacial de compostos orgânicos e inorgânicos no esmalte, dentina e cimento, revelando que a banda de  $\text{PO}_4^{3-}$  encontra-se na mesma posição no espectro ( $960\text{ cm}^{-1}$ ) em todos os tecidos. Além disso, a porção mineral do espectro Raman exibe características de hidroxiapatita carbonatada, tanto pela presença do pico de fosfato em  $960\text{ cm}^{-1}$ , quanto pela presença do  $\text{CO}_3^{2-}$  em  $1072\text{ cm}^{-1}$ . Fazendo uma correlação entre os dados deste autor e o estudo em questão observa-se que pela identificação de picos de fosfato (tabelas 6 e 7) associado à presença do carbonato na região  $1072\text{ cm}^{-1}$ , pode-se inferir a presença de hidroxiapatita carbonatada nas amostras analisadas (SCHULZE *et al.*, 2004)

De forma similar ao observado por Schulze *et al.* (2004), reportado acima, Gilchrist *et al.* (2007) estudando a diferença de concentração de fosfato na molécula de hidroxiapatita em áreas hígidas e áreas desmineralizadas em dentes decíduos anteriores, também associou a banda principal de fosfato, localizada aproximadamente em  $960\text{ cm}^{-1}$  como sendo indicativo da presença do estiramento P-O associado à presença da hidroxiapatita. Evidenciando que esta banda representa a energia vibracional associada a ligação entre o fosfato e o oxigênio na molécula de hidroxiapatita.

A concentração de fosfato é um bom indicador do grau de mineralização do esmalte, pois o fosfato é liberado durante o processo de desmineralização. Tal fenômeno tenderia, em Espectroscopia Raman, a uma diminuição na intensidade da relacionada a este grupo em testes realizados em dentes que sofreram processo de desmineralização (Fejerskov; Kidd, 2005). Porém, em estudos comparativos entre a diferença de concentração de fosfato na molécula de hidroxiapatita em áreas hígidas e áreas desmineralizadas em dentes decíduos anteriores, Gilchrist *et al.* (2007) observaram, não haver diferença estatisticamente significativa nos espectros que caracterizam a concentração de fosfato entre as áreas hígidas e desmineralizadas.

Para os autores acima, o resultado de sua pesquisa mostra que, estudos comparativos entre o esmalte de dentes decíduos e permanentes hígidos são

necessários para que as diferenças entre os espectros sejam observadas. Além disso, o espectro inteiro deve ser analisado e não somente o conteúdo inorgânico, pois tal estudo poderia revelar informações adicionais a respeito do processo químico envolvido na desmineralização do esmalte. De acordo com as considerações apresentadas, infere-se que os resultados deste estudo servem de base inicial para pesquisas posteriores sobre a estrutura orgânica e mineral do esmalte dentário.

O esmalte do dente decíduo é menos mineralizado que o do dente permanente, pois os níveis minerais relativamente mais baixos encontrados no esmalte dos dentes decíduos podem estar ligados ao tempo reduzido para a sua maturação (SILNESS; HEGDAHL; GUSTAVSEN, 1973; WILSON; BEYNON, 1989). Nos resultados aqui apresentados, a diferença de conteúdo de fosfato para dentes decíduos e permanentes não foi considerada estatisticamente significativa (tabela1).

Com relação à banda correspondente ao estiramento CO, na posição 1070 cm<sup>-1</sup>, Clasen; Ruyter (1997) e Yuanyuan; Hsu (2007), afirmam que este composto corresponde presença de carbonato. Sendo consenso entre eles, tratar-se de carbonato tipo B. Nos resultados encontrados na tabela1 (área 5), este pico mostrou diferença estatisticamente significativa entre os dentes decíduos e permanentes, em proporção maior para os dentes decíduos.

Os resultados desta pesquisa estão em concordância com estudo de Yuanyuan (2007) que utilizou espectroscopia Raman (laser neodímio Nd: YAG de comprimento de onda de 1.064 nm) em seis incisivos decíduos livres de cárie. Foi caracterizado o pico 1070 cm<sup>-1</sup> como carbonato tipo B. Elliot (1994) afirma que o carbonato contido no esmalte dentário consiste em 10% tipo A e 90% tipo B. Sendo que o conteúdo total de carbonato (somando-se tipo A e tipo B) é significativamente maior nos dentes decíduos (2,23%). A inclusão de carbonato torna a hidroxiapatita mais solúvel, afetando a estabilidade química e a estrutura física do esmalte dentário (SYDNEY-ZAX, MAYER, DEUTSCH, 1991; NELSON, 1981). De acordo com os resultados aqui obtidos, a presença de carbonato tipo B em maior quantidade nos dentes decíduos é sugestiva de que o esmalte do dentes decíduos possa ser menos resistente à dissolução em meio ácido pela presença em maior proporção de

carbonato quando comparada com os dentes permanentes.

Além disso, os dentes decíduos apresentam quantidade significativamente maior de carbonato do tipo A que os dentes permanentes. O total de carbonato (somatório dos carbonatos tipo A e tipo B) também foi significativamente maior nos dentes decíduos que nos permanentes conforme mostra o estudo de Clasen; Ruyter, (1997), que tinha por objetivo determinar a quantidade de carbonato nas duas diferentes posições (tipo A e tipo B) em dentes decíduos e permanentes utilizando espectroscopia infra-vermelho (FTIR). Para o autor, a diferença no conteúdo de carbonato entre os dentes decíduos e permanentes talvez seja um dos vários fatores que contribuem para a progressão mais rápida do processo de cárie em dentes decíduos. Não foram encontrados estudos pelo método da Espectroscopia Raman que mostrem a posição exata do carbonato tipo A em tecido dantário. Por isso, apenas o carbonato tipo B foi identificado na pesquisa aqui apresentada.

O carbonato, quando presente no cristal de hidroxiapatita, faz da hidroxiapatita uma forma impura do mineral. Os cristais do esmalte são formados por hidroxiapatita mineral,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , de forma que o cálcio, fosfato e ânions de hidroxila estão organizados em um padrão repetitivo na estrutura do cristal. Alguns íons fosfato podem ser substituídos por íons carbonato, caracterizando a carbonatoapatita tipo B. No entanto, há um limite de quantos carbonatos podem ser acomodados deste modo, sem romper o cristal (FEJERSKOV; KIDD, 2005; TSUDA; ARENDS, 1994).

Essas substituições podem alterar a cristalinidade, as dimensões dos cristais, a textura superficial, a estabilidade e a solubilidade da hidroxiapatita. Nas carbonatoapatitas tipo A, os íons carbonato ocupam os mesmos sites dos íons hidroxila, enquanto que nas do tipo B, os íons carbonato ocupam sítios dos íons fosfatos, provocando alteração na estabilidade da estrutura da apatita. A inclusão de carbonato da apatita torna o tecido menos resistente à dissolução em meio ácido, relacionando a alteração química do esmalte com o resultado clínico (FEATHERSTONE, 2000; CLASEN; RUYTER, 1997).

O mais importante é que a solubilidade da apatita corresponde à solubilidade

do esmalte como um tecido, uma vez que a cárie dentária está intimamente relacionada com a estabilidade mineral. Além disso, o esmalte também não é homogêneo, sendo menos solúvel na sua porção mais externa, devido a uma maior concentração de flúor e menor concentração de carbonato nos cristais que se encontram próximos à superfície externa (FEJERSKOV; KIDD, 2005).

Estudo com a técnica de Espectroscopia Raman em esmalte dentários mostrou que os picos do espectro em  $2940\text{ cm}^{-1}$ ,  $1667\text{ cm}^{-1}$ ,  $1451\text{ cm}^{-1}$  e  $1245\text{ cm}^{-1}$  foram identificados como representantes da presença de conteúdo de matéria orgânica, caracterizando a presença de CH, amida I, amida III,  $\text{CH}_2$ , respectivamente. Os resultados apresentados neste estudo encontram-se em concordância com os achados destes autores. Porém, dos compostos acima descritos, apenas os conteúdos de CH, amida I e amida III foram considerados estatisticamente significantes (Tabela 1, áreas 1-2-4) quando usados como meio de comparação entre dentes decíduos e permanentes, sendo em maior proporção para os dentes decíduos (SCHULZE *et al*, 2003; YUANYUAN; HSU, 2007),

Em Espectroscopia Raman em dentes decíduos a banda de  $2940\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde à presença de CH é a banda mais intensa do espectro e a que melhor caracteriza a presença matéria orgânica, por ser um pico mais forte que as bandas características da presença de amida (YUANYUAN; HSU, 2007). Logo, de acordo com os resultados obtidos no presente estudo, observa-se que dos compostos orgânicos encontrados nos espectros, o composto CH foi considerado o achado mais significativo, sugerindo a presença de um maior conteúdo orgânico para os dentes decíduos (tabela 1, área1)

Com relação aos diferentes tecidos do dente, o modo vibracional do composto C-H em esmalte e dentina foi estudado por Espectroscopia Raman, pois segundo Clasen; Ruyter (1997), este estiramento de CH tem o potencial de detectar diferenças tanto proteínas não-colágenas quanto proteínas colágenas. Este estudo mostra que a técnica pode ser usada para discriminar diferenças entre proteínas colágenas tipo I na dentina e a amelogenina ou outra proteína no esmalte. O pico específico da posição do colágeno tipo I na dentina encontra-se em  $2938\text{ cm}^{-1}$  e da proteína que compõe o esmalte está na posição  $2940.3\text{ cm}^{-1}$ . Seus achados

descrevem que os espectros da dentina e do cimento apresentam uma presença muito maior de matéria orgânica que o espectro do esmalte.

A concentração maior dos compostos C, H e O em dentes considerados ácido-susceptíveis, evidencia a influência da presença de matéria orgânica na susceptibilidade do esmalte ao ataque ácido. Os dentes ácido-resistentes contêm muito menos matéria orgânica e muito mais fosfato de cálcio (BESIC *et al.*, 1975). Associando-se estes achados aos do trabalho em questão, a provável explicação para a progressão da lesão de cárie ser mais acelerada na dentição decídua que na permanente está na variação do conteúdo orgânico e inorgânico.

Os dentes decíduos, devido às suas características particulares de possuir maior conteúdo orgânico e um menor conteúdo mineral prismático, mostram-se estruturalmente mais porosos e menos resistentes que o esmalte dos dentes permanentes. Evidências comprovam que a progressão da lesão de cárie é mais rápida na dentição decídua que na permanente, possivelmente pela variação na composição química, sendo possível que nos dentes decíduos haja maior espaço intercrystalinos onde essa matéria orgânica possa se alojar. Apesar de a matéria orgânica corresponder a 1% do esmalte, tem um grande potencial para controlar o caminho da difusão no esmalte, influenciando o comportamento químico do esmalte. Porém há poucos estudos sistemáticos sobre níveis de minerais em esmalte de dentes decíduos (WILSON E BEYNON, 1989; SILNESS; HEGDAHL; GUSTAVSEN, 1973)

A técnica de Espectroscopia Raman demonstrou grande potencial para a identificação de compostos orgânicos e inorgânicos no esmalte de dentes. As dificuldades encontradas com relação ao uso desta técnica são naturais por tratar-se de uma nova tecnologia em uso na Odontologia, demonstrando, obviamente, que ainda existem diversos fatores que necessitam de maiores estudos para sua aplicação profissional. No entanto, pelos resultados iniciais obtidos neste trabalho e pelos trabalhos citados observa-se a ampla utilização desta técnica em pesquisas na área da Odontologia nas análises qualitativas e quantitativas de sistemas inorgânicos e orgânicos. Porém, pode ser utilizada ainda para detectar doenças em seu estágio inicial de desenvolvimento.

## 6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e na metodologia empregada, conclui-se que:

- O esmalte dos dentes decíduos possui um conteúdo de matéria orgânica superior ao esmalte dos dentes permanentes;
- O esmalte do dentes decíduos possui um conteúdo de carbonato superior ao esmalte do dente permanente;

## 7. ANEXOS

### 7.1. Resultados da normalização das áreas dos espectros das amostras

Resultados obtidos por espectroscopia Raman em dentes decíduos e permanentes, onde os valores numéricos correspondem às áreas dos picos do espectro Raman no intervalo de  $3.000\text{ cm}^{-1}$  a  $200\text{ cm}^{-1}$ . Enquanto que leitura refere-se ao número de repetições de irradiações de cada amostra.

Tabela 2 – Dente Decíduo 1

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              |              |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            | Média        |
| Área do Espectro | 1 | 0,0129149000 | 0,0021798200 | 0,0017809600 | 0,0018678000 | 0,0017954200 | 0,0041077800 |
|                  | 2 | 0,0041948000 | 0,0009158800 | 0,0010042700 | 0,0007021990 | 0,0008392020 | 0,0015312702 |
|                  | 3 | 0,0038177100 | 0,0007890560 | 0,0010674300 | 0,0006374890 | 0,0012900700 | 0,0015203510 |
|                  | 4 | 0,0028285700 | 0,0004247630 | 0,0004943080 | 0,0008586720 | 0,0001904040 | 0,0009593434 |
|                  | 5 | 0,0072368600 | 0,0037022900 | 0,0031378100 | 0,0038586000 | 0,0034309100 | 0,0042732940 |
|                  | 6 | 0,0209541000 | 0,0111236000 | 0,0111161000 | 0,0113013000 | 0,0115046000 | 0,0131999400 |
|                  | 7 | 0,0056656500 | 0,0024543000 | 0,0028086100 | 0,0027166600 | 0,0024506000 | 0,0032191640 |
|                  | 8 | 0,0074534200 | 0,0037716500 | 0,0039683600 | 0,0037043400 | 0,0034785200 | 0,0044752580 |
|                  | 9 | 0,0278120000 | 0,0100708000 | 0,0096170500 | 0,0105093000 | 0,0109225000 | 0,0137863300 |

Tabela 3 – Dente Permanente 1

|                  |   | Leitura      |               |              |               |               |              |
|------------------|---|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1             | 2            | 3             | 4             | Média        |
| Área do Espectro | 1 | 0,0042425100 | -0,0002294330 | 0,0010936200 | 0,0000748101  | 0,0002944490  | 0,0010951912 |
|                  | 2 | 0,0011200900 | 0,0005082710  | 0,0004809750 | 0,0002290650  | -0,0001791050 | 0,0004318592 |
|                  | 3 | 0,0020082200 | 0,0006898570  | 0,0001461980 | 0,0007537050  | 0,0001996210  | 0,0007595202 |
|                  | 4 | 0,0014355100 | 0,0000830049  | 0,0004387580 | -0,0000030541 | 0,0004858060  | 0,0004880050 |
|                  | 5 | 0,0043080000 | 0,0043618000  | 0,0047723500 | 0,0048051100  | 0,0045499100  | 0,0045594340 |
|                  | 6 | 0,0139250000 | 0,0162962000  | 0,0165763000 | 0,0167005000  | 0,0164727000  | 0,0159941400 |
|                  | 7 | 0,0031085800 | 0,0040960900  | 0,0037918200 | 0,0038665500  | 0,0040992600  | 0,0037924600 |
|                  | 8 | 0,0044333700 | 0,0054240000  | 0,0052915000 | 0,0054439400  | 0,0057487500  | 0,0052683120 |
|                  | 9 | 0,0133478000 | 0,0110558000  | 0,0108570000 | 0,0114409000  | 0,0106428000  | 0,0114688600 |

Tabela 4 – Dente Decíduo 2

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              |              |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            | Média        |
| Área do Espectro | 1 | 0,0050595700 | 0,0054288700 | 0,0047740200 | 0,0052753400 | 0,0061553400 | 0,0053386280 |
|                  | 2 | 0,0014765900 | 0,0018977300 | 0,0007719140 | 0,0014689600 | 0,0018274600 | 0,0014885308 |
|                  | 3 | 0,0019153500 | 0,0023159600 | 0,0014814600 | 0,0016611800 | 0,0020814600 | 0,0018910820 |
|                  | 4 | 0,0012057700 | 0,6349900000 | 0,0011275100 | 0,0012131700 | 0,0007560420 | 0,1278584984 |
|                  | 5 | 0,0034417300 | 0,0053934100 | 0,0046901500 | 0,0047721500 | 0,0046364000 | 0,0045867680 |
|                  | 6 | 0,0099556600 | 0,0148344000 | 0,0147270000 | 0,0145514000 | 0,0149106000 | 0,0137958120 |
|                  | 7 | 0,0027180700 | 0,0038878700 | 0,0033141100 | 0,0037725300 | 0,0039700000 | 0,0035325160 |
|                  | 8 | 0,0034059700 | 0,0045949700 | 0,0052579300 | 0,0054000900 | 0,0050221700 | 0,0047362260 |
|                  | 9 | 0,0147334000 | 0,0184262000 | 0,0187808000 | 0,0172301000 | 0,0166039000 | 0,0171548800 |

Tabela 5 – Dente Permanente 2

|                  |   | Leitura      |               |              |              |               | Média        |
|------------------|---|--------------|---------------|--------------|--------------|---------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1             | 2            | 3            | 4             |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0034061500 | 0,0002762270  | 0,0004342450 | 0,0008801770 | -0,0012117300 | 0,0007570138 |
|                  | 2 | 0,0007702440 | -0,0000948877 | 0,0004934560 | 0,0002363760 | 0,0004781960  | 0,0003766769 |
|                  | 3 | 0,0010401900 | 0,0003192140  | 0,0006531430 | 0,0001869170 | 0,0004645270  | 0,0005327982 |
|                  | 4 | 0,0004358940 | -0,0002542010 | 0,0000050341 | 0,0001940210 | -0,0001858810 | 0,0000389734 |
|                  | 5 | 0,0040015700 | 0,0029027800  | 0,0025309900 | 0,0024105900 | 0,0021808900  | 0,0028053640 |
|                  | 6 | 0,0135907000 | 0,0091920400  | 0,0093518400 | 0,0093333100 | 0,0090909300  | 0,0101117640 |
|                  | 7 | 0,0032995100 | 0,0023065100  | 0,0026276500 | 0,0024125900 | 0,0022517000  | 0,0025795920 |
|                  | 8 | 0,0044726900 | 0,0034108200  | 0,0031953800 | 0,0034270500 | 0,0034149200  | 0,0035841720 |
|                  | 9 | 0,0121982000 | 0,0061883300  | 0,0062181900 | 0,0056735600 | 0,0065645400  | 0,0073685640 |

Tabela 6 – Dente Decíduo 3

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0047223700 | 0,0099496800 | 0,0094956000 | 0,0098463000 | 0,0101484000 | 0,0088324700 |
|                  | 2 | 0,0014835600 | 0,0029154000 | 0,0032713400 | 0,0024753100 | 0,0027552500 | 0,0025801720 |
|                  | 3 | 0,0019225900 | 0,0031893400 | 0,0030665000 | 0,0037558000 | 0,0031298900 | 0,0030128240 |
|                  | 4 | 0,0014670400 | 0,0020708500 | 0,0020513600 | 0,0023383300 | 0,0014020600 | 0,0018659280 |
|                  | 5 | 0,0033136800 | 0,0043539500 | 0,0043507400 | 0,0045286900 | 0,0046428200 | 0,0042379760 |
|                  | 6 | 0,0090056800 | 0,0112526000 | 0,0113832000 | 0,0112861000 | 0,0111624000 | 0,0108179960 |
|                  | 7 | 0,0021029300 | 0,0032631600 | 0,0034327000 | 0,0030989500 | 0,0034612400 | 0,0030717960 |
|                  | 8 | 0,0034408900 | 0,0039041000 | 0,0044824700 | 0,0041430200 | 0,0040543000 | 0,0040049560 |
|                  | 9 | 0,0161217000 | 0,0231400000 | 0,0229548000 | 0,0233932000 | 0,0246231000 | 0,0220465600 |

Tabela 7 – Dente Permanente 3

|                  |   | Leitura      |              |               |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2             | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0061398100 | 0,0028412300 | 0,0011798300  | 0,0017694900 | 0,0016458600 | 0,0027152440 |
|                  | 2 | 0,0020312600 | 0,0008708280 | -0,0001216190 | 0,0013199200 | 0,0006888180 | 0,0009578414 |
|                  | 3 | 0,0020344800 | 0,0001074060 | 0,0009667110  | 0,0004475800 | 0,0010102500 | 0,0009132854 |
|                  | 4 | 0,0010805100 | 0,0007825280 | 0,0002039410  | 0,0004555110 | 0,0006780320 | 0,0006401044 |
|                  | 5 | 0,0040997500 | 0,0028731300 | 0,0032735200  | 0,0027953800 | 0,0029167100 | 0,0031916980 |
|                  | 6 | 0,0123229000 | 0,0100535000 | 0,0100272000  | 0,0095804700 | 0,0099962400 | 0,0103960620 |
|                  | 7 | 0,0035218000 | 0,0028516100 | 0,0026457400  | 0,0020087300 | 0,0025483600 | 0,0027152480 |
|                  | 8 | 0,0040493000 | 0,0033648100 | 0,0032184900  | 0,0027812300 | 0,0035423000 | 0,0033912260 |
|                  | 9 | 0,0153502000 | 0,0082927100 | 0,0095831400  | 0,0097399600 | 0,0094270600 | 0,0104786140 |

Tabela 8 – Dente Decíduo 4

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0154174000 | 0,0062909800 | 0,0061553400 | 0,0049287800 | 0,0052753400 | 0,0076135680 |
|                  | 2 | 0,0040088000 | 0,0024624900 | 0,0018274600 | 0,0017473700 | 0,0014689600 | 0,0023030160 |
|                  | 3 | 0,0042789200 | 0,0013228200 | 0,0020814600 | 0,0015320100 | 0,0016611800 | 0,0021752780 |
|                  | 4 | 0,0024271400 | 0,0006621110 | 0,0007560420 | 0,0008345120 | 0,0012131700 | 0,0011785950 |
|                  | 5 | 0,0047433000 | 0,0052817000 | 0,0046364000 | 0,0044948400 | 0,0047721500 | 0,0047856780 |
|                  | 6 | 0,0115345000 | 0,0163211000 | 0,0149106000 | 0,0161557000 | 0,0145514000 | 0,0146946600 |
|                  | 7 | 0,0039008300 | 0,0036342200 | 0,0039700000 | 0,0042074800 | 0,0037725300 | 0,0038970120 |
|                  | 8 | 0,0045738600 | 0,0052078400 | 0,0050221700 | 0,0057247200 | 0,0054000900 | 0,0051857360 |
|                  | 9 | 0,0290491000 | 0,0176348000 | 0,0166039000 | 0,0167140000 | 0,0172301000 | 0,0194463800 |

Tabela 9 – Dente Permanente 4

|                  |   | Leitura      |               |               |              |               | Média        |
|------------------|---|--------------|---------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1             | 2             | 3            | 4             |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0041223100 | 0,0005011310  | 0,0005125520  | 0,0009247280 | 0,0006827280  | 0,0013486898 |
|                  | 2 | 0,0013858900 | -0,0001596790 | 0,0004313260  | 0,0002828150 | -0,0000354748 | 0,0003809754 |
|                  | 3 | 0,0020203600 | 0,0001320750  | -0,0000869547 | 0,0004822290 | 0,0004376840  | 0,0005970787 |
|                  | 4 | 0,0003972520 | 0,0003346830  | 0,0004908910  | 0,0001039060 | -0,0001688120 | 0,0002315840 |
|                  | 5 | 0,0044322400 | 0,0023438500  | 0,0022863600  | 0,0026417900 | 0,0020637600  | 0,0027536000 |
|                  | 6 | 0,0128213000 | 0,0075834000  | 0,0074480200  | 0,0074490400 | 0,0074374100  | 0,0085478340 |
|                  | 7 | 0,0038883700 | 0,0019165300  | 0,0021992900  | 0,0022696100 | 0,0018716000  | 0,0024290800 |
|                  | 8 | 0,0049150600 | 0,0025423000  | 0,0026221800  | 0,0029196900 | 0,0027599000  | 0,0031518260 |
|                  | 9 | 0,0151078000 | 0,0045736700  | 0,0058994500  | 0,0060239400 | 0,0061022700  | 0,0075414260 |

Tabela 10 – Dente Decíduo 5

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0201128000 | 0,0027099000 | 0,0052753400 | 0,0029254600 | 0,0027109300 | 0,0067468860 |
|                  | 2 | 0,0053959500 | 0,0002873060 | 0,0014689600 | 0,0005413070 | 0,0007670530 | 0,0016921152 |
|                  | 3 | 0,0053827100 | 0,0008979500 | 0,0016611800 | 0,0006861540 | 0,0005249950 | 0,0018305978 |
|                  | 4 | 0,0029902600 | 0,0009160830 | 0,0012131700 | 0,0008364170 | 0,0004827710 | 0,0012877402 |
|                  | 5 | 0,0067714500 | 0,0033055800 | 0,0047721500 | 0,0034547600 | 0,0035409500 | 0,0043689780 |
|                  | 6 | 0,0165389000 | 0,0109182000 | 0,0145514000 | 0,0108758000 | 0,0106426000 | 0,0127053800 |
|                  | 7 | 0,0047472800 | 0,0027298900 | 0,0037725300 | 0,0027080200 | 0,0028833900 | 0,0033682220 |
|                  | 8 | 0,0063311100 | 0,0038678500 | 0,0054000900 | 0,0036133800 | 0,0038196900 | 0,0046064240 |
|                  | 9 | 0,0375582000 | 0,0095854000 | 0,0172301000 | 0,0110851000 | 0,0104022000 | 0,0171722000 |

Tabela 11 – Dente Permanente 5

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0019044300 | 0,0036411800 | 0,0033360300 | 0,0040147700 | 0,0027489000 | 0,0031290620 |
|                  | 2 | 0,0008027650 | 0,0005801760 | 0,0005450160 | 0,0008311030 | 0,0007817920 | 0,0007081704 |
|                  | 3 | 0,0012191500 | 0,0013404500 | 0,0011537300 | 0,0011670000 | 0,0006980440 | 0,0011156748 |
|                  | 4 | 0,0006033220 | 0,0008529740 | 0,0005525390 | 0,0002848540 | 0,0007053360 | 0,0005998050 |
|                  | 5 | 0,0030316000 | 0,0034809200 | 0,0031516400 | 0,0030895600 | 0,0039323600 | 0,0033372160 |
|                  | 6 | 0,0100294000 | 0,0103161000 | 0,0104590000 | 0,0103131000 | 0,0102744000 | 0,0102784000 |
|                  | 7 | 0,0020714800 | 0,0021219600 | 0,0024541800 | 0,0026511100 | 0,0027702400 | 0,0024137940 |
|                  | 8 | 0,0035507100 | 0,0037011900 | 0,0035928200 | 0,0032868500 | 0,0038272200 | 0,0035917580 |
|                  | 9 | 0,0101853000 | 0,0107856000 | 0,0108438000 | 0,0101027000 | 0,0106759000 | 0,0105186600 |

Tabela 12 – Dente Decíduo 6

|                  |   | Leitura      |              |               |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2             | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0088114900 | 0,0033285000 | 0,0036746400  | 0,0029686700 | 0,0036078500 | 0,0044782300 |
|                  | 2 | 0,0029901900 | 0,0010908900 | 0,0014794500  | 0,0018349900 | 0,0010814300 | 0,0016953900 |
|                  | 3 | 0,0030016600 | 0,0010950900 | 0,0019389100  | 0,0012891800 | 0,0009130980 | 0,0016475876 |
|                  | 4 | 0,0018626400 | 0,0006642720 | -0,0000223101 | 0,0006956450 | 0,0009099450 | 0,0008220384 |
|                  | 5 | 0,0047332500 | 0,0046050700 | 0,0043942200  | 0,0050532000 | 0,0049524500 | 0,0047476380 |
|                  | 6 | 0,0131489000 | 0,0160591000 | 0,0163210000  | 0,0163217000 | 0,0160000000 | 0,0155701400 |
|                  | 7 | 0,0036794100 | 0,0045717400 | 0,0049033600  | 0,0046654500 | 0,0044073200 | 0,0044454560 |
|                  | 8 | 0,0049529300 | 0,0060456000 | 0,0059855600  | 0,0058360700 | 0,0059835600 | 0,0057607440 |
|                  | 9 | 0,0221368000 | 0,0164002000 | 0,0158204000  | 0,0168782000 | 0,0171878000 | 0,0176846800 |

Tabela 13 – Dente Permanente 6

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0024008300 | 0,0035221200 | 0,0023265300 | 0,0024586100 | 0,0033450000 | 0,0028106180 |
|                  | 2 | 0,0008042630 | 0,0013073000 | 0,0010377200 | 0,0007956340 | 0,0009861830 | 0,0009862200 |
|                  | 3 | 0,0007020090 | 0,0006591370 | 0,0006365950 | 0,0011491400 | 0,0007234710 | 0,0007740704 |
|                  | 4 | 0,0001740210 | 0,0007032870 | 0,0013934200 | 0,0004028020 | 0,0006941280 | 0,0006735316 |
|                  | 5 | 0,0048538100 | 0,0039251900 | 0,0034909200 | 0,0034825100 | 0,0039892200 | 0,0039483300 |
|                  | 6 | 0,0145570000 | 0,0122167000 | 0,0120174000 | 0,0119970000 | 0,0120353000 | 0,0125646800 |
|                  | 7 | 0,0033865600 | 0,0031089900 | 0,0034699300 | 0,0029188500 | 0,0030284200 | 0,0031825500 |
|                  | 8 | 0,0047801700 | 0,0042140600 | 0,0045497700 | 0,0045089900 | 0,0044537900 | 0,0045013560 |
|                  | 9 | 0,0106602000 | 0,0140547000 | 0,0141422000 | 0,0131244000 | 0,0119702000 | 0,0127903400 |

Tabela 14 – Dente Decíduo 7

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0074981100 | 0,0069238000 | 0,0070488200 | 0,0061681400 | 0,0065717400 | 0,0068421220 |
|                  | 2 | 0,0023029700 | 0,0026374800 | 0,0008283690 | 0,0026111500 | 0,0022150900 | 0,0021190118 |
|                  | 3 | 0,0021292300 | 0,0025070100 | 0,0014144200 | 0,0026807900 | 0,0019670800 | 0,0021397060 |
|                  | 4 | 0,0015819200 | 0,0012911800 | 0,0014101200 | 0,0015010100 | 0,0007849200 | 0,0013138300 |
|                  | 5 | 0,0029143700 | 0,0050315200 | 0,0052561000 | 0,0051670500 | 0,0050940300 | 0,0046926140 |
|                  | 6 | 0,0068322600 | 0,0149373000 | 0,0148380000 | 0,0147878000 | 0,0150681000 | 0,0132926920 |
|                  | 7 | 0,0018973500 | 0,0042114300 | 0,0040092400 | 0,0043584200 | 0,0036689600 | 0,0036290800 |
|                  | 8 | 0,0023901700 | 0,0058706700 | 0,0056439000 | 0,0059981700 | 0,0057734100 | 0,0051352640 |
|                  | 9 | 0,0130927000 | 0,0211729000 | 0,0217666000 | 0,0200727000 | 0,0201651000 | 0,0192540000 |

Tabela 15 – Dente Permanente 7

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0038521100 | 0,0055265800 | 0,0047896000 | 0,0048698300 | 0,0054725600 | 0,0049021360 |
|                  | 2 | 0,0015261400 | 0,0008779660 | 0,0016127900 | 0,0012634200 | 0,0016381800 | 0,0013836992 |
|                  | 3 | 0,0013709100 | 0,0025006400 | 0,0015888000 | 0,0013691000 | 0,0014720000 | 0,0016602900 |
|                  | 4 | 0,0009300460 | 0,0008233880 | 0,0008061380 | 0,0007158920 | 0,0007764160 | 0,0008103760 |
|                  | 5 | 0,0037463400 | 0,0037131700 | 0,0038917100 | 0,0031579000 | 0,0032054800 | 0,0035429200 |
|                  | 6 | 0,0103883000 | 0,0100392000 | 0,0102704000 | 0,0098596200 | 0,0100914000 | 0,0101297840 |
|                  | 7 | 0,0023096900 | 0,0023097100 | 0,0030471600 | 0,0027299700 | 0,0026773000 | 0,0026147660 |
|                  | 8 | 0,0034555800 | 0,0034353400 | 0,0039360800 | 0,0042631500 | 0,0033908700 | 0,0036962040 |
|                  | 9 | 0,0121463000 | 0,0163243000 | 0,0164577000 | 0,0153889000 | 0,0156397000 | 0,0151913800 |

Tabela 16 – Dente Decíduo 8

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0080311200 | 0,0075244900 | 0,0084490700 | 0,0062566100 | 0,0067101400 | 0,0073942860 |
|                  | 2 | 0,0028348400 | 0,0016083700 | 0,0024108800 | 0,0021760300 | 0,0023613800 | 0,0022783000 |
|                  | 3 | 0,0026446400 | 0,0021541300 | 0,0022129100 | 0,0028799600 | 0,0018392900 | 0,0023461860 |
|                  | 4 | 0,0016909600 | 0,0013457200 | 0,0020265300 | 0,0022457200 | 0,0013861800 | 0,0017390220 |
|                  | 5 | 0,0055223500 | 0,0074895200 | 0,0068369800 | 0,0071129900 | 0,0067935900 | 0,0067510860 |
|                  | 6 | 0,0148794000 | 0,0206932000 | 0,0209251000 | 0,0211854000 | 0,0207855000 | 0,0196937200 |
|                  | 7 | 0,0044627900 | 0,0056027600 | 0,0049293900 | 0,0057463500 | 0,0052441400 | 0,0051970860 |
|                  | 8 | 0,0058883700 | 0,0076177000 | 0,0074967700 | 0,0080390900 | 0,0081545200 | 0,0074392900 |
|                  | 9 | 0,0245517000 | 0,0330041000 | 0,0330637000 | 0,0329630000 | 0,0318821000 | 0,0310929200 |

Tabela 17 – Dente Permanente 8

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0051718800 | 0,0035198100 | 0,0037651100 | 0,0029140600 | 0,0031007100 | 0,0036943140 |
|                  | 2 | 0,0014568300 | 0,0011174900 | 0,0013552700 | 0,0014853100 | 0,0010101600 | 0,0012850120 |
|                  | 3 | 0,0018260700 | 0,0005894670 | 0,0005762240 | 0,0017664900 | 0,0013024900 | 0,0012121482 |
|                  | 4 | 0,0009707740 | 0,0007677640 | 0,0002992930 | 0,0005879200 | 0,0009013530 | 0,0007054208 |
|                  | 5 | 0,0042986600 | 0,0030918000 | 0,0029849000 | 0,0031322000 | 0,0033487800 | 0,0033712680 |
|                  | 6 | 0,0117169000 | 0,0091933500 | 0,0094557200 | 0,0093064400 | 0,0094556100 | 0,0098256040 |
|                  | 7 | 0,0033700100 | 0,0022725200 | 0,0024804700 | 0,0023425800 | 0,0025462100 | 0,0026023580 |
|                  | 8 | 0,0043575200 | 0,0033219200 | 0,0034947400 | 0,0035336800 | 0,0036941000 | 0,0036803920 |
|                  | 9 | 0,0150444000 | 0,0136043000 | 0,0119930000 | 0,0122864000 | 0,0126814000 | 0,0131219000 |

Tabela 18 – Dente Decíduo 9

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0030966400 | 0,0040037000 | 0,0042128400 | 0,0038929600 | 0,0035209600 | 0,0037454200 |
|                  | 2 | 0,0005510240 | 0,0006526420 | 0,0010033200 | 0,0012210400 | 0,0008930820 | 0,0008642216 |
|                  | 3 | 0,0017309600 | 0,0011899500 | 0,0008740390 | 0,0004557070 | 0,0009698100 | 0,0010440932 |
|                  | 4 | 0,0009779660 | 0,0008895260 | 0,0004540220 | 0,0000720998 | 0,0010990400 | 0,0006985308 |
|                  | 5 | 0,0026790400 | 0,0034429300 | 0,0038143400 | 0,0033477000 | 0,0036045800 | 0,0033777180 |
|                  | 6 | 0,0074296400 | 0,0119276000 | 0,0117842000 | 0,0122005000 | 0,0120656000 | 0,0110815080 |
|                  | 7 | 0,0017147000 | 0,0034978100 | 0,0028094800 | 0,0031188700 | 0,0032237500 | 0,0028729220 |
|                  | 8 | 0,0024609700 | 0,0043117800 | 0,0043831700 | 0,0043357300 | 0,0040056600 | 0,0038994620 |
|                  | 9 | 0,0092109300 | 0,0125618000 | 0,0115579000 | 0,0120580000 | 0,0129789000 | 0,0116735060 |

Tabela 19 – Dente Permanente 9

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0201128000 | 0,0036799000 | 0,0048936200 | 0,0039491300 | 0,0041008000 | 0,0073472500 |
|                  | 2 | 0,0053959500 | 0,0016463400 | 0,0019823600 | 0,0016201500 | 0,0015923600 | 0,0024474320 |
|                  | 3 | 0,0053827100 | 0,0019933000 | 0,0016555000 | 0,0018856500 | 0,0013341700 | 0,0024502660 |
|                  | 4 | 0,0029902600 | 0,0007865020 | 0,0008678170 | 0,0008296530 | 0,0007719540 | 0,0012492372 |
|                  | 5 | 0,0067714500 | 0,0037744600 | 0,0038877900 | 0,0041130500 | 0,0041642400 | 0,0045421980 |
|                  | 6 | 0,0165389000 | 0,0126722000 | 0,0128769000 | 0,0127158000 | 0,0132565000 | 0,0136120600 |
|                  | 7 | 0,0047472800 | 0,0029419200 | 0,0037977300 | 0,0030073700 | 0,0036104800 | 0,0036209560 |
|                  | 8 | 0,0063311100 | 0,0047481600 | 0,0044229200 | 0,0048142700 | 0,0043604700 | 0,0049353860 |
|                  | 9 | 0,0375582000 | 0,0174269000 | 0,0167315000 | 0,0161869000 | 0,0166089000 | 0,0209024800 |

Tabela 20 – Dente Decíduo 10

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0053987900 | 0,0059659100 | 0,0055799400 | 0,0070340800 | 0,0071434200 | 0,0062244280 |
|                  | 2 | 0,0016523500 | 0,0022648500 | 0,0019708100 | 0,0017632000 | 0,0016863200 | 0,0018675060 |
|                  | 3 | 0,0018511800 | 0,0023640600 | 0,0021010900 | 0,0023055500 | 0,0014925700 | 0,0020228900 |
|                  | 4 | 0,0008123660 | 0,0013682000 | 0,0005611600 | 0,0013356900 | 0,0009976480 | 0,0010150128 |
|                  | 5 | 0,0025874600 | 0,0060837400 | 0,0061217400 | 0,0057015700 | 0,0054427500 | 0,0051874520 |
|                  | 6 | 0,0096642800 | 0,0179248000 | 0,0180233000 | 0,0183409000 | 0,0179892000 | 0,0163884960 |
|                  | 7 | 0,0023111000 | 0,0046775900 | 0,0045127700 | 0,0036972800 | 0,0049903100 | 0,0040378100 |
|                  | 8 | 0,0031931900 | 0,0063723100 | 0,0061607900 | 0,0059620000 | 0,0064936800 | 0,0056363940 |
|                  | 9 | 0,0114291000 | 0,0188909000 | 0,0200333000 | 0,0197139000 | 0,0193087000 | 0,0178751800 |

Tabela 21 – Dente Permanente 10

|                  |   | Leitura       |              |               |              |               | Média         |
|------------------|---|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
|                  |   | 0             | 1            | 2             | 3            | 4             |               |
| Área do Espectro | 1 | 0,0008409640  | 0,0012216200 | 0,0007188540  | 0,0013681300 | 0,0006801220  | 0,0009659380  |
|                  | 2 | 0,0002336950  | 0,0000611250 | -0,0000239619 | 0,0006998710 | 0,0002347170  | 0,0002410892  |
|                  | 3 | 0,0005685140  | 0,0001443780 | -0,0000192093 | 0,0009754860 | 0,0007986950  | 0,0004935727  |
|                  | 4 | -0,0001637080 | 0,0000258880 | 0,0003872530  | 0,0000918401 | -0,0004537670 | -0,0000224988 |
|                  | 5 | 0,0030891000  | 0,0041974100 | 0,0039330600  | 0,0036917700 | 0,0040143100  | 0,0037851300  |
|                  | 6 | 0,0111876000  | 0,0130549000 | 0,0128721000  | 0,0129614000 | 0,0128023000  | 0,0125756600  |
|                  | 7 | 0,0022416600  | 0,0024321300 | 0,0029545700  | 0,0033398400 | 0,0034581700  | 0,0028852740  |
|                  | 8 | 0,0035547300  | 0,0040263200 | 0,0039523000  | 0,0044306100 | 0,0045857600  | 0,0041099440  |
|                  | 9 | 0,0076703100  | 0,0126544000 | 0,0119618000  | 0,0122780000 | 0,0124524000  | 0,0114033820  |

Tabela 22 - Dente Decíduo 11

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0101709000 | 0,0046154400 | 0,0055132200 | 0,0051786700 | 0,0053835400 | 0,0061723540 |
|                  | 2 | 0,0023300300 | 0,0013819400 | 0,0010479900 | 0,0006639280 | 0,0013685000 | 0,0013584776 |
|                  | 3 | 0,0019091100 | 0,0006766300 | 0,0012373300 | 0,0003568260 | 0,0009956870 | 0,0010351166 |
|                  | 4 | 0,0011386800 | 0,0014412400 | 0,0010369600 | 0,0004976180 | 0,0010357200 | 0,0010300436 |
|                  | 5 | 0,0051298100 | 0,0032296700 | 0,0036819000 | 0,0029926000 | 0,0038081500 | 0,0037684260 |
|                  | 6 | 0,0175629000 | 0,0113424000 | 0,0113018000 | 0,0115000000 | 0,0114164000 | 0,0126247000 |
|                  | 7 | 0,0042772400 | 0,0024577700 | 0,0027106600 | 0,0028152700 | 0,0028548800 | 0,0030231640 |
|                  | 8 | 0,0051800600 | 0,0039654300 | 0,0037218400 | 0,0040565000 | 0,0037935100 | 0,0041434680 |
|                  | 9 | 0,0155761000 | 0,0124909000 | 0,0128845000 | 0,0114339000 | 0,0126269000 | 0,0130024600 |

Tabela 23 – Dente Permanente 11

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0020395100 | 0,0012154600 | 0,0016450200 | 0,0015579900 | 0,0016421100 | 0,0016200180 |
|                  | 2 | 0,0004929010 | 0,0006409140 | 0,0007958080 | 0,0004378080 | 0,0009200110 | 0,0006574884 |
|                  | 3 | 0,0012744900 | 0,0009341030 | 0,0004573340 | 0,0006848580 | 0,0004338340 | 0,0007569238 |
|                  | 4 | 0,0005906820 | 0,0004277660 | 0,0001639280 | 0,0005808840 | 0,0000912046 | 0,0003708929 |
|                  | 5 | 0,0036392600 | 0,0028209900 | 0,0032817300 | 0,0029198700 | 0,0033510900 | 0,0032025880 |
|                  | 6 | 0,0114004000 | 0,0101496000 | 0,0106005000 | 0,0103464000 | 0,0105119000 | 0,0106017600 |
|                  | 7 | 0,0031041400 | 0,0021993100 | 0,0023162500 | 0,0026848300 | 0,0025861100 | 0,0025781280 |
|                  | 8 | 0,0040482900 | 0,0033281100 | 0,0035798600 | 0,0038192000 | 0,0035945900 | 0,0036740100 |
|                  | 9 | 0,0109530000 | 0,0101854000 | 0,0102525000 | 0,0096488600 | 0,0095249400 | 0,0101129400 |

Tabela 24 – Dente Decíduo 12

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0040050500 | 0,0067219300 | 0,0066906600 | 0,0064822500 | 0,0071060400 | 0,0062011860 |
|                  | 2 | 0,0008679580 | 0,0015122000 | 0,0016946700 | 0,0014192600 | 0,0014048100 | 0,0013797796 |
|                  | 3 | 0,0005707720 | 0,0014598500 | 0,0009953660 | 0,0014798100 | 0,0017141400 | 0,0012439876 |
|                  | 4 | 0,0004076240 | 0,0007183720 | 0,0011383500 | 0,0005816870 | 0,0009745640 | 0,0007641194 |
|                  | 5 | 0,0024272500 | 0,0045892800 | 0,0053555900 | 0,0052126700 | 0,0055099300 | 0,0046189440 |
|                  | 6 | 0,0082441400 | 0,0167190000 | 0,0166759000 | 0,0165496000 | 0,0164077000 | 0,0149192680 |
|                  | 7 | 0,0021105600 | 0,0039665800 | 0,0045444600 | 0,0045947800 | 0,0037138500 | 0,0037860460 |
|                  | 8 | 0,0028677100 | 0,0050563100 | 0,0061476500 | 0,0056910600 | 0,0053647000 | 0,0050254860 |
|                  | 9 | 0,0083272700 | 0,0172355000 | 0,0170991000 | 0,0181681000 | 0,0158978000 | 0,0153455540 |

Tabela 25 – Dente Permanente 12

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0052941900 | 0,0040995000 | 0,0044539100 | 0,0045202700 | 0,0040441700 | 0,0044824080 |
|                  | 2 | 0,0015370800 | 0,0015180800 | 0,0019238100 | 0,0018825700 | 0,0019523800 | 0,0017627840 |
|                  | 3 | 0,0015483800 | 0,0013716500 | 0,0016453100 | 0,0016124100 | 0,0015573900 | 0,0015470280 |
|                  | 4 | 0,0010304700 | 0,0002159060 | 0,0010464800 | 0,0014030000 | 0,0009274840 | 0,0009246680 |
|                  | 5 | 0,0040700400 | 0,0052329700 | 0,0038290700 | 0,0044928300 | 0,0037134700 | 0,0042676760 |
|                  | 6 | 0,0129172000 | 0,0134435000 | 0,0133842000 | 0,0137512000 | 0,0137059000 | 0,0134404000 |
|                  | 7 | 0,0031042300 | 0,0036956300 | 0,0032231900 | 0,0030961000 | 0,0031778200 | 0,0032593940 |
|                  | 8 | 0,0045698900 | 0,0046608800 | 0,0044171200 | 0,0043434100 | 0,0046254100 | 0,0045233420 |
|                  | 9 | 0,0157539000 | 0,0168648000 | 0,0164243000 | 0,0167068000 | 0,0157073000 | 0,0162914200 |

Tabela 26 – Dente Decíduo 13

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0039939300 | 0,0029181000 | 0,0041707000 | 0,0044622700 | 0,0035770300 | 0,0038244060 |
|                  | 2 | 0,0011084400 | 0,0013218800 | 0,0009931770 | 0,0010251200 | 0,0009694110 | 0,0010836056 |
|                  | 3 | 0,0007201730 | 0,0012847400 | 0,0007206170 | 0,0008028690 | 0,0012042400 | 0,0009465278 |
|                  | 4 | 0,0006429650 | 0,0001532410 | 0,0009159380 | 0,0007561380 | 0,0005950280 | 0,0006126620 |
|                  | 5 | 0,0022440500 | 0,0031744100 | 0,0032335800 | 0,0032652200 | 0,0037654800 | 0,0031365480 |
|                  | 6 | 0,0076191600 | 0,0106267000 | 0,0105703000 | 0,0111504000 | 0,0111437000 | 0,0102220520 |
|                  | 7 | 0,0012923100 | 0,0023658000 | 0,0021852200 | 0,0026702200 | 0,0023517000 | 0,0021730500 |
|                  | 8 | 0,0019367000 | 0,0038658400 | 0,0032698000 | 0,0035460300 | 0,0037763700 | 0,0032789480 |
|                  | 9 | 0,0073690200 | 0,0134756000 | 0,0134624000 | 0,0138196000 | 0,0128755000 | 0,0122004240 |

Tabela 27 – Dente Permanente 13

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0039732700 | 0,0046883400 | 0,0043667200 | 0,0049380300 | 0,0041446100 | 0,0044221940 |
|                  | 2 | 0,0009217320 | 0,0021521100 | 0,0014794800 | 0,0014803600 | 0,0013657000 | 0,0014798764 |
|                  | 3 | 0,0013868900 | 0,0012650100 | 0,0014740300 | 0,0016066900 | 0,0017593400 | 0,0014983920 |
|                  | 4 | 0,0008099200 | 0,0018429200 | 0,0013273100 | 0,0007847480 | 0,0013621200 | 0,0012254036 |
|                  | 5 | 0,0032243200 | 0,0037443100 | 0,0038278100 | 0,0032550400 | 0,0031343500 | 0,0034371660 |
|                  | 6 | 0,0095508300 | 0,0105290000 | 0,0108192000 | 0,0105549000 | 0,0104292000 | 0,0103766260 |
|                  | 7 | 0,0025750700 | 0,0028843200 | 0,0028850900 | 0,0029896000 | 0,0023985900 | 0,0027465340 |
|                  | 8 | 0,0032999000 | 0,0039682100 | 0,0040235600 | 0,0041066300 | 0,0039330700 | 0,0038662740 |
|                  | 9 | 0,0112583000 | 0,0158269000 | 0,0146261000 | 0,0155387000 | 0,0159314000 | 0,0146362800 |

Tabela 28 – Dente Decíduo 14

|                  |   | Leitura      |              |              |              |              | Média        |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3            | 4            |              |
| Área do Espectro | 1 | 0,0068202100 | 0,0031226000 | 0,0025315000 | 0,0036084000 | 0,0019845600 | 0,0036134540 |
|                  | 2 | 0,0021428600 | 0,0020549900 | 0,0012568700 | 0,0001156220 | 0,0015844700 | 0,0014309624 |
|                  | 3 | 0,0018766000 | 0,0009616420 | 0,0009987930 | 0,0006208450 | 0,0004982250 | 0,0009912210 |
|                  | 4 | 0,0011325600 | 0,0001583640 | 0,0013487800 | 0,0013846700 | 0,0005331120 | 0,0009114972 |
|                  | 5 | 0,0049860400 | 0,0050370900 | 0,0045091800 | 0,0047242300 | 0,0043778500 | 0,0047268780 |
|                  | 6 | 0,0149765000 | 0,0154266000 | 0,0152630000 | 0,0150243000 | 0,0149967000 | 0,0151374200 |
|                  | 7 | 0,0039058200 | 0,0036327800 | 0,0040414000 | 0,0036141400 | 0,0037943500 | 0,0037976980 |
|                  | 8 | 0,0052819000 | 0,0054098900 | 0,0051926300 | 0,0051149500 | 0,0057103500 | 0,0053419440 |
|                  | 9 | 0,0163947000 | 0,0160995000 | 0,0148989000 | 0,0165054000 | 0,0164046000 | 0,0160606200 |

Tabela 29 – Dente Permanente 14

|                  |   | Leitura      |               |               |              |               |              |
|------------------|---|--------------|---------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1             | 2             | 3            | 4             | Média        |
| Área do Espectro | 1 | 0,0019239300 | 0,0011134600  | 0,0008705670  | 0,0010126000 | 0,0008049760  | 0,0011451066 |
|                  | 2 | 0,0007602730 | -0,0000045661 | 0,0001695950  | 0,0005519140 | 0,0002888830  | 0,0003532198 |
|                  | 3 | 0,0004154760 | 0,0004501440  | -0,0000150058 | 0,0008385300 | -0,0000613796 | 0,0003255529 |
|                  | 4 | 0,0002128620 | 0,0000975495  | 0,0000361463  | 0,0001617080 | -0,0001544530 | 0,0000707626 |
|                  | 5 | 0,0023880800 | 0,0021750700  | 0,0022518000  | 0,0023044600 | 0,0025490300  | 0,0023336880 |
|                  | 6 | 0,0075964700 | 0,0075366300  | 0,0074945200  | 0,0074291200 | 0,0073258200  | 0,0074765120 |
|                  | 7 | 0,0018535000 | 0,0020099400  | 0,0017638500  | 0,0018868500 | 0,0017035000  | 0,0018435280 |
|                  | 8 | 0,0025505400 | 0,0029438400  | 0,0022183400  | 0,0027515400 | 0,0025533800  | 0,0026035280 |
|                  | 9 | 0,0070715400 | 0,0066047000  | 0,0068892300  | 0,0071535600 | 0,0063471200  | 0,0068132300 |

Tabela 30 - Dente Decíduo 15

|                  |   | Leitura      |              |              |               |              |              |
|------------------|---|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2            | 3             | 4            | Média        |
| Área do Espectro | 1 | 0,0056423800 | 0,0046601600 | 0,0046244000 | 0,0049714400  | 0,0044642800 | 0,0048725320 |
|                  | 2 | 0,0007518100 | 0,0011554100 | 0,0006247570 | 0,0009748350  | 0,0009383110 | 0,0008890246 |
|                  | 3 | 0,0009304510 | 0,0006979510 | 0,0009000680 | 0,0009080420  | 0,0006450190 | 0,0008163062 |
|                  | 4 | 0,0004204170 | 0,0004284170 | 0,0006863730 | -0,0000324754 | 0,0002508480 | 0,0003507159 |
|                  | 5 | 0,0028109900 | 0,0025406700 | 0,0028883500 | 0,0029836300  | 0,0029323700 | 0,0028312020 |
|                  | 6 | 0,0082033200 | 0,0099595000 | 0,0095622500 | 0,0096298900  | 0,0097262600 | 0,0094162440 |
|                  | 7 | 0,0013688500 | 0,0019137300 | 0,0019566600 | 0,0025883700  | 0,0023500300 | 0,0020355280 |
|                  | 8 | 0,0021419700 | 0,0029217600 | 0,0029730600 | 0,0028909200  | 0,0032075700 | 0,0028270560 |
|                  | 9 | 0,0056091300 | 0,0080219700 | 0,0086698300 | 0,0081513400  | 0,0083892100 | 0,0077682960 |

Tabela 31 – Dente Permanente 15

|                  |   | Leitura      |              |               |               |              |              |
|------------------|---|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
|                  |   | 0            | 1            | 2             | 3             | 4            | Média        |
| Área do Espectro | 1 | 0,0013786300 | 0,0006656540 | 0,0009050560  | 0,0003188100  | 0,0010662900 | 0,0008668880 |
|                  | 2 | 0,0003604490 | 0,0009215100 | 0,0000649375  | 0,0006071540  | 0,0002706040 | 0,0004449309 |
|                  | 3 | 0,0006455170 | 0,0004107540 | 0,0006132930  | 0,0002299450  | 0,0005930770 | 0,0004985172 |
|                  | 4 | 0,0001396710 | 0,0002433300 | -0,0001542620 | -0,0001759170 | 0,0002376430 | 0,0000580930 |
|                  | 5 | 0,0025060000 | 0,0027986300 | 0,0030073200  | 0,0028837200  | 0,0025935400 | 0,0027578420 |
|                  | 6 | 0,0078483400 | 0,0084717100 | 0,0085247400  | 0,0085107200  | 0,0083797100 | 0,0083470440 |
|                  | 7 | 0,0015270400 | 0,0022080800 | 0,0018399600  | 0,0021769900  | 0,0021616800 | 0,0019827500 |
|                  | 8 | 0,0023514500 | 0,0030129200 | 0,0028769900  | 0,0029643000  | 0,0025779800 | 0,0027567280 |
|                  | 9 | 0,0063511000 | 0,0068596500 | 0,0070789000  | 0,0073538600  | 0,0078420500 | 0,0070971120 |

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, G.F; BUZALAF, M.A.R; FARIA, F.A.C; GRANJEIRO, J.M.; TORRES, S.A; LARA, V. S; OLIVEIRA, D. T. Mecanismos biológicos e influencia de fatores ambientais na fluorose dentária e a participação do flúor na prevenção da cárie. Revisão de literatura. Rev. FOB, v.7,n.3/4, p.63-70, jul./dez. 1999.

BERKOVITZ B.K.B.; HOLLAND G.R.; MOXHAM B.J. Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal. 3º ed. Artmed editora. 2004.

BESIC, F.C; BAYARD, M; WIEMANN, Jr. M.R; BURRELL, K. H. Composition and structure of dental enamel: elemental composition and crystalline structure of dental enamel as they relate to its solubility. JADA, vol. 91, september, 1975.

CLASEN, A.B.S.; RUYTER, I. E. Quantitative determination of type A and type B carbonate in human deciduous and permanente enamel by means of Fourier Transform Infrared Spectrometry

DUGAL, M.S.; CHAWLA, H.S.; CURZON, M.E.J. A study of the relationship between trace elements in saliva and dental caries in children. Archs oral Biol v.36, n. 12, p.881-884, 1991.

EISENMANN, D. R. Estrutura do Esmalte. In: TEN CATE, A. R. Histologia Bucal-Desenvolvimento, Estrutura e Função. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap.11, p. 2005-221.

ELLIOT, J.C. Determination of the mineral distribution in calcified tissue with X-rays. In: \_ Tooth enamel IV, Fearnhead RW, Suga S, editors. Elsevier Science Publishers B. V., p.24-27, 1984.

FAVA, M., MYAKI, S. I., RAMOS, C.J., WATANABE. Scanning electron microscopy observations of the prismless layer in fissures of erupted primary molars. Pós-Grad. Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos, v.2 n.2, p., jul./dez., 1999.

FEATHERSTONE J.D.B. Caries detection and prevention with laser energy. Dent

Clin North Am 2000; 44 (4): 955-969.

FEJERSKOV O.; KIDD E. Cárie Dentária: A doença e seu tratamento clínico. 1ª ed. Editora Santos. 2005

FEJERSKOV, O.; JOSEPHSEN, K.; NYVAD, B. Surfaceultra structure of unerupted mature human enamel. Caries Res., v.18, p.302-14, 1989.

FELSZEGHY, S. Type X collagen in human enamel development: a possible role in mineralization. Acta Odontol Scand, v.58, 2000.

GAMA, F. G. V; Desenvolvimento, formação e composição do esmalte dentário. Monografia de Curso de Especialização, Associação Brasileira de Odontologia-DF, 2002.

GASGA, J. R. Estudio del esmalte dental humano por microscopia electrónica y técnicas afines. Rev. LatinAm. Met. Mat., dez. 2001, vol.21, no.2, p.81-85. ISSN 0255-6952.

GILCHRIST, F.; SANTINI, A.; HARLEY, K.; DEERY, CHRISTOPHER. The use of micro-Raman spectroscopy to differentiate between sound and eroded primary enamel. International Journal of Paediatric Dentistry ; 17, -274-280, 2007

GLIMCHER, M. J. ; LEVINE, P. T.; BONAR, L. C. Morfological and biochemical considerations in structural studies of the organic matrix of enamel. J Ultrastructure Research, v. 13, p. 281-295, 1965.

GUIMARÃES G. S; BRUGNERA A.; BOLOGNESE A. M. Laser Argônio na Ortodontia. J Bras Ortodont Ortop Facial 2006; 11 (64): 400-405.

IMPARATO J.C.P; MENOLI A.P.V; FANCHIN P.T; DUARTE D.A; FERREIRA S.L. Nutrição e desenvolvimento dentário. Biol. Saúde, Ponta Grossa, 9 (2): 33-40, jun. 2003.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. Esmalte. In: Histologia e Embriologia Oral. São Paulo: Panamericana. 1999. Cap. 8, p. 237-279

LEAL, S. C. In: TOLEDO. Fundamentos para a prática clínica. 3<sup>o</sup> edição. Editorial Premier. 2005.

MAVROPOULOS, E. A hidroxiapatita como absorvedor de metais. Mestrado Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 1999. 105 p.

MERGULHÃO, R. C. R, PACHECO M.T.; BRUGNERA JÚNIOR A. PÉCORÁ D. J.; MAGALHÃES E.E. Análise in vitro do aumento da temperatura de dentes decíduos durante a irradiação com laser Er: YAG. Rev Ibero-am Odontopediatr Odontol Bebê 2006; 9 (50): 272-283.

NELSON D.G.A. The influence of carbonate on the atomic structure and reactivity of hydroxiapatite. J Dent Res 1981; 60: 1621-9

NILSSON, T. et al. Differences in co-variation inorganic elements in the bulk and surface of human deciduous enamel: an induction analysis study. Connective Tissue Research v. 38, n.1-4, p. 81-89, 1998.

PEREIRA, R.S.; Análise da variação catiônica no esmalte dental e a cárie. Dissertação de mestrado, Brasília: faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, 2005.

REITZNEROVÁ, E.; AMARASIRIWAARDENA, D.; KOPCAKOVÁ, M.; BARNES, R.M. Determination of some trace elements in human tooth enamel Fresenius J Anal Chem v. 367, p. 748-754, 2000.

RIBEIRO, M. F.; SATHAIAH, S.; PACHECO, M. T. Diagnóstico não-invasivo de tecidos dentários através da utilização da Espectroscopia Raman. Memoriais III Congresso Latinoamericano de Engenharia Biomédica, Habana, 2001.

SALEH J., WILLKE L. W., BASSANI I.A., KRAETHER L., MOLZ R. F., SANTOS L. A. Obtenção e avaliação de hidroxiapatita in vivo. XVI Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Porto Alegre, 2004.

SARAWY, M.; BHUSSRY, B.R. Desenvolvimento e crescimento dos dentes. In: BHASKAR, S.N. Histologia e Embriologia Oral de Orban. 10 ed. Artes Médicas.. Cap. 2, p. 27 a 49, 1989.

SCHULZE, K. A.; BALOOCH, G; MARSHALL, S.J. M. Micro-Raman spectroscopic investigation of dental calcified tissues. J Biomed Mater Res 69 A : 286-293, 2004

SILNESS, J.; HEGDAHL, T.; GUSTAVSEN, F. Area of the organic inorganic interface of dental enamel. Acta Odontol Scand, Oslo, v.31, n.2, p. 123-129, 1973.

SKOOG, D. A. ; HOLLER, F. J; NIEMAN, T. A. Princípios de Análise Instrumental. 5ª ed. Bookman, 2002

SMITH, C.E. Cellular and chemical events during enamel maturation. Crit. Rev. Oral Biol. Med., v.9, n.2, p.128-61, 1998.

SOUZA F.B; PACHECO M. T. T.; VILA VERDE, A. B; SILVEIRA JR. L.; MARCOS R.L; LOPES-MARTINS, R.A. Avaliação do ácido láctico intramuscular através da espectroscopia Raman: novas perspectivas em medicina do esporte. Rev Bras Med Esporte vol.9 nº 6 Niterói Nov./Dez.2003

SYDNEY-ZAX, M.; MAYER, I.; DEUTSCH, D. Carbonate content in developing human and bovine enamel. J Dent Res, v. 70, n.5, p.913-916, May, 1991.

TEN CATE, A. R. Oral histology: Developmente Structure and Function. 5º ed. St Louis. Mosby, 2001.

TSUDA H.; ARENDS J. Orientational Micro-Raman Spectroscopy on Hidroxyapatite Single Crystals and human Enamel Crystallites. J Dent Res 73(11): 1703-1710, November, 1994.

TSUDA H.; ARENDS J. Raman Spectroscopy in Dental Research: a short review of recent studies. *Adv Dent Res* 11(4): 539-547, November, 1997.

WILSON P.R., BEYNON A. D. Mineralization differences between human deciduous and permanent measured by quantitative microradiograph. *Archs oral Biol.* v. 34, n. 2, p. 85-88, 1989.

YUANYUAN L., HSU, C. S. Laser-induced compositional changes on enamel: A FT-Raman study. *Journal of dentistry* 35 (2007) 226-230, 2007.

ZEICHNER-DAVID, M et al. Control of ameloblast differentiation. *Int J Dev Biol*, v. 39, p. 69-92, 1995.