

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINA DEA BRUZAMOLIN

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO PROTETOR NO ESMALTE BOVINO DA
PASTA DE VAGEM E DO GEL DE FOLHA DE YACON FRENTE A UM ALTO
DESAFIO EROSIVO**

CURITIBA
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINA DEA BRUZAMOLIN

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO PROTETOR NO ESMALTE BOVINO DA
PASTA DE VAGEM E DO GEL DE FOLHA DE YACON FRENTE A UM ALTO
DESAFIO EROSIVO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia, área de concentração Saúde bucal durante infância e adolescência, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial á obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof. Dra. Maria Lúcia Masson.

Curitiba
2012

Bruzamolin, Carolina Dea

Avaliação *in vitro* do efeito protetor no esmalte dentário bovino da pasta de vagem e do gel de folha de yacon frente a um alto desafio erosivo / Carolina Dea Bruzamolin – Curitiba, 2012.

69 f.: il. (algumas color.); 30 cm.

Orientadora: Professora Dra. Maria Lúcia Masson
Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. Erosão dentária. 2. Prevenção e controle. 3. Esmalte dentário. 4. Alimentos I. Maria Lúcia Masson. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 617.6

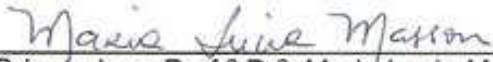
TERMO DE APROVAÇÃO

CAROLINA DEA BRUZAMOLIN

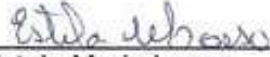
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO

AVALIAÇÃO IN VITRO DO EFEITO PROTETOR NO ESMALTE BOVINO DA PASTA DE VAGEM E DO GEL DE FOLHA DE YACON FRENTE A UM ALTO DESAFIO EROSIVO

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Saúde Bucal durante a Infância e Adolescência, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:


Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Maria Lucia Masson
Programa de Pós-graduação em Odontologia, UFPR


Prof. Dr. Fabian Calixto Fraiz
Programa de Pós-graduação em Odontologia, UFPR


Prof.^a Dr.^a. Estela Maris Losso
Programa de Pós-graduação em Odontologia Clínica - UP

Curitiba, 21 de março de 2012.

Dedico toda minha vitória:

Aos meus pais, **Edson e Sônia** e aos meus irmãos **Camila e Rafael**, por toda compreensão, apoio, por acreditarem em mim e sempre ao meu lado me dão forças para seguir em frente! E sem vocês nada seria possível!

Dedico também ao meu noivo, **Guilherme**, pois sem sua ajuda, força, total apoio, amizade e dedicação, esse objetivo não estaria completo!

Muito obrigada!

Agradeço....

.... a **Deus** por me dar a vida, oportunidades únicas e me fazer acreditar que tudo que mais desejamos é com muita luta e perseverança que alcançamos. Tudo é possível quando os sonhos se tornam maiores do que o simples fato de sonhar.

....aos meus sogros, **Leila e Celso**, e a família **Arruda Santos** por sempre me apoiarem, estimularem e para que eu não desista nunca.

....ao **programa de Pós Graduação em Odontologia da UFPR** pela oportunidade de abrir as portas e me permitir cursar o mestrado.

....a professora e minha orientadora Dra. **Maria Lucia Masson**. O aprendizado foi constante, as batalhas foram vencidas e o resultado foi satisfatório. Agradeço por me fazer perceber que posso ir além da odontologia, pois ser dentista é muito mais do que estar por trás de bocas e dentes. Obrigada!!!!

...aos colegas de mestrado, **Anna Clara, Cassiano, Natalia, Gabriela, Anyele, Judith, Patricia, Marcos, Sérgio, Ilana, Fabiana, Renata e Karine**, por todos os momentos agradáveis, boas risadas e toda ajuda que deram em todo curso.

...aos professores **Dr. Fabian Calixto Fraiz , Dr. José Miguel Amenábar Céspedes e Dra. Estela Maris Losso** por todas as importantes considerações na banca de qualificação e na banca de defesa, que com certeza trouxe melhorias ao trabalho.

...aos professores da Odontopediatria doutores **Renato Cordeiro Gugisch, Fernanda de Moraes Ferreira, José Vitor N. B. Menezes** por me permitirem estar na clinica próximo aos alunos e próximos dos pequenos pacientes que é tão satisfatório em atender.

...a todos os professores do curso de Mestrado, pelas aulas, compartilhamento das suas experiências e aprendizado para que possa seguir em frente com a carreira acadêmica.

....a todos meus amigos que entenderam muitas vezes a minha ausência mas que ao final estão comemorando junto + essa vitória.

....ao mestre **Claudio Marcelo**, que ajudou a desvendar os segredos da estatísticas e obter resultados de grande importância para este trabalho.

...aos professores **Dr. Obdúlio Gomes Miguel e Dra. Marilis Dallarmi Miguel** e ao doutorando **Ranieri Campos**, do curso de Farmácia da UFPR, por me receberem de braços abertos no laboratório. A fabricação do gel de folha de yacon foi um grande aprendizado e devo muito obrigada por toda atenção em todos os momentos no laboratório.

...a técnica de Laboratório da Usina piloto A da UFPR, **Silvana** que me fez enxergar que a química é muito mais simples do que se imagina.

... ao agricultor **Nelson** que me cedeu gentilmente as folhas de Yacon.

... a **UEPG**, por abrir suas portas para que fosse realizada as medidas finais de microdureza.

... ao **CNPQ** pela aquisição do Eletrodo de íons Seletivo, usado nesta pesquisa.

... ao **REUNI** pela oportunidade da bolsa durante todo o mestrado.

*“A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios.
Por isso cante, chore, dance, ria e viva intensamente, antes que a
cortina se feche e a peça termine sem aplausos”*
(Charles Chaplin)

RESUMO

Avaliar o efeito de proteção contra erosão do esmalte dentário bovino de duas novas fontes: pasta de feijão de vagem e gel de folha de yacon. Esta pesquisa, *in vitro*, foi composta por 36 blocos de esmalte bovino, sendo divididos em dois grupos experimentais (pasta e gel) e um controle (água destilada). Os espécimes foram inicialmente submetidos ao tratamento com gel, pasta e água, 4 vezes ao dia por 15 minutos a cada 1 hora, no total de 05 dias. Posteriormente, foram imersos em um alto desafio erosivo (ácido cítrico, pH 2,6) por 30 minutos, 1 vez ao dia. Para análise quantitativa dos dados foram feitas leituras iniciais e finais de microdureza Knoop, variação de cálcio perdido na solução através de pontecimetria e para análise ilustrativa foi realizado MEV. Os resultados finais foram submetidos a análises estatísticas pelos testes de Wilcoxon ($p < 0,05$) para microdureza e para variação de cálcio utilizou-se os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney, com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). A média de microdureza final em todos os grupos foi baixa, indicando perda de dureza e possível erosão na superfície. Em relação ao cálcio perdido (mg/l), os grupos controle e gel tiveram maior perda, principalmente logo no 1º dia (0,37 e 0,31, respectivamente). O grupo pasta apresentou possível resistência contra o desafio erosivo, do 1º ao 3º dia os valores mantiveram-se próximos (0,19, 0,17 e 0,18), aumentando no 4º e 5º dia (0,2 e 0,26). Houve significância estatística na média de cálcio perdido por dia entre os grupos ($p < 0,05$). Nas micrografias de todos os blocos tratados é possível ver o esmalte erodido após o 5º dia. Baseado nesses resultados, apesar da pasta de vagem apresentar melhor resultado em relação à variação de Ca^{++} , nenhum dos grupos foi suficientemente capaz de proteger o esmalte dentário da ação erosiva.

PALAVRAS – CHAVE: Erosão dentária, prevenção e controle, esmalte dentário, alimentos.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of erosion protection in dental enamel of two new sources: pod bean paste and gel of yacon leaf. This research, *in vitro*, was composed for 36 blocks of bovine enamel, being divided into two experimental groups (paste and gel) and a control (distilled water). The specimens were initially submitted to treatment with gel, paste and water, 4 times a day for 15 minutes every 1 hour. Later, they were immersed in a high erosive challenge (acid citric, pH 2.6) for 30 minutes, once a day. For quantitative data analysis were made initial and ends reading of microhardness Knoop and variation of lost calcium in the solution through potentiometer and illustrative analysis was carried out SEM. The final results were submitted to statistical analysis by the tests of Wilcoxon ($p < 0,05$) for microhardness and for variation of lost calcium was utilized the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test, with significance level of 5% ($p \leq 0,05$). The averages of final microhardness in all groups were low, indicating loss of hardness and possible erosion in the surface. In relation to calcium loss (mg/l), the gel and control group had greater loss, especially at the very first day (0,37 and 0,31, respectively). The group paste presented possible resistance against the erosive challenge, first to third day values remained close (0,19, 0,17 and 0,18), increasing in the fourth and fifth day (0,2 and 0,26). There were significant differences in the average of lost calcium daily between the groups ($p < 0,05$). In the micrographs of all the blocks is possible see the enamel eroded after the fifth day.

Based on the results, although the pod bean paste present better results in relation to the variation of lost calcium, no groups was able to sufficiently protect the dental enamel of the erosive action.

KEY - WORDS: Tooth erosion, prevention and control, dental enamel, food.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3 PROPOSIÇÃO.....	21
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 COMITÊ DE ÉTICA.....	22
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	22
4.3 SELEÇÃO E CORTE DOS DENTES.....	23
4.4 CONFECÇÃO DAS AMOSTRAS.....	25
4.5 AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS DE VAGEM (<i>PHASEOLUS VULGARIS L.</i>) E FOLHA DE YACON (<i>SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS</i>).....	27
4.6 ANÁLISE DA QUANTIDADE DE CÁLCIO DAS AMOSTRAS DE FEIJÃO DE VAGEM (<i>PHASEOLUS VULGARIS L.</i>) E FOLHA DE YACON (<i>SMALLANTHUS SONCHIFOLIUS</i>)	27
4.7 OBTENÇÃO DA PASTA DE FEIJÃO DE VAGEM.....	28
4.8 PROCESSAMENTO DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHA DE YACON.....	29
4.9 COMPOSIÇÃO DO GEL DE FOLHA DE YACON.....	30
4.10 DESAFIO EROSIVO.....	30
4.11 SOLUÇÃO SALINA DE ARMAZENAMENTO.....	31
4.12 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO POR POTENCIOMETRIA.....	32
4.13 AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA INICIAL E FINAL.....	33
4.14 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	34
4.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5 RESULTADOS.....	36
5.1 ELABORAÇÃO DA PASTA E DO GEL EXPERIMENTAL.....	36
5.2 ANÁLISES DA VARIAÇÃO DE CÁLCIO.....	37
5.3 MICRODUREZA.....	43
5.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA DA SUPERFÍCIE DO ESMALTE POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	46
6 DISCUSSÃO.....	51
7 CONCLUSÃO.....	55
8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
ANEXOS.....	63

1 INTRODUÇÃO

A estrutura dental após sua formação pode ser perdida devido a vários fatores, mais freqüentemente em casos de trauma e lesões de cárie (NEVILLE *et al.*, 2004). A diminuição da prevalência de cárie nos anos 60 e o aumento do desgaste dental acabaram ampliando os estudos referentes à erosão e as outras possíveis causas da perda de esmalte (TEN CATE; IMFIELD, 1996).

O termo erosão está associado à destruição da superfície, geralmente por mecanismos químicos (SERAIKARIAN; JACOB, 2002). No processo erosivo, diferente da cárie, a perda de estrutura dental se dá devido à ação química de substâncias ácidas presentes na superfície do esmalte, sendo de origem não bacteriana (GRIPPO *et al.*, 2004; TEN CATE; IMFIELD, 1996). Caso a erosão seja associada a fatores mecânicos como abrasão e atrição há uma aceleração no processo de perda de estrutura mineral (HUYSMANS *et al.*, 2011).

A erosão dentária ocorre inicialmente por meio de uma perda superficial do esmalte dentário através da desmineralização incipiente, podendo ainda se remineralizar por meio de minerais presentes na saliva (AMAECCHI; HIGHAM, 2001; EISENBURGER *et al.* 2001). Quando há um aumento da desmineralização dentária, os tecidos já amolecidos resultam em uma progressiva perda mineral acelerada, sendo irreversível a recuperação da estrutura (EISENBURGER *et al.*, 2000).

O estado avançado de erosão provoca conseqüências importantes para a saúde bucal. Podendo resultar em sensibilidade, dor, estética prejudicada, e um tratamento restaurador complexo, oneroso e de contínuo acompanhamento (SCHWEIZER-HIT *et al.*, 1978).

Os ácidos responsáveis pela erosão dentária podem ser provenientes de fontes extrínsecas, intrínsecas (BRANCO *et al.*, 2008) ou idiopáticas (ILMFELD, 1996).

A dieta, considerada uma fonte extrínseca (LUSSI *et al.*, 2011), abrange o consumo de alimentos e bebidas consideradas ácidas. Além disso, os medicamentos, substitutos salivares, a exposição à água clorada e o trabalho em indústrias de agentes corrosivos, como vapor ácido de bateria e indústria de aerossóis também podem ser considerados como uma fonte extrínseca (GRIPPO *et al.*, BARRON *et al.*, 2003).

Um estudo realizado com alunos de idade pré-escolar brasileiros mostrou que o consumo de refrigerantes 2 a 3 vezes ao dia, promoveu o aumento da ocorrência de

lesão erosiva na superfície do esmalte dentário (MURAKAMI *et al.*, 2011). Uma pesquisa realizada nos Estados Unidos por meio de questionários e exame visual em crianças e adolescentes mostrou que o consumo elevado de suco de maçã está relacionado diretamente ao surgimento de lesões erosivas (OKUNSERI *et al.*, 2011).

Uma das bebidas questionadas quanto ao seu potencial erosivo devido ao baixo pH, é o vinho tinto ou branco. Inicialmente foi observado que pacientes que ingeriam vinho com frequência durante as refeições ou trabalhavam como degustadores, apresentavam lesões erosivas no esmalte dentário (GRAY *et al.*, 1998; MANDEL, 2005; MULIC *et al.*, 2010). Vários autores estudaram o efeito do vinho (pH 3,3) na superfície dentária *in vitro*, constatando que no intervalo de 7 dias de exposição o esmalte apresentou um aumento da perda de dureza superficial, resultando em erosão do esmalte (MOK *et al.*, 2001; HUGO *et al.*, 2006; BRAND *et al.*, 2009).

Outro fator causal da erosão acontece através de fatores intrínsecos, que incluem desordens psicossomáticas (bulimia e anorexia), xerostomia (MAGALHÃES *et al.*, 2009) e problemas gástricos (BARTLETT, 2006). Este último ocorre devido ao acúmulo de ácidos gástricos provenientes de vômitos ou refluxos involuntários do paciente (LUSSI *et al.*, 2011).

A erosão por fatores idiopáticos é causada por ácidos de origem desconhecida. Mesmo ao realizar-se uma anamnese bem direcionada e exames específicos, não é possível encontrar uma explicação para possível causa (IMFELD, 1996).

Como o desgaste erosivo dentário é uma doença multifatorial, estratégias de prevenção devem ser aplicadas juntamente com fatores químicos, biológicos e comportamentais envolvidos na etiologia e patogenia da erosão dentária (LUSSI, 2006).

O tratamento e prevenção enfocam inicialmente, o reconhecimento do fator causador da erosão e sua remoção ou diminuição para um melhor resultado do tratamento. Alguns estudos, além de reconhecer e remover a verdadeira causa do processo erosivo utilizam também substâncias contendo cálcio, flúor e fosfato, auxiliando no tratamento e prevenção. O flúor é um agente remineralizador que controla a perda mineral através da deposição de íons flúor na superfície, sendo usado em altas concentrações e com uma maior frequência (WANG; LUSSI, 2010).

Já os íons cálcio e fosfato presentes em soluções, ao entrar em contato com o dente, se difundem pela superfície diminuindo o grau de dissolução do esmalte

dentário. Com isso, a ação de ácidos e a desmineralização terão seu potencial reduzido (BARBOUR *et al.*,2011).

2 REVISÃO DE LITERATURA

Devido a mudança de hábitos alimentares e o aumento do consumo de alimentos considerados ácidos, tem sido crescente o aumento de estudos referentes a proteção e prevenção dentária frente a erosão. Os estudos testam compostos contendo flúor, ferro, cálcio e/ou fostato, apresentando resultados satisfatórios contra o processo erosivo.

Devido a alguns estudos relacionados à cárie mostrarem que a Caseína fosfopeptídeo amorfo (CPP-ACP, Recaldent[®]) tem um poder de remineralização da superfície dentária por conter cálcio, alguns autores vêm testando-a frente a erosão como um sugestivo agente de proteção.

No estudo, *in vitro*, de Manton *et al.* (2010), o objetivo foi investigar o efeito da adição de 0,2% CPP-ACP em bebidas cítricas do mercado australiano. Foram preparados os espécimes (n=27) e logo após foram feitas duas soluções com as bebidas (refrigerante cítrico): 1. contendo o CPP-ACP e 2. sem CPP-ACP (controle positivo). Na fase experimental cada corpo de prova (3 em cada solução) foi imerso em diferentes soluções por 30 minutos à 37°C. Em seguida os blocos de dentes foram removidos e lavados com água destilada para futura perfilometria do esmalte dentário e análises estatísticas. Ao examinar os resultados finais, concluíram que as bebidas contendo o Recaldent[®] tiveram seus potenciais erosivos reduzidos devido a possível deposição de íons cálcio e fosfato na superfície mineral.

Tem sido cada vez mais constante o uso de proteínas do leite como agente com potencial de remineralização da superfície dentária. Acreditando nisso, White *et al.* (2011) estudaram soluções aquosas de 0,5% contendo caseína, caseína fosfopeptídeo (CPP) e glicomacropéptídeo (GMP) associados ou não com 300 ppm de fluoreto de sódio (F), como prevenção frente à perda de estrutura de esmalte devido à exposição a 0.3% de ácido cítrico (pH 3,2). As soluções testes foram às seguintes: F, caseína, caseína+F, CPP, CPP+F, GMP, GMP+F e como controle negativo foi usado água destilada. Os espécimes foram submetidos 9 vezes por uma seqüência de: imersão em 150 ml das soluções de tratamento por 10 min, lavagem dos blocos com água destilada, exposição em solução erosiva por 1 min e para finalizar lavagem e secagem dos blocos, para posterior perfilometria das superfícies.

Em relação à erosão, todas as soluções testes tiveram um poder de redução da desmineralização do esmalte, sendo que a solução de caseína+F, foi a que apresentou melhor resultado, reduzindo consideravelmente o risco do esmalte dental frente a agentes ácidos.

Hemingway *et al.* (2011), além de investigarem o poder da caseína do leite, também usaram a proteína ovo albumina, que também pode influenciar na redução da perda de hidroxiapatita frente a exposição a agentes desmineralizadores. Foram usadas soluções dos ácidos cítrico, málico, láctico e refrigerantes modificados com adição de 0,2% de caseína e 0,2% de albumina, dissolvidas previamente em água destilada. Antes ao experimento as amostras foram expostas por 2 h, em saliva coletada de 2 voluntários e devidamente preparadas para que fosse constituída a película adquirida na superfície dos blocos. Ao final do experimento foi mensurada por perfilometria a quantidade de perda de tecido dentário de cada bloco de esmalte. Concluíram, os ácidos e os refrigerante tiveram um menor poder de erosão. O ácido cítrico apresentou uma maior redução (78% em pH 3,2) no seu potencial erosivo, pois devido a presença de citrato nas micelas do leite, ocorre uma estabilização da película-caseína sobre a superfície dentária não permitindo a ação de outros ácidos. Vale ressaltar que mais estudos *in vitro* são necessários, mas o uso da caseína e da albumina como produtos anti-erosivos é uma sugestão para serem adicionados em bebidas ácidas comercializadas e ingeridas diariamente e também para nova formulação de produtos.

Outros alimentos foram testados como protetores do esmalte dentário contra erosão, incluindo extrato de chá verde (Kato *et al.*, 2009, Magalhães *et al.*, 2009, Kato *et al.*, 2010), azeite de oliva (Wiegand A. *et al.*, 2007), polímeros alimentares (Bayer *et al.*, 2010), xilitol (aditivo alimentar) (Chunmuang *et al.*, 2007, Souza *et al.*, 2010) e pasta de camarão (Chuenarrom & Benjakul, 2010).

Kato *et al.* (2009) avaliaram, *in situ*, o efeito do chá verde para proteger o dente da erosão dentinária. O chá verde apresenta inibidores da ação da metaloproteinase (MMPs) que é uma das enzimas responsáveis pela degradação do colágeno da dentina, sendo ativada com a queda do pH bucal devido a exposição ácida. Os voluntários usaram dispositivo palatino com blocos de dentina bovina e imergiram o dispositivo em chá verde e água (controle) por 1 min, entre os desafios erosivos com Coca-cola® (pH 2,6) por 5 min, 4 vezes ao dia. Ao final do experimento, foi feito perfilometria e constatou-se que o chá verde reduziu significamente o processo

erosivo, mas novos estudos devem ser realizados para comprovar se a inibição da MMPs foi a causadora do resultado positivo de proteção.

Magalhães *et al.* (2009), usaram também o chá verde contra erosão dentária. Neste estudo, *in situ*, os voluntários, imergiam o dispositivo contendo 4 blocos de dentina fixados, dentro de 150 mL de solução erosiva (Coca-Cola[®]) por 5 minutos, 4 vezes ao dia, no total de 5 dias. Depois de retirados da solução, os dispositivos foram levados à boca e foi feito bochecho por 60 segundos com solução de flúor (250ppm), Digluconato de Clorexidina, extrato de chá verde e água deionizada. Para análise dos dados finais, foi feita perfilometria. Os autores concluíram que as 3 soluções apresentaram efeito positivo de proteção, pode-se dizer que o uso do Chá verde e da Clorexidina foram eficaz quanto o uso do flúor, necessitando novos experimentos.

Seguindo a linha do uso de chá verde que contém metaloproteinases, Kato *et al.* (2010) produziram um gel contendo inibidores de matriz metaloproteinase associado a clorexidina, frente aos efeitos da erosão sobre a dentina, *in situ*. Foram elaborados dois géis, sendo que o gel controle positivo apresentou como veículos ativos, NaF, Clorexidina e Epigallocatequina -3- galato (EGCC) e o gel controle negativo, não apresentou nenhum composto ativo. Após 6 h da aplicação do gel na superfície dentária (por 1 min), os voluntários durante 5 dias, realizaram o desafio erosivo (Coca-cola[®] pH 2,6) extra oral por 5 minutos, 4 vezes ao dia. Os dispositivos orais permaneceram na boca por 24 h, apenas sendo removido durante as refeições e realização da higiene bucal do voluntário. Ao final da fase experimental, os espécimes foram removidos e a dureza de suas superfícies analisadas. Depois de feita análise perfilométrica e estatística e, concluiu-se que os géis contendo o inibidor de MMP inibiram o desgaste da dentina frente à erosão.

Uma solução de óleo de oliva, combinado com flúor, foi escolhido como possível elemento protetor contra ação de ácidos na superfície do esmalte. Alguns estudos dizem que os lípidios presentes no óleo, se aderem a superfície dental, tanto no esmalte ou dentina, formando um revestimento protetor dificultando a difusão de ácidos e minerais durante a desmineralização. Dessa forma, Wiegand *et al.* (2007), testou *in vitro*, 5 soluções, dentre elas: água destilada, 100% óleo de oliva, 2% emulsão de óleo de oliva e 2% de óleo de oliva combinado com bochecho de flúor (Xerostom[®]) e solução fluoretada (250ppm) frente ao desafio ácido erosivo (1% ácido cítrico, pH 2,3). Através da perfilometria observou-se que o óleo de oliva

puro não foi eficaz como protetor da erosão, por outro lado a emulsão de óleo de oliva e a emulsão combinado com o flúor foram efetivos em relação à diminuição do efeito ácido erosivo, sendo ainda menos eficaz do que soluções contendo apenas fluoreto.

Alguns polímeros alimentares previnem a dissolução de cálcio e fosfato da superfície dental. Por este motivo, foi realizado, *in vitro*, um estudo por Bayer *et al.* (2010) com os polímeros: pectina estratificada (HP), alginato de propileno glicol (PGA) e goma arábica (GA) que foram adicionados a solução de ácido cítrico (Polímero modificado de ácido cítrico). Após o tratamento experimental, as amostras foram analisadas por nano-dureza, microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foi observado que a alta concentração de HP, PGA e GA na solução de ácido cítrico modificada, reduziu a erosão comparada a solução pura de ácido cítrico com mesmo pH. Uma das hipóteses para esse efeito positivo pode ter sido devido à formação de uma camada de polímero na superfície do esmalte que impede a difusão de ácidos, sendo que o mecanismo de formação desta película ainda necessita ser relatada por novos estudos para melhor compreensão.

Mais um elemento testado como protetor é o xilitol (aditivo alimentar). Este apresenta um poder anticariogênico e quando em altas concentrações apresenta complexos de cálcio interferindo assim no processo de desmineralização do esmalte. No estudo de Chunmuang *et al.* (2007), foram testados, *in vitro*, efeito antierosivo das soluções de xilitol, fluoreto e xilitol combinado a fluoreto frente ao desafio erosivo do suco de laranja puro. Os blocos de esmalte foram divididos em 7 grupos, sendo cada grupo imerso, por 5 min em uma solução: (A) suco de laranja, (B) suco de laranja + 25% xilitol, (C) suco de laranja + 1 ppm F, (D) suco de laranja + 25% xilitol + 1 ppm F, os grupos E e G foram imersos em suco de laranja puro e depois nas soluções contendo flúor e xilitol ou associados. Através da microdureza e perfilometria, constatou-se que o uso de xilitol e xilitol/ flúor adicionados a bebidas ácidas, não pode prevenir totalmente o efeito da erosão sobre a superfície dentária, mas apresentaram um efeito de redução da ação dos ácidos erosivos.

O estudo de Souza *et al.* (2010), também avaliaram o efeito protetor de vernizes de xilitol frente a erosão dentária. Foram comparados 7 soluções: NaF – Duraphat 5%, verniz de xilitol 10%, verniz xilitol 20%, verniz placebo, solução NaF 5%, solução xilitol 10% e solução xilitol 20%. Foi aplicado o verniz e as soluções por

1 min, na superfície do esmalte, logo em seguida os blocos de esmalte foram estocados em saliva artificial por 6 h. Depois de removida cuidadosamente a camada de verniz das superfícies dos blocos, estes foram imersos na solução desmineralizadora (Coca-cola[®], 4 x por dia, por 90s) e em solução remineralizante (saliva artificial, por 2 h). O produto foi reaplicado após 5 dias da primeira aplicação. Para medidas de desgaste, foi feita perfilometria no 5° e 10° dia e Microscopia eletrônica de varredura (MEV) antes da segunda aplicação no 5° dia. Ao final, foi constatado que todos os vernizes e soluções foram capazes de proteger o esmalte contra ação ácida da Coca-cola, sendo o verniz 10% o mais eficaz. O xilitol por apresentar um efeito positivo, pode vir a ser um grande elemento, em relação à prevenção da erosão dentária.

Chuenarrom & Benjakul (2010), testaram, *in vitro*, uma pasta de camarão fermentada (PCF), muito usada na culinária asiática e que apresenta altos níveis de cálcio. A PCF foi utilizada associada ao Suco de Tamarindo (ST), para diminuição do seu potencial erosivo. Em primeiro experimento foi usada a PCF + ST em diferentes concentrações, no segundo foi usada a PCF + água destilada para verificar o potencial de remineralização da superfície dentária. Constatou-se na primeira parte, que a PCF reduziu o potencial erosivo do ST, sendo que quanto maior a concentração da pasta maior a diminuição do potencial do suco. No segundo experimento, mesmo o esmalte não voltando a sua composição original, foi demonstrado um reendurecimento da sua superfície devido ao contato com a PCF. Como desfecho do estudo, pode-se dizer que mesmo uma quantidade pequena de PCF na alimentação pode ter um efeito positivo frente a perda de minerais do esmalte dentário.

Alguns alimentos, considerados funcionais, tem sido uma nova alternativa no combate a processos de desmineralização dentária, mas ainda são pouco usados. Considerados como alimentos funcionais, estes são todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis (MORAES; COLLA, 2006). Como apresentado na literatura a folha de yacon e o feijão de vagem apresentam um alto teor de cálcio na sua composição, com isso podem se tornar dois grandes aliados na proteção da estrutura dentária frente ao efeito de alimentos e bebidas ácidas.

Yacon é um tipo de tubérculo que faz parte da família *Asteraceae* e tem como nome científico *Smallanthus sonchifolius* (SANTANA; CARDOSO, 2008) e freqüentemente é conhecido pelo sinônimo *Polymnia sonchifolia* (DUARTE *et al.*, 2008). É usado por séculos como um alimento básico entre os países andinos (OJANSIVU *et al.*, 2011), foi introduzido no Brasil no final de 1980 por imigrantes japoneses que usavam as folhas para um chá antidiabético (VILHENA *et al.*, 2000). Por ser adaptável a diferentes climas e solos, nos dias de hoje o Yacon já tem sido cultivado em vários países, dentre estes estão: Nova Zelândia, Japão, Taiwan, Coréia do Norte, Filipinas e Republica Tcheca (OJANSIVU *et al.*, 2011).

A composição das raízes do Yacon é principalmente a base de água e carboidratos (OJANSIVU *et al.*, 2011). Estes são armazenados sob a forma de frutooligossacarídeos (FOS) (SANTANA;CARDOSO,2008) sendo considerados prebióticos, o que dá a característica de alimento funcional ao yacon (SILVA *et al.*,2004). Os prebióticos não são digeridos no trato gastrointestinal devido à falta de enzimas necessárias, estimulando o crescimento seletivo e a atividade de um número limitado de bactérias intestinais promotoras de saúde, especialmente as bifidobactérias (PRATI *et al.*, 2009). Além da influência sobre a função intestinal, os prebióticos possuem baixo valor energético e parâmetros lipídicos (MOSCATO *et al.*,2004).

As raízes do Yacon e as folhas têm sido usadas como alimentos hipoglicemiantes em vários estudos (OLIVEIRA *et al.*,2010). Folhas e caules apresentam compostos fenólicos e forte atividade antioxidante, e são considerados suplemento alimentar na prevenção de doenças crônicas como diabetes do tipo II e arteriosclerose. Na medicina popular, as folhas são dessecadas e preparadas na forma de chá como coadjuvante no tratamento do diabetes, no controle da pressão arterial e na redução dos níveis de colesterol (DUARTE *et al.*,2008).

O que vem sendo discutido é se existe algum risco tóxico o uso das folhas de Yacon. No estudo de Oliveira *et al.*, (2010) foi avaliada a quantidade de lactonas encontradas no extrato de folhas de yacon, importante ressaltar que foi usada a folha inteira incluindo suas partes moles. Foi constatado que o extrato alcoólico apresentou um maior teor tóxico frente ao aquoso, mas não fica descartada a hipótese de que realmente o consumo das folhas possa levar a algum dano sistêmico no paciente.

Em trabalho realizado por Silva *et al.* (2004), a composição das folhas de yacon desidratadas foram analisadas e encontraram uma quantidade média de cálcio de 831 mg/ 100 g de vegetal desidratado. Esta quantidade apresenta a folha de yacon como uma fonte significativa de cálcio, já que a ingestão diária recomendada para uma faixa de idade de 11 a 65 anos, é de 1000 mg de Cálcio (NIH, 1994).

O feijão-de-vagem, conhecido como *phaseolus vulgaris* constitui fonte de fibra, com apreciável quantidade de vitaminas B1 e B2, além de possuir, em pequenas quantidades, flúor, potássio, cálcio, ferro e vitaminas A e C e algumas proteínas para a nutrição humana (Silva *et al.*,2004).

Miglioranza *et al.* (2003) estudaram o teor de cálcio em frutos de feijão de vagem na cidade de Londrina, PR. Informaram que entre os principais vegetais o feijão de vagem foi considerado a terceira melhor opção de fontes de cálcio, sendo prontamente absorvido pelo ser humano. O fruto apresenta 40mg de cálcio por 100g de feijão de vagem cozida. Vale ressaltar, que o alimento cozido perde algumas propriedades comparadas às do alimento cru.

Ekholm *et al.* (2007) analisaram a quantidade de minerais na composição de vegetais, frutas e cereais na Finlândia. Para análise dos minerais foi usado método eletrotermal de absorção atômica e foi encontrado no Feijão de vagem (*phaseolus vulgaris.*) um valor considerável de cálcio de 940 mg/100g da matéria seca.

A observação dos valores de Ca^{++} encontrados na folha de yacon e no feijão de vagem sugerem novas pesquisas que utilizem esses elementos como possíveis protetores contra desmineralização da superfície do esmalte dentário.

A erosão dentária tem sido muito observada no dia a dia do consultório odontológico. Tratamentos preventivos e de proteção contra a ação de ácidos causadores de erosão no esmalte e dentina são importantes. Quando a erosão é diagnosticada de forma precoce, o tratamento tem a tendência de ser mais eficaz, não ocorrendo uma destruição rápida e progressiva da superfície dental.

Assim, justifica-se o desenvolvimento de pesquisas científicas direcionadas a verificar o potencial de novas fórmulas para prevenção e proteção do esmalte dentário frente a condições erosivas.

3 PROPOSIÇÃO

Esta pesquisa teve como principal objetivo investigar o efeito da pasta de feijão de vagem e do gel de folha de yacon na redução da desmineralização do esmalte dentário bovino frente à um desafio erosivo:

Os objetivos específicos foram:

- Avaliar o efeito protetor da pasta e do gel, através da variação de dureza dentária, associada ao desgaste superficial utilizando a técnica de microdureza, após sucessivos ciclos de exposição à solução erosiva;
- Avaliar a variação de íons Ca^{++} na solução erosiva após contato com a superfície dentária tratada durante o desafio erosivo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Comitê de Ética

O presente estudo foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética do setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (Anexo 1.)

4.2 Delineamento experimental

Este protocolo *in vitro*, realizado por 05 dias, foi composto por 36 blocos de incisivos bovinos hígidos, sendo divididos em dois grupos experimentais e um controle. As amostras correspondentes de cada grupo foram inicialmente submetidas a tratamento com gel de folha de yacon, pasta de feijão de vagem e água destilada (controle negativo), quatro vezes ao dia por 15 minutos a cada hora. Em seguida, os blocos tiveram suas metades cobertas por fita adesiva resistente e imersos em solução erosiva por 30 minutos em recipientes individuais uma vez ao dia. Ao final, os blocos foram lavados e armazenado em solução salina até o dia seguinte do novo tratamento.

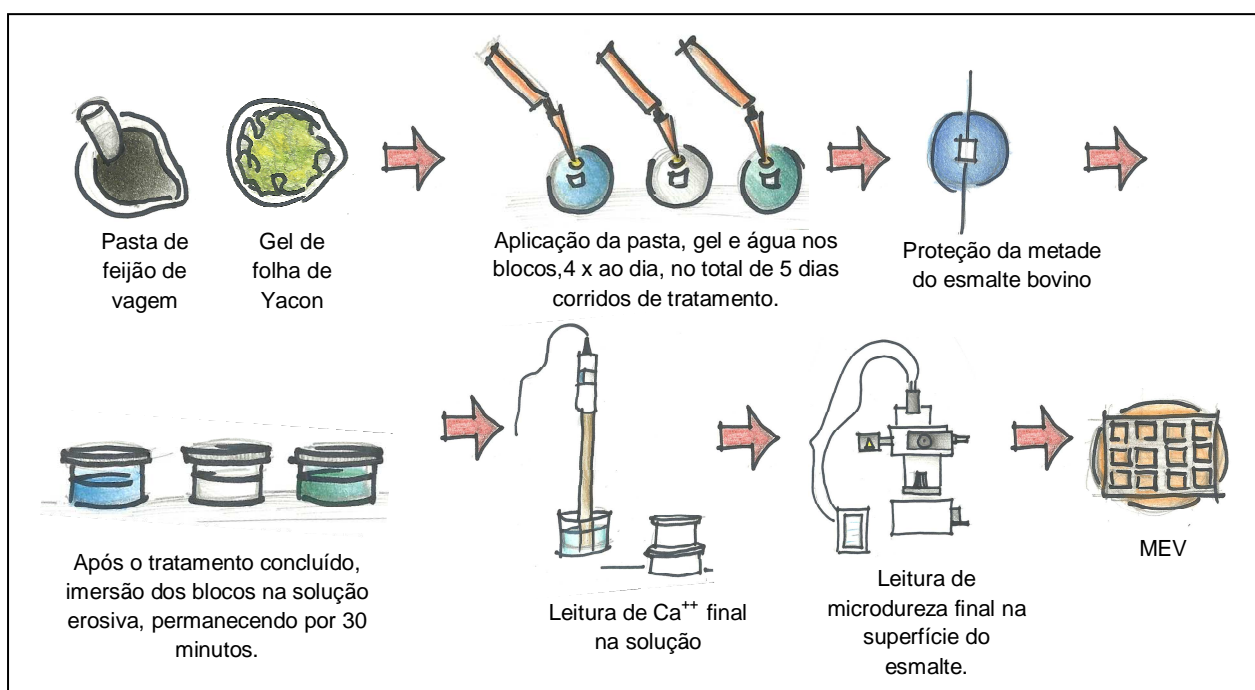


FIGURA 1 - ESQUEMA REFERENTE AO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

FONTE: o autor (2011)

A análise quantitativa das alterações do esmalte foi realizada por meio de testes de microdureza. Foram realizadas também medidas de Cálcio na solução erosiva inicial e após a exposição do esmalte dental na solução. Já a microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para ilustrar o desgaste sofrido nos grupos experimentais e controle.

4.3 Seleção e corte dos dentes

Os dentes bovinos foram obtidos no frigorífico Argus Ltda. Curitiba – Paraná. Após serem extraídos foram removidos todos os tecidos moles, da raiz e coroa, com cabo de bisturi e lâmina nº15. Após a limpeza dos dentes, foram armazenados em recipientes de vidro contendo uma gaze na tampa (sem entrar em contato com os dentes) com solução de Timol á 0,1%, sendo esta trocada periodicamente a cada 07 dias.

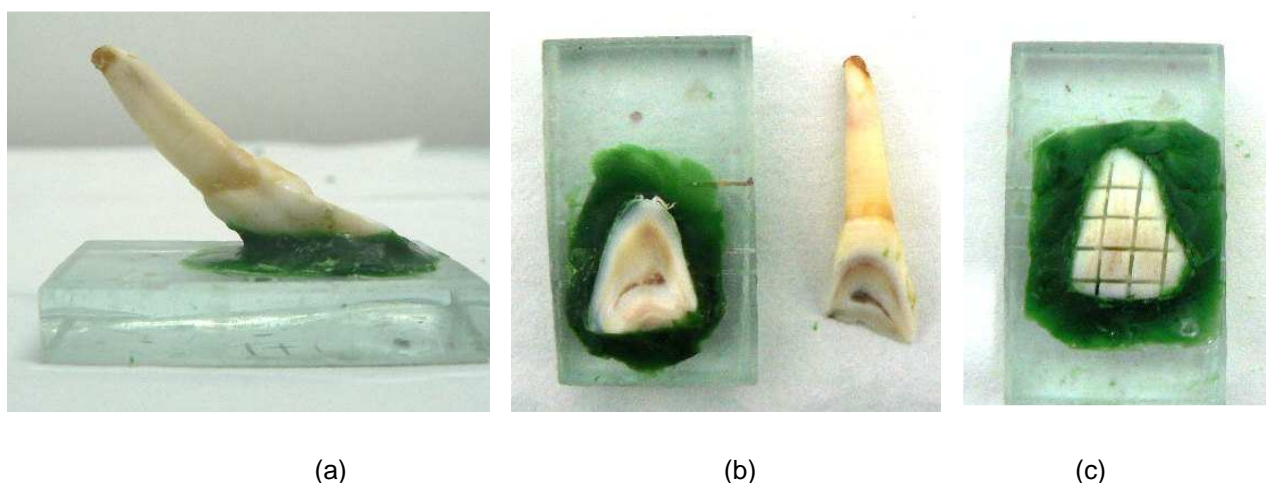
Os dentes que apresentaram defeitos passíveis de visualização a olho nu, na superfície exposta do esmalte, como: falhas grosseiras, manchas hipoplásicas, fraturas, rachaduras ou grande desgaste oclusal foram excluídos da amostra.

Os dentes foram fixados com cera pegajosa (*Technew - New Wax*) em uma placa de vidro (40x40x30 mm) para facilitar a adaptação posterior na máquina de corte. A placa de vidro foi parafusada em um aparelho de corte de precisão (Buehler, Isomet® 1000/112180), e os cortes foram realizados por um disco diamantado dupla face - XL 1205, “*High concentration*”, 102x0, 3x2, 7 mm (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) e dois espaçadores de aço inoxidável (7 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e orifício central de 1,3 cm) entre o disco, com velocidade de 200 rpm, refrigerado com água destilada (FIGURA 2).



FIGURA 2 - APARELHO DE CORTE COM PRECISÃO (BUEHLER, ISOMET®1000/112180)
 FONTE: o autor (2011)

Primeiramente foram seccionadas as raízes, no sentido cérvico-incisal como mostra a Figura 3 (a)(b). Para a obtenção dos blocos 4x4 mm a coroa foi fixada novamente com cera pegajosa pela face palatina na placa de vidro. Na seqüência, esta foi acoplada a cortadeira elétrica (Buehler, Isomet® 1000/112180) sendo realizada uma seqüência de dois cortes no sentido transversal e dois cortes no sentido horizontal, resultando em dois ou mais blocos de cada coroa como mostra a Figura 3 (c). Posteriormente os blocos foram armazenados em potes de plástico com uma gaze na tampa embebida em timol a 0,1% e mantidos refrigerados a temperatura de 4 °C.



(a)

(b)

(c)

FIGURA 3 - PASSOS DE OBTENÇÃO DOS BLOCOS 4X4 DE DENTES BOVINOS (BUEHLER
 ®1000/112180)

(a) FIXAÇÃO DA COROA NA PLACA DE VIDRO

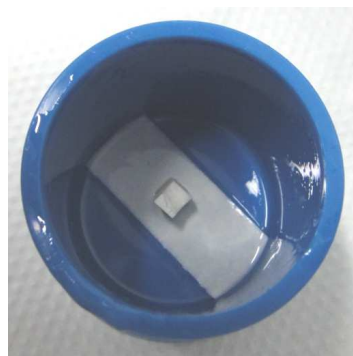
(b) CORTE CÉRVICO-INCISAL DA COROA

(c) OBTENÇÃO DOS BLOCOS

FONTE: o autor (2011)

4.4 Confeção das amostras.

Cada coroa de dente deu origem a um espécime, sendo estes confeccionados com tubos de acrílico de aproximadamente 10 mm de diâmetro e 10 mm de altura com resina acrílica cristal quimicamente fotopolimerizável. Primeiramente foi untado o tubo de acrílico com vaselina líquida e pincel Tigre[®] para que fosse realizada a remoção da resina no final do procedimento como é apresentado na Figura 4 (a). Após essa fase, houve a fixação do espécime no fundo do tubo com fita dupla face, para que este não deslocasse no momento da colocação da resina como está na Figura 4 (b). Na sequência, a resina cristal foi devidamente manipulada, sendo acrescentadas gotas de corante azul e verde para melhor diferenciação dos grupos experimentais. Com a ajuda de uma espátula de cera nº 07 foi colocada a resina aos poucos, preenchendo o tubo de acrílico até a metade, em seguida o tubo de acrílico foi colocado em uma máquina a vácuo (Buehler - Cast n'vac . Modelo 20-3510-160) para remoção de bolhas do acrílico por 15 minutos. Depois da acrilização, os corpos de prova foram removidos do tudo, lavados em água destilada e colocados em um recipiente fechado com uma gaze na tampa com solução de Timol á 0,1%, sendo esta trocada periodicamente a cada 07 dias.



(a)



(b)

FIGURA 4 - PASSOS PARA EMBUTIMENTO DOS BLOCOS DE ESMALTE

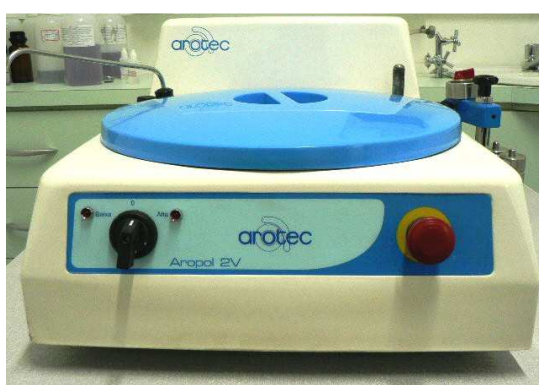
(a) PREPARAÇÃO DO TUBO DE ACRÍLICO

(b) FIXAÇÃO DO BLOCO DENTÁRIO PARA INSERÇÃO DA RESINA

FONTE: o autor (2011)

Cada espécime foi devidamente polido deixando sua superfície livre do acrílico, de ranhuras e irregularidades com o bloco de esmalte exposto. Os blocos foram

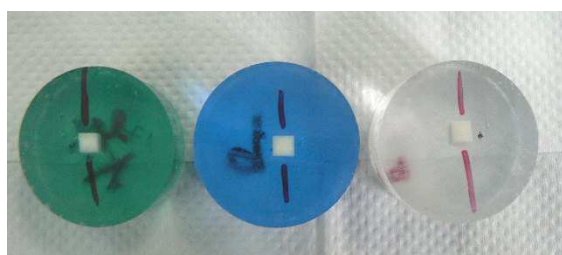
lixados e polidos em uma politriz (Arotec, Aropol, Brasil) (FIGURA 5 (a)) com sistema de polimento múltiplo capaz de realizar o polimento simultâneo de seis corpos de prova e de manter o paralelismo entre a superfície do esmalte e as lixas, em velocidade baixa (10 rpm). Neste processo foi utilizada uma sequência de lixas d'água com granulação decrescente (400 durante cinco segundos, 600 por dez segundos, com 2 pesos, 1200 e 1500 por 10 segundos, com 1 peso) sempre sob refrigeração de água. Foi realizada uma limpeza no bloco de esmalte com escova macia e água destilada por 1 minuto entre cada lixa. O polimento foi finalizado com disco de feltro autoadesivo e pasta diamantada granulação 1 μm (Arotec) por 30 seg como mostra Figura 5 (b). Em seguida, os blocos dentais foram lavados com água destilada e escova macia com mostra a Figura 5 (c). Os blocos foram armazenados em potes de plástico com uma gaze pressa na tampa embebida em timol a 0,1% com pH 6.15 (todos juntos) sob refrigeração a 4 °C. Ao final foi totalizada uma amostra de n=36 blocos.



(a)



(b)



(c)

FIGURA 5 - PASSOS PARA POLIMENTOS DAS AMOSTRAS

(a) POLITRIZ AROTEC

(b) PASTA DIAMANTADA AROTEC

(c) OBTENÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE POLIDOS

FONTE: o autor (2011)

4.5 Aquisição das amostras de Vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) e Folha de Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)

As amostras de feijão vagem que foram usadas foram adquiridas no mercado local de Curitiba-PR. As folhas de Yacon foram adquiridas na Colônia Muricy em São José dos Pinhais- PR. É importante ressaltar, que tanto as folhas quanto as vagens são da mesma colheita, mesmo produtor e lote, para que não tenha possíveis alterações de um elemento para outro.

4.6 Análise da quantidade de Cálcio das amostras de Feijão de Vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) e Folha de Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)

Foram feitos ensaios através de absorção atômica para quantificar mg de cálcio em 100 g de feijão vagem e 100 g de folhas de Yacon *in natura* e sem conservantes.

Após as análises, a porção de feijão vagem, do mesmo lote, não utilizadas foi armazenada sacos plásticos, devidamente vedados á vácuo e estocados em refrigerador a -10 °C (FIGURA 6)



FIGURA 6 - FEIJÃO DE VAGEM (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)

FONTE: o autor (2011)

As folhas de Yacon, logo após a colheita, foram secas em estufa semiaberta a 40 °C por 1 hora e meia. Após as folhas estarem totalmente secas e foram trituradas e armazenadas em pote vedado e mantidas em temperatura ambiente como mostra a Figura 7 (a), (b) e (c).



FIGURA 7 - SECAGEM DA FOLHA DE YACON.

(a) FOLHA DE YACON FRESCA,

(b) SECAGEM DAS FOLHAS,

(c) TRITURAÇÃO DAS FOLHAS SECAS E ARMAZENAMENTO

FONTE: o autor (2011)

4.7 Obtenção da pasta de feijão de vagem

A pasta foi feita em liquidificador adicionando 100 g de feijões de vagem cozidos 10 ml de água destilada, para que não ocorra alteração dos componentes da vagem, foi controlado o pH que ficou com valor de 6,1. Foi refrigerada em geladeira a 4°C durante todo o experimento (05 dias) como mostra a Figura 8.



FIGURA 8 - PASTA DE FEIJÃO DE VAGEM

FONTE: o autor (2011)

4.8 Processamento do extrato aquoso de folha de Yacon

Foram usados 100 g de folhas trituradas, inicialmente pesadas e separadas em dois recipientes de vidro, com 50 g cada. Foram acrescentados 200 ml de água a cada recipiente e colocado em banho-maria por 50 minutos, após esse tempo o extrato foi filtrado á vácuo em um funil de Büchner acoplado a um Kitasato apresentado na Figura 9. No total, foram feitas cinco extrações de cada recipiente.



FIGURA 9 - EXTRATO DE FOLHA DE YACON.

FONTE: o autor (2011)

Depois de feitas as extrações foram obtidas em um volume final de 1,7 L de extrato aquoso que foi concentrado em estufa por 60 °C semiaberta por 36 h ou até o extrato estar seco. Esse extrato foi diluído em água fervente e foi obtido um novo volume final do extrato de 345 ml. Ao final, foram colocados 5 ml do extrato em um vidro de relógio, previamente pesado, este levado para secagem em estufa fechada para obter o teor de sólido no líquido. Depois de seca a matéria, o vidro foi resfriado e pesado, resultando em 0,50g de matéria para 1 ml de extrato.

4.9 Composição do gel de Folha de Yacon

O gel foi desenvolvido no laboratório de farmacotécnica, laboratório de Fitoquímica do curso de Farmácia da UFPR, apresentados na Figura 10 (a) e (b). A validade da formulação (FIGURA 11) foi de três meses após sua data de fabricação.



(a)



(b)

FIGURA 10 - PASSOS PARA FABRICAÇÃO DO GEL DE FOLHA DE YACON

(a) MANIPULAÇÃO DO GEL

(b) GEL DE FOLHA DE YACON FINALIZADO

FONTE: o autor (2011)

Componente	Quantidade %
CMC (Carboximetilcelulose)	2%
Nipagin (Metilparabeno)	0,15%
Metabilssulfito de sódio	0,15%
Extrato aquoso de Folha de Yacon	15% (45g de 295 ml)

FIGURA 11 - A FÓRMULA FARMACÊUTICA PARA ELABORAÇÃO DO GEL (300G)

FONTE: o autor (2011)

4.10 Desafio erosivo

Para o desafio, cada amostra foi imersa individualmente em um frasco plástico com tampa identificada contendo 10 ml de ácido cítrico a 0,2% pH 2,6, valor igual ao da Sprite 2,6 (WIEGAND *et al.*, 2010), 1x ao dia por 30 minutos. A solução ácida foi

preparada sob agitação com eletrodo de pH (Tecnal, pH meter 2) em temperatura ambiente e renovada diariamente. É importante ressaltar que antes do desafio erosivo, metade do bloco foi coberta com fita adesiva resistente para que não fosse afetada a superfície de controle (FIGURA 12).

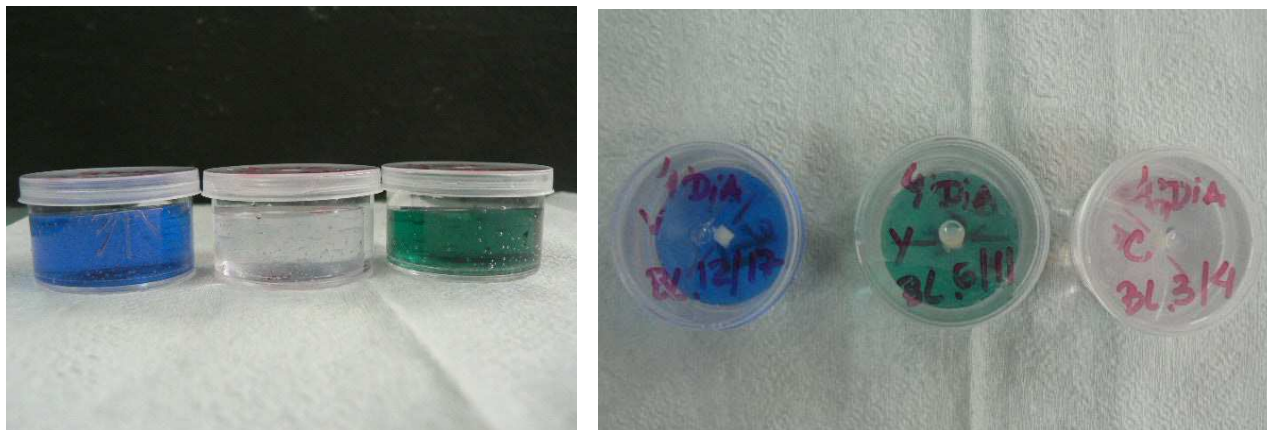


FIGURA 12 - IMERSÃO DOS BLOCOS NA SOLUÇÃO EROSIVA

FONTE: o autor (2011)

Ao final do desafio, os corpos de prova foram retirados dos frascos, lavados com água destilada e armazenados em potes plásticos contendo solução salina para descanso até o dia seguinte. Em seguida foi feita a análise da quantidade de cálcio de cada solução de ácido cítrico.

4.11 Solução salina de armazenamento

Após o final do experimento, as amostras ficaram armazenadas até o dia seguinte em uma solução salina 0,9% (9 g de NaCl + 1l de água destilada) em temperatura ambiente. Não foi usada saliva artificial, pois sua composição seria passível de interferência no resultado final (FIGURA 13).

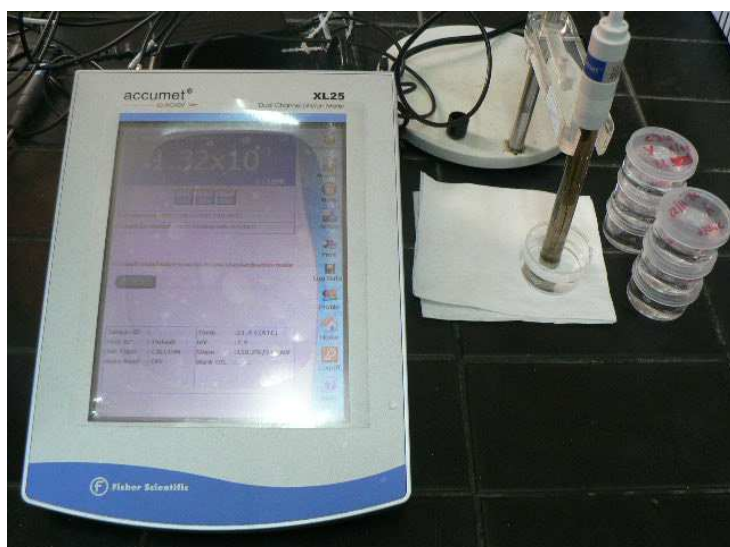


FIGURA 13 - AMOSTRAS IMERSAS NA SOLUÇÃO DE NA_{CL} 0,9%
FONTE: o autor (2011)

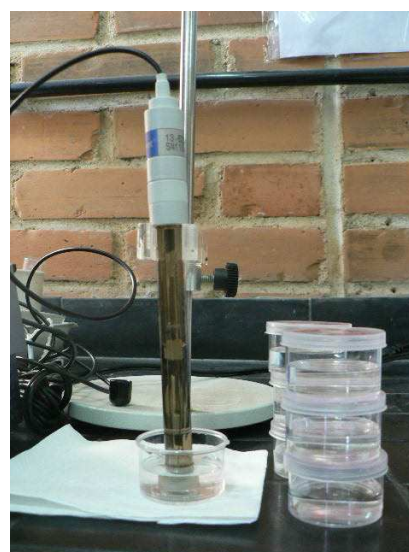
4.12 Análise da concentração de Cálcio por potenciometria.

Depois de realizado o desafio erosivo, foi feita a medida de quantidade de íons Cálcio presente na solução erosiva, vale ressaltar que a medida inicial de cálcio foi realizada antes da solução sofrer qualquer alteração (FIGURA 14 (a) e (b)).

A concentração de Cálcio liberada nas soluções de ácido cítrico foi mensurada diariamente, durante 05 dias, com um eletrodo combinado específico para íon Cálcio (*Accumet®Calcium Combination Íon Seletive Electrode - Fisher Scientific*), no laboratório do curso de Engenharia Química, na Usina Piloto A, na UFPR. O eletrodo foi calibrado, diariamente e previamente a leitura, utilizando soluções padronizadas de CaCl nas concentrações de 1 M, 0,1 M e 0,001 M, adicionadas a 2 ml de solução-padrão ISA (*ionic strength adjustment solution*) de KCL.



(a)



(b)

FIGURA 14 - ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO POR POTENCIOMETRIA.

(a) ELETRODO COMBINADO ESPECÍFICO PARA ÍON CÁLCIO

(b) LEITURA DE CÁLCIO INICIAL E FINAL

FONTE: o autor (2011)

4.13 Avaliação da microdureza inicial e final

Todos os blocos de esmalte, após cortados e embutidos na resina, tiveram sua microdureza inicial medida empregando o Microdurômetro (BUEHLER – Micronet 5104 N° série 660 – Mit4-00306). Foi utilizado um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP, com carga de 25g, aplicado por 5s. Em cada bloco, na sua porção mais lateral, foram feitas 5 indentações com uma distância de 100µm entre elas, para melhor localização para medidas finais de microdureza, as medidas iniciais foram marcadas no bloco onde foi realizada as identações.

A microdureza Knoop foi calculada automaticamente pelo software, usando a seguinte fórmula:

$$KNH = \frac{Cxc}{d^2}$$

KNH = Número de dureza KNOOP
 C (constante) = 14.230
 c = 25g
 d = Diagonal de maior indentações

Ao final do experimento, foi medido a microdureza final da parte do bloco exposta ao desafio erosivo e da não exposta e foi utilizada a seguinte fórmula para avaliar a porcentagem de perda de microdureza da superfície (%PDS):

$$\%PDS = \frac{\text{microdureza inicial} - \text{microdureza final} \times 100}{\text{Microdureza inicial}}$$

4.14 Microscopia eletrônica de Varredura

Para fins ilustrativos, ao final do experimento, 12 espécimes, sendo 4 de cada grupo, divididos em 2 para 1 dia de tratamento e 2 para 5 dias de tratamento foram preparados para serem avaliados em microscópio eletrônico de varredura (FEI, Phenom).

Em seguida, três blocos de cada grupo foram colados com esmalte em stubs, onde a superfície de cada espécime foi coberta com uma fina camada de ouro (aproximadamente 10-12 nm de espessura). As observações através da análise em MEV foram então realizadas em um Microscópio Eletrônico de Varredura com 6 kV e aumento de 2000, 5000, 10000 e 20000 x.

4.15 Análise estatística

Os dados quantitativos coletados foram organizados no SPSS e submetidos a teste de homogeneidade e distribuição normal de *Shapiro-Wilk*, devido ao baixo número da amostra. Após análise e verificada a não normalidade entre as variáveis, foi empregada a análise estatística com o teste de *Wilcoxon* para valores de microdureza inicial e final. Para valores da variação de cálcio foram utilizados os testes *Kruskal-Wallis* e *Mann-Whitney*, com grau de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

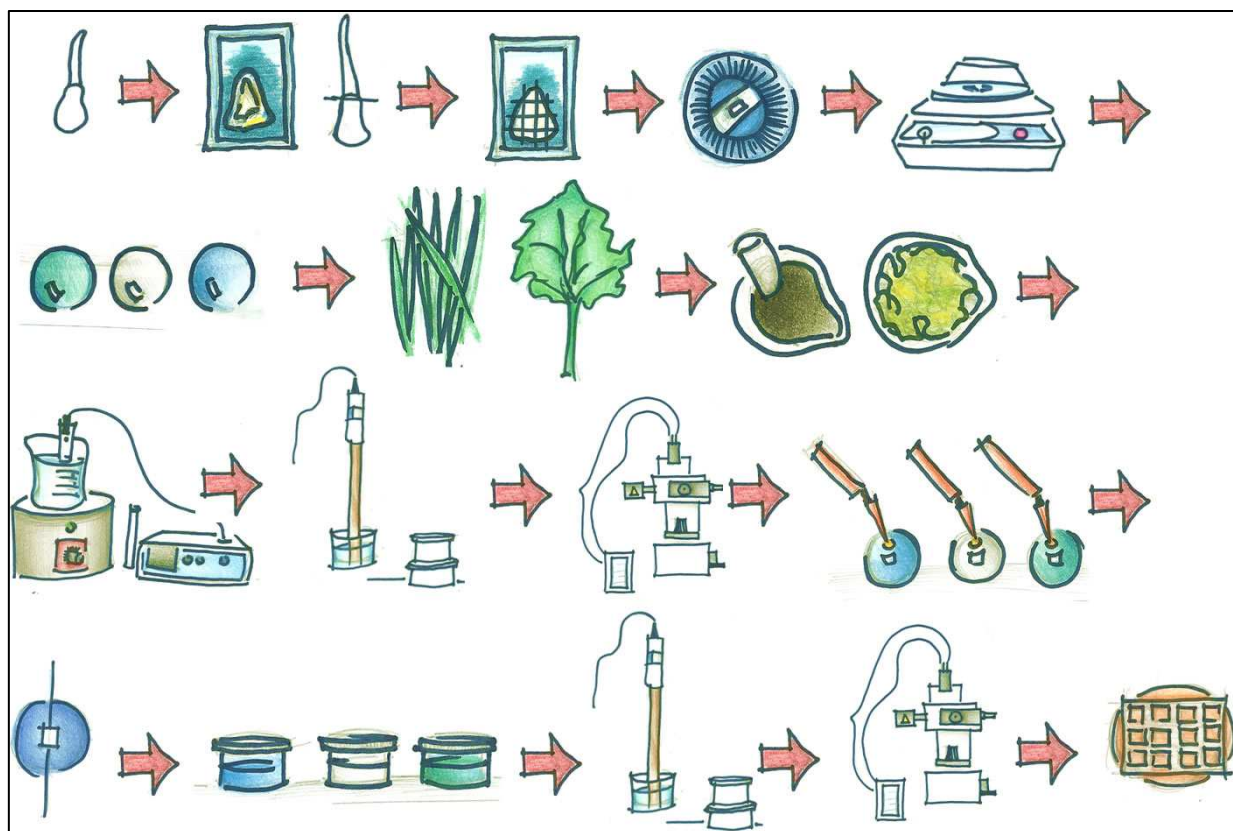


FIGURA 15 - ESQUEMA REFERENTE A TODA METODOLOGIA APLICADA NO ESTUDO

FONTE: o autor (2011)

5 RESULTADOS

5.1 Elaboração da Pasta e do gel experimental

Após a escolha dos alimentos a serem testados, 100g de Folha de Yacon e Feijão de Vagem foram submetidas à análise de composição mineral por absorção atômica para detecção da quantidade de cálcio (mg/g) (Anexo 3 e 4). Como resultado, o valor encontrado no feijão de vagem crua foi de 64,42 mg/100g, sendo muito próximo ao valor observado por Figueira (2000), de 40mg/100g no vegetal cozido. Em relação à folha de yacon, foi obtido uma quantidade de cálcio de 209,35 mg/100g, sendo menor do que descrito na literatura. Na investigação de Silva *et al.* (2004) foi observado na folha desidratada, um valor médio de 831,05 mg/100g.

Previamente a realização do gel, dois tipos de extratos de folha de yacon foram produzidos, alcoólico e aquoso. Logo após esta produção, foram efetuadas novas análises da quantidade de cálcio onde foram encontrados no alcoólico e no aquoso, respectivamente, valores de 0,148 e 13,10 mg/100g (ANEXO 5 e 6). Ao final, para agregação do extrato ao gel foi escolhido o extrato aquoso, que apresentou maior quantidade de cálcio, podendo assim ter um maior efeito protetor frente à desmineralização dentária. A quantidade de cálcio presente no gel manipulado e finalizado, foi de 6,38 mg/100g (ANEXO 7).

Como a viscosidade visa determinar a resistência de um fluído ao escoamento sob uma determinada área (BRETAS & D´AVILA, 2000), a pasta de feijão de vagem e o gel de folha de yacon a fase teste, foram submetidos à análise reométrica para detecção do seu modelo de fluído e sua viscosidade. Esta viscosidade associada a pH abaixo do valor crítico pode interferir no processo de erosão. Se o produto apresentar uma viscosidade alta, por maior tempo estará aderido à superfície aumentando o processo de dissolução do esmalte dentário (SHELLIS *et al.*, 2005).

5.2 Análises da Variação de Cálcio

A média da variação dos íons Ca^{++} na solução ácida não apresentaram diferença entre os grupos controle e gel. Os valores da variação de Ca^{++} no primeiro dia apresentaram valores próximos entre os dois grupos, sendo 0,00037 g/l e 0,00031 g/l. Esta variação pode estar associada com a possibilidade de ter ocorrido uma forte desmineralização e perda mineral logo no primeiro dia de exposição ácida. A partir do segundo dia de contato com a solução erosiva, os valores de Ca^{++} se estabilizaram até o quinto dia (GRÁFICO 1).

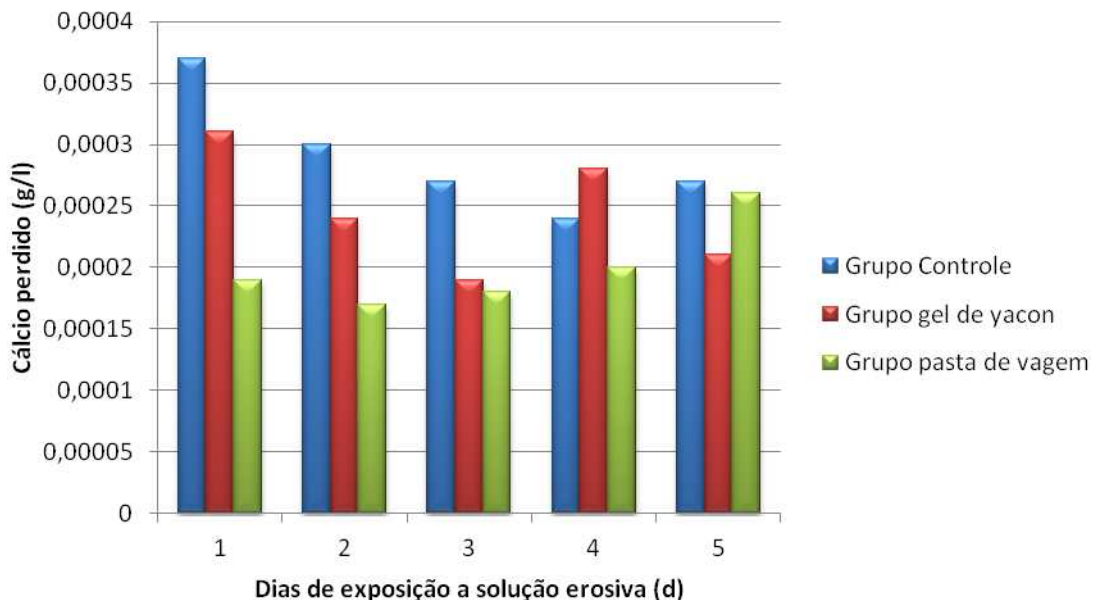


GRÁFICO 1. VALORES Ca^{++} PERDIDO POR DIA NOS 05 DIAS DE TRATAMENTO DO GRUPO CONTROLE, GRUPO GEL DE FOLHA DE YACON E GRUPO PASTA DE FEIJÃO DE VAGEM, DEPOIS DE EXPOSTOS AO DESAFIO EROSIVO.

FONTE: o autor (2011)

No grupo submetido ao tratamento com a pasta, houve uma menor quantidade do Ca^{++} perdido (0,00019 g/l) na solução em relação ao primeiro dia, tendendo a se estabilizar no terceiro dia de exposição do esmalte dentário com a solução erosiva. Devido à baixa troca iônica de íons Ca^{++} entre a solução e o bloco tratado com a pasta, pode-se concluir a ocorrência de um provável efeito protetor, conforme apresentado no gráfico 1.

A análise da Tabela 1 demonstra os valores médios, mediana e desvio padrão dos valores da massa de cálcio perdida, por dia, dos grupos **experimentais** (pasta e gel) e do grupo **controle** (água). Pode se observar um menor valor de cálcio perdido no grupo tratado com pasta de feijão de vagem. Os grupos controle e gel apresentaram valores aproximados, indicando maior perda de Ca^{++} e maior processo de desmineralização na superfície. Entre os valores dos 3 grupos houve significância estatística.

TABELA 1 - MÉDIA (M), MEDIANA (MED) E DESVIO PADRÃO (DP) DOS VALORES DA MASSA DE CÁLCIO PERDIDO DA SOLUÇÃO EROSIVA POR DIA, DOS GRUPOS **EXPERIMENTAIS** E GRUPO **CONTROLE** (ÁGUA).

	Dias					Total	M	Med	DP	p*
	1º	2º	3º	4º	5º					
Massa Ca⁺⁺ mg/l										
Grupo controle	0,37	0,3	0,27	0,24	0,27	1,5	0,29	0,27	± 0,000	p<0,05
Grupo gel	0,31	0,24	0,19	0,28	0,21	1,2	0,246	0,24	± 0,000	
Grupo pasta	0,19	0,17	0,18	0,2	0,26	1,0	0,2	0,19	± 0,000	

*Teste Kruskal wallis - $p \leq 0,05$

FONTE: Autor (2011)

Na tabela 2, podem-se verificar os valores acumulados por dia, da massa de cálcio perdida, nos grupos experimentais e grupo controle. Apesar dos grupos controle e gel apresentarem maior perda de Ca^{++} para solução, não houve significância estatística com o grupo pasta, que apresentou menor Ca^{++} perdido.

TABELA 2 - MÉDIA (M), MEDIANA (MED) E DESVIO PADRÃO (DP) DOS VALORES DA MASSA DE CÁLCIO, ACUMULADO NA SOMA DOS DIAS, DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS E GRUPO CONTROLE (ÁGUA).

	Dias acumulados				
	1º	1º + 2º	1º + 2º+ 3º	1º + 2º+ 3º + 4º	1º + 2º+ 3º + 4º + 5º
	Massa Ca^{++} mg/l				
Grupo controle	0,37 ^a	0,67 ^b	0,94 ^c	1,18 ^d	1,45 ^e
Grupo gel	0,31 ^a	0,55 ^b	0,74 ^c	1,02 ^d	1,23 ^e
Grupo pasta	0,19 ^a	0,36 ^b	0,54 ^c	0,74 ^d	1,0 ^e
Média	0,29	0,53	0,74	0,98	1,23
Mediana	0,31	0,55	0,74	1,02	1,23
DP	0,00009	0,00016	0,00020	0,00022	0,00023

^{a,b} – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença entre os tratamentos por dias acumulados a nível de 5% de significância.

*Teste Kruskal wallis – $p \leq 0,05$

FONTE: o autor (2011)

Na tabela 3, foi feita análise estatística entre cada dois grupos, resultado em significância nos valores de Ca⁺⁺ perdido entre os grupos pasta e controle e pasta e gel, já entre os grupos controle e experimental por apresentarem valores aproximados, não apresentou significância estatística.

TABELA 3 - ANÁLISE DA VARIAÇÃO DA MASSA DE CÁLCIO POR DIA DE EXPOSIÇÃO AO DESAFIO EROSIVO, ENTRE OS GRUPOS EXPERIMENTAIS E CONTROLE (ÁGUA).

	DIAS					TOTAL
	1º	2º	3º	4º	5º	
	Massa Ca ⁺⁺ mg/l					
Grupo controle	0,37	0,3	0,27	0,24	0,27	1,5 ^a
Grupo gel	0,31	0,24	0,19	0,28	0,21	1,2 ^a
Grupo pasta	0,19	0,17	0,18	0,2	0,26	1,0 ^b

^{a,b} – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença entre os tratamentos no total de 5 dias a nível de 5% de significância

*Teste Mann Whitney – $p \leq 0,05$

FONTE: Autor (2011)

Na tabela 4, foi realizada a quantidade de Ca⁺⁺ perdida por dias acumulados e os valores por dias acumulados entre os grupos não apresentou diferença estatisticamente significante.

TABELA 4 - ANÁLISE DA VARIAÇÃO DA MASSA DE CÁLCIO PERDIDA POR DIAS ACUMULADOS, ENTRE OS GRUPOS **EXPERIMENTAIS E CONTROLE (ÁGUA)**.DE EXPOSIÇÃO AO DESAFIO EROSIVO, ENTRE OS GRUPOS **EXPERIMENTAIS E CONTROLE**.

	Dias acumulados				
	1^o	1^o + 2^o	1^o + 2^o+ 3^o	1^o + 2^o+ 3^o + 4^o	1^o + 2^o+ 3^o + 4^o + 5^o
	Massa Ca⁺⁺ mg/l				
Grupo controle	0,37	0,67	0,94	1,18	1,45
Grupo gel	0,31	0,55	0,74	1,02	1,23
Grupo pasta	0,19	0,36	0,54	0,74	1,00

^{a,b} – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença entre os tratamentos no total de dias acumulados a nível de 5% de significância

*Teste Mann Whitney – $p \leq 0,05$

FONTE: Autor (2011)

5.3 Microdureza

Após as condições de erosão, pode se observar em todos os blocos aumento das indentações e uma diminuição do polimento em relação ao esmalte hígido.

O teste de Wilcoxon demonstrou que houve diferença significativa ($p \leq 0,005$) entre a microdureza inicial e final dos grupos entre si. Sendo assim, a dureza final superficial foi relativamente baixa em relação à inicial. Diante desta baixa relação pode-se destacar que houve um possível amolecimento da superfície apresentando erosão. Em alguns blocos, não foi possível fazer a medida de microdureza final, pois o alto desafio erosivo promoveu a incapacidade da leitura de dureza superficial, algumas vezes tornando-a impossível de ser realizada corroborando com os resultados encontrados de SCHLUETER *et al.*, 2011. Os valores médios de dureza superficial inicial e final (Knoop) e os desvios padrão dos grupos estão apresentados na tabela 5.

TABELA 5 - MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS VALORES DE MICRODUREZA SUPERFICIAL INICIAL E FINAL DOS 12 BLOCOS EXPOSTOS AO DESAFIO EROSIVO DOS GRUPOS **EXPERIMENTAIS** E **CONTROLE** E SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA DO ANTES DE DEPOIS EM CADA GRUPO.

	Grupo Controle Água		Grupo Gel de Folha de Yacon		Grupo Pasta Feijão de Vagem	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Média	372,87 ^a	3,87 ^b	356,52 ^c	6,92 ^d	373,17 ^e	9,69 ^f
Mediana	377,45	3,00	368,34	8,86	381,39	12,34
Desvio Padrão	±19,91	± 4,09	±29,66	± 4,23	±19,89	± 6,00

^{a,b} – Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença entre os valores de microdureza antes e depois o tratamento, a nível de 5% de significância

*Teste Wilcoxon – $p \leq 0,05$

FONTE: Autor (2011)

TABELA 6 - VALORES DA PORCENTAGEM DA MÉDIA DE DUREZA PERDIDA (%MDP) DA SUPERFÍCIE DO ESMALTE DENTÁRIO DOS BLOCOS NOS 3 GRUPOS (CONTROLE, PASTA E GEL).

	Microdureza final		
	Média Final	%MDP	Desvio Padrão
Grupo Controle	3,87 ^a	98,96%	
Grupo Pasta	9,69 ^a	97,40%	± 0,000
Grupo gel	6,92 ^a	98,05%	

^{a,b} – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença entre os tratamentos por dias acumulados a nível de 5% de significância

*Teste Kruskal wallis – $p \leq 0,05$

FONTE: Autor (2011)

5.4 Análise morfológica da superfície do esmalte por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A micrografia inicial como mostra a Figura 16, se refere ao esmalte bovino hígido, isto é, esmalte bovino polido sem ter sido exposto a solução erosiva. Já a micrografia apresentada na Figura 17, está relacionada com a superfície exposta ao desafio erosivo por solução de ácido cítrico.

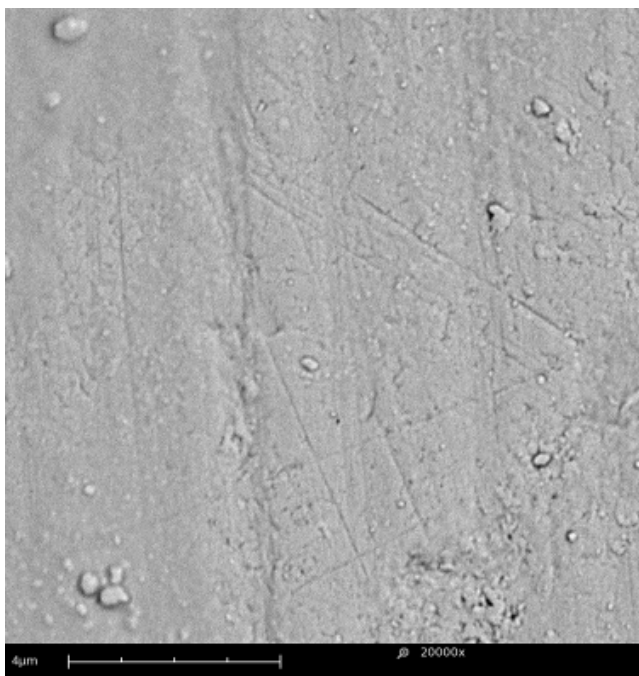


FIGURA 16 - MICROGRAFIA DE ESMALTE BOVINO HÍGIDO (AUMENTO DE 20000X)
FONTE: o autor (2011)

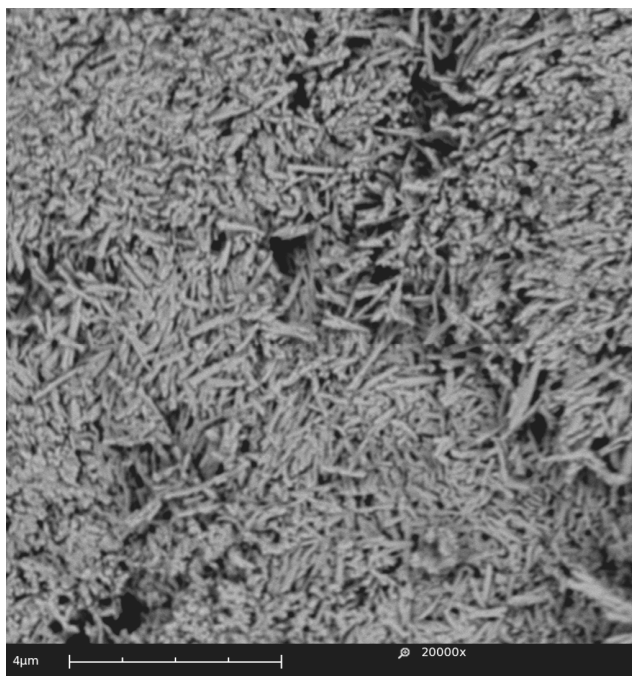


FIGURA 17 - MICROGRAFIA DE ESMALTE BOVINO ERODIDO (AUMENTO DE 20000X)
FONTE: o autor (2011)

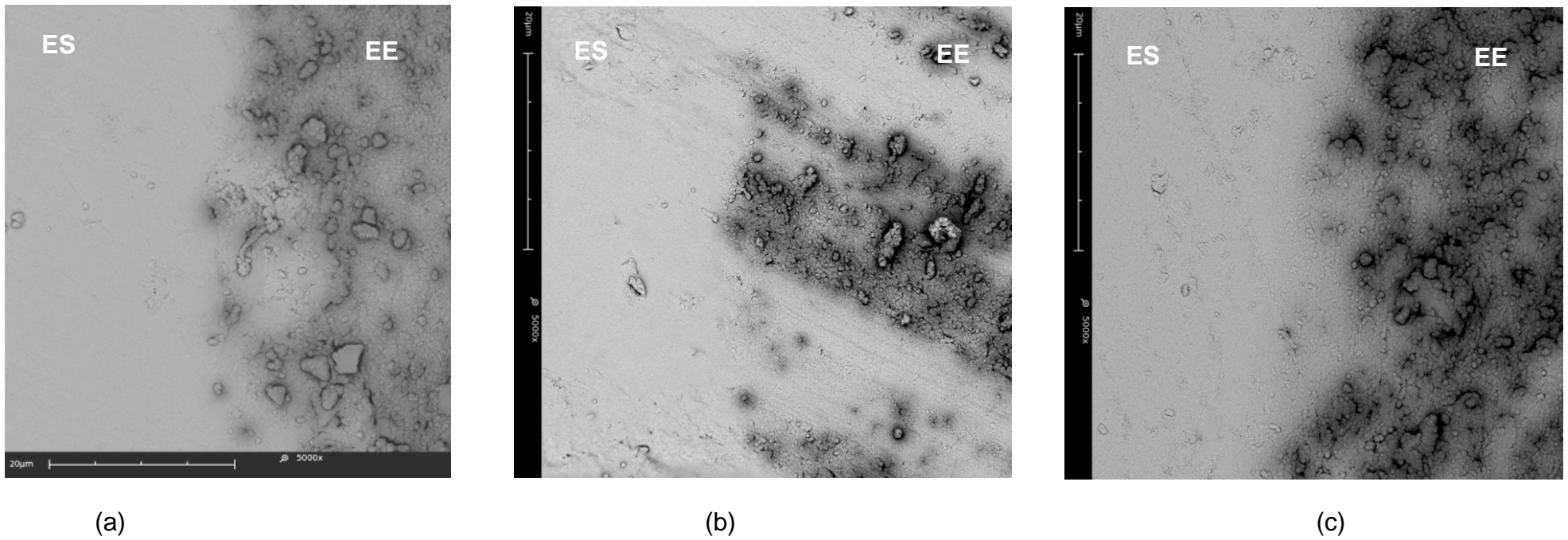


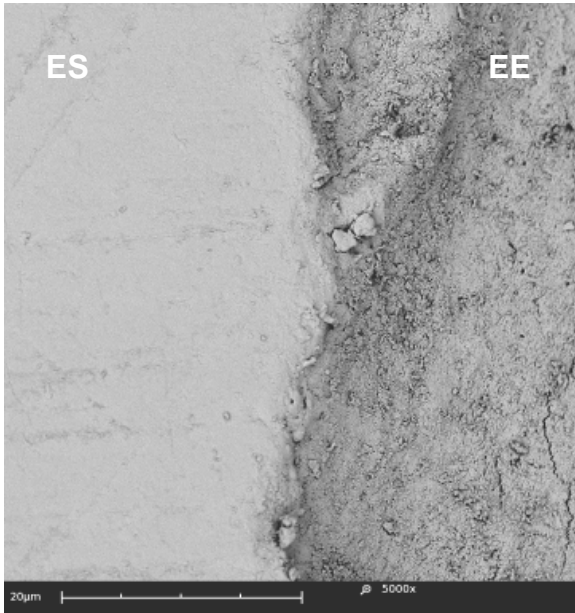
FIGURA 18 - INTERFACE ENTRE ESMALTE SADIO (ES) E ESMALTE ERODIDO (EE) NO 1º DIA DE TRATAMENTO:

(a) GRUPO CONTROLE (5000x)

(b) PASTA DE FEIJÃO DE VAGEM (5000x)

(c) GEL DE FOLHA DE YACON (5000x)

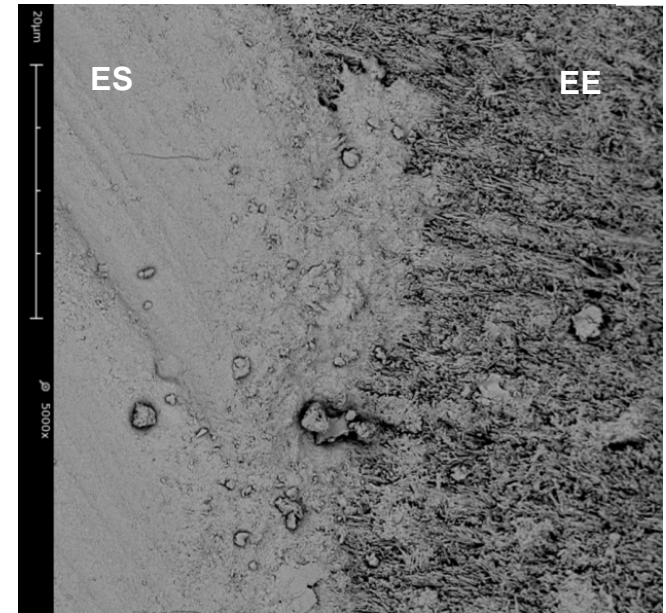
FONTE: o autor (2011)



(a)



(b)



(c)

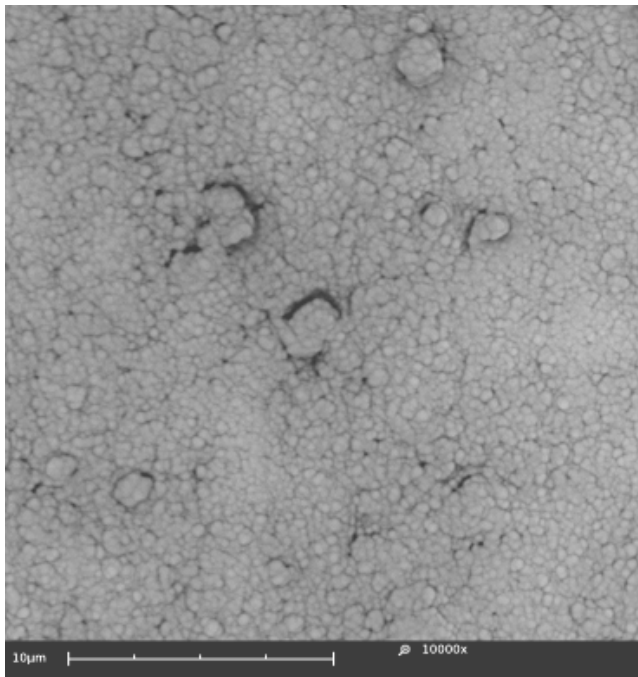
FIGURA 19 - INTERFACE ENTRE ESMALTE SADIO (ES) E ESMALTE ERODIDO (EE) NO 5º DIA DE TRATAMENTO:

(a) GRUPO CONTROLE (5000x)

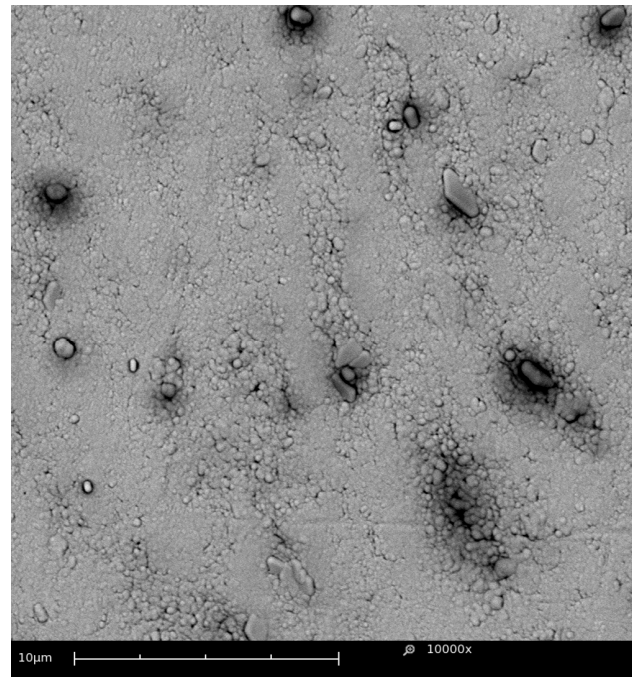
(b) PASTA DE FEIJÃO DE VAGEM (5000x)

(c) GEL DE FOLHA DE YACON (5000x)

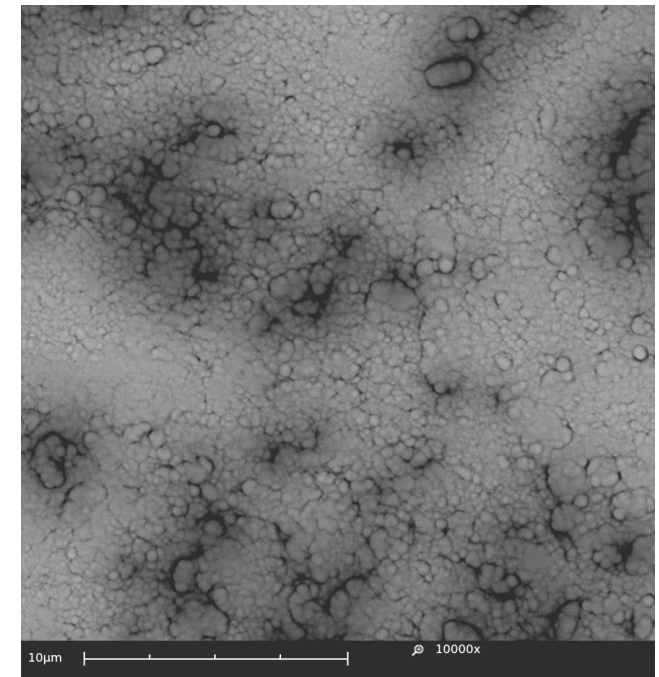
FONTE: o autor (2011)



(a)



(b)



(c)

FIGURA 20 - ESMALTE PROCESSO INICIAL DE DESMINERALIZAÇÃO NO 1º DIA DE TRATAMENTO

(a) GRUPO CONTROLE (10000x)

(b) PASTA DE FEIJÃO DE VAGEM (10000x)

(c) GEL DE FOLHA DE YACON (10000x)

FONTE: o autor (2011)



(a)



(b)



(c)

FIGURA 21 - ESMALTE PROCESSO INICIAL DE DESMINERALIZAÇÃO NO 5º DIA DE TRATAMENTO

(a) GRUPO CONTROLE (10000x)

(b) PASTA DE FEIJÃO DE VAGEM (10000x)

(c) GEL DE FOLHA DE YACON (10000x)

FONTE: o autor (2011)

6 DISCUSSÃO

Atualmente, o enfoque da Odontologia está voltado para a prevenção, buscando manter a integridade das estruturas dentárias visando à promoção da saúde bucal e da qualidade de vida dos pacientes. A Erosão dentária tem sido muito estudada e comentada como fator de risco a saúde bucal.

Um dos fatores que pode influenciar diretamente a progressão da lesão de erosão é a dieta composta por alimentos considerados ácidos (Lussi *et al.*, 2002; Waterhouse *et al.*, 2008; Moynihan *et al.*, 2004). O consumo freqüente de bebidas que contenham ácidos como: cítrico, málico, tartárico e acético contribuem para desmineralização da superfície dentária (Auad *et al.*,2007). A ingestão de doces e pirulitos contendo ácido cítrico e o tempo de permanência na cavidade bucal tem influenciado no aumento da incidência do processo erosivo em crianças e adolescentes (Brand *et al.*,2010).

Pelo aumento de diagnósticos de erosão dentária, as pesquisas que focam a proteção contra perda de superfície de esmalte e dentina têm aumentado na literatura. Dentre os recursos terapêuticos utilizados atualmente, se encontram as soluções que contém vários tipos de compostos fluoretados, estes sozinhos ou associados com outros elementos como: amina, estanho e titânio, têm sido citados com freqüência como fatores eficazes de proteção contra erosão (Ganns *et al.* 2010 ; Yu *et al.*,2010 ; Wiegand *et al.*,2010; Hjortsjö *et al.*,2010 ; Vieira *et al.*,2011 ;Schlueter *et al.*,2009 ; Murakami *et al.* 2009 ; Magalhães *et al.*, 2007 ;Vieira *et al.*,2007; Rees *et al.*2007; Kato *et al.*,2010).

O potencial do uso do cálcio em diminuir o grau de desmineralização dentária devido ao contato por ácidos tem sido constantemente estudado e se tem se mostrado eficaz (Manton *et al.*,2010; Hemingway *et al.*,2011; Wang *et al.*, 2011). O uso de alimentos ricos em cálcio, como um mecanismo de proteção contra ação dos ácidos, ainda possui uma abordagem precoce na literatura. Entretanto, alguns autores buscam pesquisar o efeito da adição de cálcio e fosfato em bebidas, para minimizar o potencial erosivo destas.

Hoopers *et al.* (2007), adicionaram compostos contendo fosfato e calcio em refrigerantes. As bebidas que apresentaram 100 mg/l de cálcio foram capazes de

reduzir o processo de erosão. Já Davis *et al.* (2007) adicionou cálcio na ordem de 1,480 mg/100l em sucos de laranja, e na ordem de 423mg/l para o suco de maçã. Após essa etapa não foi notada nenhuma lesão na superfície dos blocos de esmalte imersos nos sucos fortificados. Entretanto, nos sucos não fortificados, a lesão de erosão foi detectada.

Barbour *et al.* (2003) e Barbour *et al.* (2005), observaram que a suplementação de cálcio em bebidas cítricas, diminui seu potencial erosivo e conseqüentemente apresentando um maior efeito protetor. O uso de alta concentração de cálcio associado à exposição ao baixo desafio erosivo, contribuíram para um resultado positivo. Em contrapartida, Magalhães *et al.* (2010), não conseguiram um efeito protetor no seu experimento. Mesmo com o desafio erosivo baixo, os autores relacionaram a baixa quantidade de cálcio adicionada ao refrigerante cítrico, como fator contra a proteção da superfície.

Neste estudo os alimentos a serem testados, como possíveis protetores contra erosão dentária, foi feijão de vagem e folha de yacon. O caráter desta escolha foi devido à quantidade de cálcio encontrada em cada um deles. No feijão de vagem crua, a quantidade identificada foi de 64,42 mg/100g, sendo muito próximo ao valor observado por Figueira (2000), de 40mg/100g no vegetal cozido. Os valores de cálcio do feijão, se aproximam da quantidade de cálcio encontrado no leite de vaca (103 mg/100g), segundo Güdtner *et al.*(1997).

Em relação à folha de yacon, foi obtido uma quantidade de cálcio de 209,35 mg/100g, sendo menor do que descrito na literatura 831,05mg/100g, encontrado por Silva *et al* (2004). É importante ressaltar que a quantidade de Cálcio encontrada no presente estudo e no estudo de Silva *et al* (2004) a matéria (folha de yacon) se apresentavam em base seca.

Apesar do número de amostras no presente estudo não ser elevado, os resultados foram consistentes em revelar que houve uma tentativa de efeito protetor por parte da pasta de feijão de vagem.

A variação dos íons cálcio na solução após exposição com os blocos de dentes tratados tanto com a pasta e o gel experimental, apresentaram comportamentos diferentes nos primeiros 3 dias. Ao se comparar os grupos água e pasta, foi observada uma possível resistência da solução erosiva em agregar íons cálcio no grupo pasta. Já o grupo tratado com água destilada apresentou uma alta quantidade de Ca^{++} logo no primeiro dia, com uma tendência a se estabilizar até o último dia,

apresentando que pode ter ocorrido uma maior erosão logo nos primeiros dias, promovido pela perda de esmalte dentário. Entre os grupos controle e pasta foi observado significância estatística ($p \leq 0,01$).

O fato da pasta de feijão de vagem estar *in natura* e sem conservantes, pode ter sido um fator positivo para menor variação de íons cálcio. Segundo Grusak *et al.* (1996), deve ser levado em consideração que o cálcio presente no feijão de vagem é prontamente absorvido pelo organismo. Dessa forma, além das contribuições que a vagem acarreta para o organismo humano com sua ingestão, futuramente, após estudos mais precisos, pode vir a ser um fator de proteção contra erosão.

Com relação à folha de yacon, a manipulação do gel pode ter influenciado na quantidade e na liberação de cálcio para superfície do esmalte dentário. Devido a isso, o efeito foi semelhante ao grupo controle, não apresentando diferença estatística entre eles ($p > 0,01$).

O tempo de desafio erosivo (30 minutos, 1x ao dia) e o pH da solução (2,6) pode ter sido um dos fatores que influenciaram para um melhor resultado de proteção. Segundo Wiegand & Attin (2011), o desafio erosivo deve ser realizado, *in vitro*, de 15 s a 40 min, variando o tempo de erosão devido ao pH da solução ácida. No uso de soluções com pH muito abaixo de 6,3, a amostra deve ser exposta menos vezes ao desafio erosivo, caso contrário a progressão será muito rápida necessitando de uma proteção mais eficaz (Barbour *et al.*, 2011).

O ácido cítrico, por sua vez, apresenta uma dupla ação no esmalte dentário. Além do efeito dos íons de hidrogênio, os ânions (citrato) podem se ligar ao cálcio dos cristais da superfície dentária, reduzindo a supersaturação da saliva e levando a uma constante dissolução do esmalte (Lussi *et al.*, 2008). Outra característica relevante do ácido cítrico é o fato, de estar associado à quelação de íons cálcio do dente e da saliva. Este fenômeno provoca a diminuição do cálcio na superfície, resultando em progressiva desmineralização no esmalte dentário (Magalhães *et al.*, 2010; Amaechi *et al.*, 1999).

É importante considerar a pesquisa de Chuenarrom & Benjakul (2010), apesar de a sua metodologia apresentar um desafio erosivo alto (15 min, 1 x ao dia, por 29 dias) e ácido (pH entre 2,7 e 3,1), a quantidade de cálcio do elemento protetor, no caso a pasta de camarão fermentado (13,7 mg/g), foi determinante para um efeito protetor positivo frente o amolecimento da superfície. Outro ponto importante que influenciou no efeito protetor, foi o uso de saliva artificial.

Consagrada na literatura como fator importante para proteção dentária, a exposição à saliva tem se mostrado eficaz na remineralização do esmalte erodido (Amaechi & Higham, 2001). A saliva forma uma película adquirida sobre a superfície do esmalte, aumentando a deposição de cálcio e fosfato e dificultando a difusão de ácidos sobre a superfície mineralizada (Cheug *et al.*,2005).

A dureza final superficial, após exposição com solução ácida, apresentou valores muito baixos em relação à inicial. Analisando os dados, pode-se pressupor um amolecimento da superfície apresentando erosão. Devido à exposição a um alto desafio erosivo, em alguns blocos a leitura de microdureza se torna impossível de ser realizada (SCHLUETER *et al.*,2011). Seria ideal o uso de perfilometria para avaliar com maior precisão a quantidade de tecido dentário erodido (Ganns *et al.*,2005).

As micrografias apresentaram como resultado algo coerente com o que foi observado nos teste de variação de cálcio na solução erosiva e microdureza da superfície. Os espécimes submetidos ao tratamento com pasta de feijão de vagem e gel de folha de yacon apresentaram logo no primeiro dia uma superfície irregular. As análises de MEV após o ultimo dia de tratamento e exposição ao ácido cítrico, mostraram uma progressiva destruição do esmalte. O esmalte prismático da superfície se apresentou desorganizado, como descrito por Meurman e Frank (1991) e aparentemente erodido.

7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados deste estudo e considerando as condições experimentais empregadas, pode-se concluir que a pasta de feijão de vagem apresentou menor quantidade de perda de cálcio nos 05 dias. Mesmo apresentado um efeito protetor, a pasta não foi suficientemente capaz de proteger totalmente o dente frente ao desafio erosivo empregado nesta pesquisa.

Em relação ao grupo controle e gel de folha de yacon, logo no primeiro dia já apresentaram uma grande perda de cálcio, indicando processo erosivo. Apesar dos três grupos serem estatisticamente significante ($p \leq 0,05$) nos valores de Ca^{++} perdido por dia, os grupos controle e gel não apresentaram efeito de proteção. No que diz respeito à quantidade de Ca^{++} acumulado entre o 1º e 5º dia, não houve diferença estatística entre os três grupos ($p > 0,05$).

Conclui-se que o desafio erosivo em alto grau ácido ($pH < 5.0$), pode mascarar o efeito protetor de novos produtos frente a erosão. Neste caso, a solução ácida deve apresentar valor de pH maior e o tempo de contato da superfície do esmalte dentário com a solução deve ser menor e o mais breve possível.

Houve uma diferença estatisticamente significante entre a microdureza inicial e final dos grupos experimentais e grupo controle, apresentando um possível amolecimento da superfície do esmalte dentário e indicando um efeito protetor negativo das soluções testes;

A microscopia eletrônica de varredura, foi nítida em mostrar que os grupos experimentais sofreram erosão dentária após o 5 dias de tratamento. Sendo assim a pasta e o gel não foram totalmente capazes de proteger o esmalte contra os efeitos do ácido cítrico.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AMAECHI, B.T.; HIGHAM S.M.; EDGAR W.M. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 26, p. 624–630, 1999
- AMAECHI, B.T.; HIGHAM, S.M. *In vitro* remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. **J. Dent.**, 29, p.371–376, 2001.
- AUAD S., MOYNIHAN P. Diet and dental erosion. **Quintessence international nutrition & oral health**, v. 37. n. 2, 2007.
- BARRON, R.P.; CARMICHAEL, R.P.; MARCON, M.A.; SANDOR, G.K. Dental erosion in gastroesophageal reflux disease. **J Can Dent Assoc**, 69, p. 84-9, 2003.
- BARBOUR, M.E; LUSSI, A.; SHELLIS, R.P. Screening and Prediction of Erosive Potential **Caries Res**, v. 45, p. 24–32, 2011.
- BARBOUR, M.E.; PARKER, D.M.; ALLEN G.C.; JANDT, K.D. Enamel dissolution in citric acid as a function of calcium and phosphate concentrations and degree of saturation with respect to hydroxyapatite. **Eur J Oral Sci** , v. 111, p. 428–433, 2003.
- BARBOUR, M.E.; PARKER, D.M.; ALLEN, G.C.; JANDT, K.D. Human enamel erosion in constant composition citric acid solutions as a function of degree of saturation with respect to hydroxyapatite. **J Oral Rehabil**, v.32, p. 16–21, 2005.
- BARTLETT, D. Intrinsic causes of erosion. **Monogr Oral Sci**, v. 20, p. 119-39, 2006.
- BEYER, M.; REICHERT, J.; HEURICH, E.; JANDT, K.D.; SIGUSCH, B.W. Pectin, alginate and gum arabic polymers reduce citric acid erosion effects on human enamel. **Dental materials**, v. 26, p. 831–839, 2010.
- BRANCO, C.A.; VALDIVIA, A.D.C.M.; SOARES, P.B.F.; FONSECA, R.B. FERNANDES NETO, A.J.; SOARES, C.J. Dental erosion: diagnosis and treatment options. **Rev Odontol UNESP**, v. 37, n.3, p. 235-242, 2008.
- BRAND, H.S.; TJOE FAT, G.M.; VEERMAN, E.C.I. The effects of saliva on the erosive potential of three different wines. **Australian Dental Journal**, v.54: p. 228–232, 2009.
- BRAND, H.S. ;GAMBON, D.L.; VAN DOP, L.F.; VAN LIERE, L.E.; VEERMAN, E. C. I. The erosive potential of jawbreakers, a type of hard candy. **Int J Dent Hygiene** , v. 8, p. 308–312, 2010.
- BRETAS, R.E.S.; D' AVILA, M.A. **Reologia de polímeros fundidos**. São Carlos/SP: Editora UFSCar, 2000.

BUENO, M. G.; MARSICANO, J.A.; SALES-PERES, S.H.C. Preventive effect of iron gel with or without fluoride on bovine enamel erosion in vitro. **Australian Dental Journal**, 55, p.177–180, 2010.

CHEUNG, A.; ZID, Z.; HUNT, D.; MCINTYRE, J. The potential for dental plaque to protect against erosion using an in vivo-in vitro model – A pilot study. **Australian Dental Journal**, v. 50. n. 4, p. 228-234, 2005.

CHUNMUANG, S.; JITPUKDEEBODINTRA, S.; CHUENARROM, C., BENJAKUL, P. Effect of Xylitol and Fluoride on Enamel erosion In Vitro. **Journal of Oral Science**, v.49, n. 4, p. 293-297, 2007.

CHUENARROM, C.; BENJAKUL, P. Dental erosion protection by fermented shrimp paste in acidic food. **Caries Res**, v. 44, p. 20–23, 2010.

DAVIS, R.E.; MARSHALL, T.A.; QIAN, F.; WARREN, J.J.; WEFEL, J.S. In vitro protection against dental erosion afforded by commercially available, calcium fortified 100 percent juices. **J Am Dent Assoc**, v. 138, p. 1593–1598, 2007.

DUARTE, M.R.; WOLF, S., DE PAULA, B.G. *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. (yacón): identificação microscópica de folha e caule para o controle de qualidade farmacognóstico. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 44, n. 1, 2008.

EISENBURGER, M.; ADDY, M.; HUGHES, J.A.; SHELLIS, R.P., Effect of time on remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. **Caries Res**, v. 35, p. 211–215, 2001.

EISENBURGER, M., HUGHES, J.A.; WEST, N.X.; JANDT, K.D.; ADDY, M. Ultrasonication as a method to study enamel demineralisation during acid dissolution. **Caries Res**, v. 34, n. 4, p.289–294, 2000.

EKHOLM, P.; REINIVUO, H.; MATTILA P.; PAKKALA, H.; KOPONEM J.; HAPPONEM, A.; HELLSTRÖM, J.; OVASKAINEN, M. L. Changes in the mineral and trace element contents of cereals, fruits and vegetables in Finland. **Journal of food Composition and Analysis**, v. 20, p. 487 – 495, 2007.

FUSHIDA, C.E., CURY, J.A. Estudo *in situ* do efeito da frequência de ingestão de coca-cola na erosão de esmalte-dentina e reversão pela saliva. **Rev Odontol Univ. São Paulo**, v. 13, n.2, p. 127-34, 1999.

GANSS, C.; LUSSI, A.; KLIMEK, J. Comparison of calcium/phosphorus analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosive demineralisation. **Caries Res**, v. 39, p. 178–184, 2005.

GANSS, C.; NEUTARD, L.; VON HINCKELDEY, J.; KLIMEK, J.; SCHLUETER, N. Efficacy of a Tin/Fluoride Rinse: a Randomized in situ Trial on Erosion. **J Dent Res**, v. 89, n.11, p. 1214-1218, 2010.

GRAY, A.; FERGUSON, M.M.; WALL, J. G. Wine tasting and dental erosion. Case report. **Australian Dental Journal**, v. 43, n.1, p.32-4, 1998.

GRIPPO, J. O.; SIMRING, M.; SCHREINER, S. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. **J Am Dent Assoc**, v.135, p. 1109-18, quiz 63-5, 2004.

GRUSAK, M.A.; PEZESHGI, S.; O'BRIEN, K.O.; ABRANS, S.A. Intrinsic ⁴²Ca labelling of green bean pods for use in human bioavailability studies. **Journal Science Food Agronomic**, v. 70, p. 11-15, 1996.

IMFELD, T. Dental Erosion: definition, classification and links. **Eur J Orthodont Sci**, v.104. n. 1, p. 5-155, 1996.

HEMINGWAY, C.A.; WHITE, A.J.; SHELLIS, R.P.; ADDY, M., PARKER, D.M.; BARBOUR, M. E. Enamel Erosion in Dietary Acids: Inhibition by Food Proteins in vitro. **Caries Res**, v. 44, p. 525–530, 2010.

HJORTSJÖ, C.; JONSKI, G.; YOUNG, A.; SAXEGGARD, E. Effect of acidic fluoride treatments on early enamel erosion lesions - A comparison of calcium and profilometric analyses. **Archives of oral biology**, v. 55, p. 229-234, 2010.

HOOPER, S.M.; NEWCOMBE, R.G.; FALLER, R.; EVERSOLE, S.; ADDY, M.; WEST, N.X. The protective effects of toothpaste against erosion by orange juice: Studies in situ and in vitro. **Journal of dentistry**, v. 35; p. 476 – 481, 2007.

KATO, M.F.; MAGALHÃES, A.C.; RIOS, D.; HANNAS, A.R.; ATTIN, T.; BUZALAF M.A.R. Protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion. **J Appl Oral Sci.**, v. 17, n.6, p. 560-4, 2009.

KATO, M.T.; LEITE, A.L.; HANNAS, A.R.; BUZALAF, M.A.R. Gels containing MMP Inhibitors Prevent Dental Erosion in situ. **J Dent Res**, v. 89, n.5, p. 468-472, 2010.

KATO, M.T.; LANCIA, M.; SALES-PERES, S.H.C.; BUZALAF, M.A.R. Preventive Effect of Commercial Desensitizing Toothpastes on Bovine Enamel Erosion in vitro. **Caries Res**, v. 44, p. 85–89, 2010.

LARSEN, M.J. Demineralization of human enamel. **Scand J Dent Res.**,v. 82, p. 491-5, 1974.

LUSSI, A.; SCHLUETER, N.; RAKHMATULLINA, E.; GANSS, C. Dental Erosion – An Overview with Emphasis on Chemical and Histopathological aspects. **Caries Res** , v. 45, p. 2–12, 2011.

LUSSI, A. Erosive tooth wear - a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. **Monogr Oral Sci.**, v. 20, p. 1-8, 2006.

LUSSI, A.; JAEGGI, T. Erosion – diagnosis and risk factors. **Clin Oral Invest.**, v. 12, p. S5-S13, 2008.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; SCHAFFNER, M. Diet and Dental Erosion. **Nutrition**, v. 18, n. 9, 2002.

MAGALHÃES, A.C.; STANCARI, F.H.; RIOS, D.; BUZALAF, M.A.R. Effect of an experimental 4% titanium tetrafluoride varnish on dental erosion by a soft drink. **Journal of dentistry**, v. 35, p. 858 – 861, 2007.

MAGALHÃES, A.C.; WIEGAND, A.; RIOS, D.; HONÓRIO, H.M.; BUZALAF, M.A.R. Insights into preventive measures for dental erosion. **J Appl Oral Sci.**, v. 17, n.2, p. 75-86, 2009.

MAGALHÃES, A.C.; WIEGAND, A.; RIOS, D.; HANNAS, A.; ATTIN, T.; BUZALAF, M.A.R. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. **Journal of dentistry**, v. 37, p. 994–998, 2009.

MAGALHAES, A.C.; MORAES, S.M.; RIOS, D.; WIEGAND, A.; BUZALAF, M.A. The erosive potential of 1% citric acid supplemented by different minerals: an in vitro study. **Oral Health Prev Dent.**, v. 8, n.1, p. 41-5, 2010.

MANDEL, L. Dental erosion due to wine consumption **JADA**, v. 136, n.1, p. 71 – 05, 2005.

MANTON, D.J.; CAI, F.; YUAN, Y.; WALKER, G.D.; COCHRANE, N.J.; REYNOLDS, C.; BREARLEY-MESSER, L.J.; REYNOLDS, E.C. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate added to acidic beverages on enamel erosion in vitro. **Australian Dental Journal**, v. 55, p. 275–279, 2010.

MEURMAN, J.H. FRANK, R.M. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. **Caries Res.**, v. 25, p. 81-7, 1991.

MIGLIORANZA, E.; ARAUJO, R.; ENDO, R.M.; SOUZA, J.R.P.; MONTANARI, M.A. Teor de cálcio em frutos de diferentes cultivares de feijão-vagem. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n.2, p. 158 – 161, 2003.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Revista eletrônica de farmácia*, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MOSCATTO, J. A.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H.; HAULY, M. C. O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 634-640, 2004.

MOYNIHAN, P.; PETERSEN, P.E. Diet, nutrition and the prevention of dental diseases. **Public Health Nutrition**, v. 7, p. 201–226, 2004.

MULIC, A.; TVEIT, A.B.; HOVE, L.H.; SKAARE, A.B. Dental erosive wear among Norwegian wine tasters. **Acta Odontol Scand**, v. 69, n. 1, p. 21-26, 2009.

MURAKAMI, C.; BÖNECKER, M.; CORRÊA, M.S.N.P.; MENDES, F.M., RODRIGUES, C.R.M.D. Effect of fluoride varnish and gel on dental erosion in primary and permanent teeth. **Archives of oral biology**, v. 54, p. 997 – 1001, 2009.

MURAKAMI, C.; OLIVEIRA, L.B.; SHEIHAM, A; CORRÊA, M.S.N.P.; HADDAD, A.E.; BÖNECKER, M. Risk Indicators for Erosive Tooth Wear in Brazilian Preschool Children. **Caries Res** , v. 45, p. 121–129, 2011.

HUGO, F.N.; SOUZA, M.A.L.; DE CORSO, A.C., PADILHA, D.M.P. Efeito erosivo in vitro de um vinho tinto brasileiro sobre esmalte bovino observado em microscopia eletrônica de varredura. **Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS**, v. 21, n. 51, 2006.

NEVILLE, W.N.; DAMM, D.D.; ALLEN, C.M.; BOUQUOT, J.E. **Patologia Oral & Maxilofacial**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake. **JAMA**, 272: p. 1942-1948, 1994.

OJANSIVU, I.; FERREIRA, C.L.; SALMINEN, S. Yacon, a new source of prebioticoligosaccharides with a history of safe use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 40-46, 2011.

OLIVEIRA, R.B.; DE PAULA, D.A.C.; ROCHA, B.A.; FRANCO, J.J.; GOBBO-NETO, L.; SÉRGIO UYEMURA, A.; SANTOS, W.F.; COSTA, F.B. Renal toxicity caused by oral use of medicinal plants: The yacon example. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 434–441, 2011.

OKUNSERI, C.; OKUNSERI, E.; GONZALEZ, C.; VISOTCKY, A.; SZABO, A. Erosive Tooth Wear and Consumption of Beverages among Children in the United States. **Caries Res**, v. 45, p. 130–135, 2011.

PRATI, P.; BERBARI, S.A.G.; PACHECO, M.T.B.; SILVA, M.G.; NACAZUME, N. Estabilidade dos componentes funcionais de geleia de yacon, goiaba e acerola, sem adição de açúcares. **Braz. J. Food Technol.**, v. 12, n. 4, p. 285-294, 2009.

POGGIO, C.; LOMBARDINI, M.; COLOMBO, M.; BIANCHI, S. Impact of two toothpastes on repairing enamel erosion produced by a soft drink: An AFM in vitro study. **Journal of dentistry**, v. 38; p. 868 – 874, 2010.

REES, J.; LOYN, T.; CHADWICK, B. Pronamel and tooth mousse: An initial assessment on erosion prevention in vitro. **Journal of dentistry**, v. 35, p. 355–357, 2007.

SANTANA, I.; CARDOSO, M.H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. 898 **Ciências Rurais, Santa Maria**, v.38, n.3, p.898-905, 2008.

SCHWEIZER-HIT, C.M.; SCHAIT, A.; SCHMID, R.; IMFELD, T.; LUTZ, F.; MÜHLEMANN, H.R. Erosion und abrasion des Schmelzes. **Eine experimentelle Studie. Schweiz Monatsschr Zahnheilk**, v. 88, n. 5, p. 497-529, 1978.

SCHLUETER, N.; KLIMEK, J.; GANSS, C. In vitro efficacy of experimental tin- and fluoride-containing mouth rinses as anti-erosive agents in enamel. **Journal of dentistry**, v. 37, p. 944–948, 2009.

SERAIDARIAN, P.I.; JACOB, M.F. Erosão dental: etiologia, prevalência e implicações clínicas. **J Bras Clin Odontol Int.**, n. 6, p. 140-144, 2002.

SETAREHNEJAD, A.; KANEKANIAN, A.; TATHAM, A.; ABEDI, AH. The protective effect of caseinomacropeptide against dental erosion using hydroxyapatite as a model system. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 652 – 656, 2010.

SILVA, A.T.A.J.; RODRIGUES, R.; DAHER, R.F.; LEAL, N.R.; SCHUELTER A.R. Análise dialéctica da capacidade combinatória em feijão-de-vagem. **Hortic Bras**, v. 22, n.2, 2004.

SILVA, E.B. CÂNDIDO, L.M.B.; SABINO, J.; FREITAS, R.J.S.; STERTZ, S. C. Composição química da raiz e das folhas de Yacon desidratadas (*Polymnia sonchifolia* Poepp.). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.6, n.3, p. 48-52, 2004.

SHELLIS, R.P.; FINKE, M.; EISENBURGER, M.; PARKER, D.M.; ADDY, M. Relationship between enamel erosion and liquid flow rate. **European Journal of Oral Sciences**, v. 113, p. 232–238, 2005.

SOUZA, J.G.; ROCHEL, I.D.; PEREIRA, A.F.F.; SILVA, T.C.; RIOS, D.; MACHADO, M.A.A.M.; BUZALAF, M.A.R.; MAGALHAES, A.C. Effect of experimental xylitol varnishes and solutions on bovine enamel erosion *in vitro*. **Journal of Oral Science**, v. 52, n. 4, 553-559, 2010.

STEINER-OLIVEIRA, C.; NOBRE-DOS-SANTOS, M.; ZERO, D.T.; ECKERT, G.; HARA, A.T. Effect of a pulsed CO₂ laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. **Archives of oral biology**, v. 55, 127 –133, 2010.

TEN CATE, J.M.; IMFELD, T. Preface:workshop on the etiology, mechanisms and implications of dental erosion. **Eur J Oral Sci**, v. 104, n. 2, p. 149, 1996.

TEN CATE, J.M.; IMFELD, T. Dental erosion, summary. **Eur J Oral Sci**, v. 104, p. 241–4, 1996.

VIEIRA, A.; JAGER, D.H.J.; RUBEN, J.L.; HUYSMANS, M.C.D.N.J.M. Inhibition of Erosive Wear by Fluoride Varnish. **Caries Res**, v. 41, p. 61–67, 2007.

VIEIRA, A.M.; RUBEN, J.; BRONKHORST, E.M.; HUYSMANS, M.C.D.N.J.M. In vitro Reduction of Dental Erosion by Low-Concentration TiF₄ Solutions. **Caries Res**, v. 45, p. 142–147, 2011.

VILHENA, S.M.C.; CÂMARA, F.L.A.; KAKIHARA, S.T. O cultivo de yacon no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 18, p. 5–8, 2000.

GRÜDTNER, V.S.; WEINGRILL, P. FERNANDES, A.L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Rev Bras Reumatol**, v. 37, n. 3 – Mai/Jun, 1997.

WANG X., LUSSI A. Assessment and Management of Dental Erosion. **Dent Clin N Am**, v. 54, p. 565–578, 2010.

WATERHOUSE, P.J.; AUAD, S.M.; NUNN, J.H., STEEN, I.N.; MOYNIHAN, P.J. Diet and dental erosion in young people in south-east Brazil. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 18, p. 353–360, 2008.

WIEGAND, A; ATTIN, T. Design of Erosion/Abrasion Studies – Insights and Rational Concepts. **Caries Res**, v. 45, p. 53–59, 2011.

WIEGAND, A.; MAGALHÃES, A.C.; NAVARRO, R.S.; SCHMIDLIN, P.R.; RIOS, D.; BUZALAF, M.A.R.; ATTIN, T. Effect of Titanium Tetrafluoride and Amine Fluoride Treatment Combined with Carbon Dioxide Laser Irradiation on Enamel and Dentin Erosion. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. 2. p. 219 – 226, 2010.

WIEGAND, A.; LAABS, K.A.; GREBMANN, G.; MALGORZATA, R.; MAGALHÃES, A.C.; ATTIN, T. Protection of short-time enamel erosion by different tetrafluoride compounds. **Archives of oral biology**, v. 53, p. 497- 502, 2008.

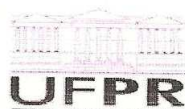
WIEGAND, A.; GUTSCHE, M.; ATTIN, T. Effect of olive oil and an olive-oil-containing fluoridated mouthrinse on enamel and dentin erosion in vitro. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 65, p. 357-361, 2007.

WHITE, A.J.; GRACIA, L.H.; BARBOUR, M.E. Inhibition of Dental Erosion by Casein and Casein-Derived Proteins. **Caries Res**, v. 45, p. 13–20, 2011.

YU, H.; WEGEHAUPT, F.J.; ZARUBA, M.; BECKER, K.; ROOS, M.; ATTIN, T.; WIEGAND, A. Erosion-inhibiting potential of a stannous chloride-containing fluoride solution under acid flow conditions in vitro. **Archives of oral biology**, v. 55, p. 702 – 705, 2010.

ANEXOS

ANEXO 1



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 008/2011, referente ao projeto “Avaliação *in vitro* do efeito protetor da pasta de vagem e do gel de folha de Yacon frente a erosão dentária”, sob a responsabilidade de Carolina Dea Bruzamolin, na forma que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 29 de abril de 2011. Este certificado expira em 29 de abril de 2012.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 008/2011, regarding the project “*In vitro* evaluation of the protective effect on bean paste and gel sheet Yacon front tooth erosion”, in charge of Carolina Dea Bruzamolin, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on April, 2011. This certificate expires on April, 2012.

Curitiba, 29 de abril de 2011.

Geraldo Camilo Alberton
Presidente

Patrick Schmidt
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná.

ANEXO 2

DECLARAÇÃO DE DOAÇÃO DE DENTES BOVINOS

Identificação do Doador

Empresa: FRIGORÍFICO ARGUS LTDA

CNPJ nº: 81304552/0001-95

Endereço: Br 376 KM 19,5 S/N. Miringuava.

Cidade: São José dos Pinhais - UF: PR - CEP: 83015-000

Telefone para contato: 41 3382-3883

Declaro, para fins de avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR, que a empresa FRIGORÍFICO ARGUS LTDA doará 150 dentes bovinos para o projeto de pesquisa **“Avaliação *in vitro* do efeito protetor da pasta de Vagem e do gel de folha de Yacon frente à erosão dentária”** do Curso de Pós-graduação (Mestrado) em Odontologia da Universidade Federal do Paraná. Afirmo também que estes dentes bovinos serão coletados após o abate dos animais, sendo este abate realizado dentro dos propósitos industriais do frigorífico e sem o fim específico de atender a demanda da pesquisa citada.

São José dos Pinhais, dia 28 de Fevereiro de 2011.

Nome: Ricardo José Di PretorcFunção no Frigorífico Argus Ltda: Ger. ComercialAssinatura: Ricardo José Di Pretorc

Ricardo José Di Pretorc
Gerente Comercial

ANEXO 3


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR DE TECNOLOGIA

CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

 CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01
 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Nº127416

PRODUTO: FOLHAS DE YACON

FABRICANTE/PRODUTOR: Não consta

SOLICITANTE: Carolina Déa Bruzamolín

ENDEREÇO: Rua Santa Rita Durão, 333 São Lourenço - Curitiba/PR

PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº: 1706 – 26/11/10

AMOSTRA: 5198/10

RESULTADOS

01/01

Informações da amostra

Acondicionada em:	01 saco plástico opaco	Temperatura:	ambiente
Peso/Volume aproximado de:	214 g	Responsável pela coleta:	solicitante

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

	Unidade de medida	Resultado
Cálcio	mg /100g	209,35


REFERÊNCIA

 CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. **Determinação de Elementos Metálicos por Absorção Atômica.** PE-LE-002/R08. Curitiba, 2009. 16 p.

Dados do ensaio:
Início: 03/12/10 **Término:** 21/12/10

Executora Técnica: Louize Cactano


 Andrea B. G. Bonassoli
 Gerente Técnica (Substituta)
 CRQ 09201025 - 9ª Região


 Jackeline Taveira Cangussu
 Coordenadora do Laboratório
 CRQ 09200768 – 9ª região

/S

Curitiba, 21 de Dezembro de 2010

OBSERVAÇÃO: • A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.
 • AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.
 • É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.

ANEXO 4



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR DE TECNOLOGIA

CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01
 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Nº127417

PRODUTO: FEIJÃO DE VAGEM

FABRICANTE/PRODUTOR: Não consta

SOLICITANTE: Carolina Déa Bruzamolín

ENDEREÇO: Rua Santa Rita Durão, 333 São Lourenço - Curitiba/PR

PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº: 1706 - 26/11/10

AMOSTRA: 5199/10

RESULTADOS

01/01

Informações da amostra			
Acondicionada em:	01 saco plástico opaco	Temperatura:	ambiente
Peso/Volume aproximado de:	98 g	Responsável pela coleta:	solicitante

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

	Unidade de medida	Resultado
Cálcio	mg /100g	64,42

REFERÊNCIA

CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. Determinação de Elementos Metálicos por Absorção Atômica. PE-LE-002/R08. Curitiba, 2009. 16 p.

Dados do ensaio:

Início: 03/12/10 Término: 21/12/10

Executora Técnica: Louize Caetano

Andrea B. G. Bonassoli
 Gerente Técnica (Substituta)
 CRQ 09201025 - 9ª Região

Jackeline Taveira Cangussu
 Coordenadora do Laboratório
 CRQ 09200768 - 9ª região

/S

Curitiba, 21 de Dezembro de 2010

OBSERVAÇÃO: * A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.

* AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.

* É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR DE TECNOLOGIA

CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01
 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

01/01

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Nº 130419

PRODUTO: EXTRATO DE FOLHAS DE YACON ALCÓOLICO

FABRICANTE/PRODUTOR: Não consta.

SOLICITANTE: Carolina Déa Bruzamolín

ENDEREÇO: Rua Santa Rita Durão, 333 – São Lourenço – Curitiba/PR

PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº: 767 – 29/06/11

AMOSTRA: 2654/11

Informações da amostra			
Acondicionada em:	01 frasco de vidro	Temperatura:	Ambiente
Peso/Volume aproximado de:	50 gramas	Responsável pela coleta:	Solicitante

RESULTADOS

PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO

	Resultado (mg/kg)	Resultado (mg/L)
Cálcio	1,48	1,62

METODOLOGIA

CEPPA, Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. *Análise de Alimentos por ICP-OES*. PE-LE-033/R01. Curitiba, 2010. 11 p.

Dados do ensaio:

Início: 05/07/11 Término: 13/07/11

Executora Técnica: Andrea B. G. Bonassoli

/S

Curitiba, 13 de julho de 2011.


 Emília Borges
 Gerente Técnica
 CRQ 09100126


 Jacqueline Taveira Cangussi
 Coordenadora do Laboratório
 CRQ 09200768 – 9ª Região

OBSERVAÇÃO: • A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.

• AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.

• É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.

ANEXO 6



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR DE TECNOLOGIA

CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01

CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647

e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

01/01

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Nº130418

PRODUTO: EXTRATO DE FOLHAS DE YACON AQUOSA

FABRICANTE/PRODUTOR: Não consta.

SOLICITANTE: Carolina Déa Bruzamolín

ENDEREÇO: Rua Santa Rita Durão, 333 – São Lourenço – Curitiba/PR

PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº: 766 – 29/06/11

AMOSTRA: 2654/11

Informações da amostra			
Acondicionada em:	01 frasco de vidro	Temperatura:	Ambiente
Peso/Volume aproximado de:	50 gramas	Responsável pela coleta:	Solicitante

RESULTADOS

PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO

	Resultado (mg/kg)	Resultado (mg/L)
Cálcio	136,10	139,50

METODOLOGIA

CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. Análise de Alimentos por ICP-OES. PE-LE-033/R01. Curitiba, 2010. 11 p.

Dados do ensaio:

Início: 05/07/11 Término: 13/07/11

Executora Técnica: Andrea B. G. Bonassoli

/S

Curitiba, 13 de julho de 2011.


 Emiliana Borges
 Gerente Técnica
 CRQ 09100126


 Jacqueline Taveira Cangussu
 Coordenadora do Laboratório
 CRQ 09200768 – 9ª Região

OBSERVAÇÃO: - A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.

- AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.

- É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR DE TECNOLOGIA

CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01
 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

01/01

CERTIFICADO DE ANÁLISE N°130432

PRODUTO: EXTRATO DE FOLHAS DE YACON GEL
FABRICANTE/PRODUTOR: Não consta.
SOLICITANTE: Carolina Déa Bruzamolín
ENDEREÇO: Rua Santa Rita Durão, 333 – São Lourenço – Curitiba/PR
PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA N°: 782 – 01/07/11
AMOSTRA: 2696/11

Informações da amostra			
Acondicionada em:	01 frasco plástico opaco	Temperatura:	Ambiente
Peso/Volume aproximado de:	25 gramas	Responsável pela coleta:	Solicitante

RESULTADOS

PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO

	Unidade de medida	Resultado
Cálcio	mg/kg	63,88

METODOLOGIA

CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. *Análise de Alimentos por ICP-OES*. PE-LE-033/R01. Curitiba, 2010. 11 p.

Dados do ensaio:

Início: 05/07/11 Término: 12/07/11
 Executora Técnica: Andrea B. G. Bonassoli

/S

Curitiba, 13 de julho de 2011.

Emiliana Borges
 Gerente Técnica
 CRQ 09100126

Jackeline Taveira Cangussi
 Coordenadora do Laboratório
 CRQ 09200768 – 9ª Região

OBSERVAÇÃO: • A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.
 • AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.
 • É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.