

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ÉRICO BAHENA DA SILVA

ESTUDO *IN VITRO* DA ATIVIDADE PROTETORA DO AZEITE DE OLIVA E
DA PASTA DE PINHÃO (*Araucaria angustifolia*) SOBRE O ESMALTE
DENTÁRIO SUBMETIDO À EROSÃO

Curitiba
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ÉRICO BAHENA DA SILVA

ESTUDO *IN VITRO* DA ATIVIDADE PROTETORA DO AZEITE DE OLIVA E
DA PASTA DE PINHÃO (*Araucaria angustifolia*) SOBRE O ESMALTE
DENTÁRIO SUBMETIDO À EROÇÃO

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 à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof. Dra. Maria Lúcia Masson.

Curitiba
2013

Bahena, Érico

Estudo *in vitro* da atividade protetora do azeite de oliva e da pasta de pinhão (*Araucaria angustifolia*) sobre o esmalte dentário submetido à erosão / Érico Bahena – Curitiba, 2013.

81 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, 2013.

Inclui bibliografia

1. Erosão dentária. 2. Odontologia preventiva. 3. Alimento funcional. I. Masson, Maria Lúcia. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 617.601

TERMO DE APROVAÇÃO

ÉRICO BAHENA DA SILVA

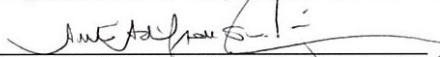
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO


**ESTUDO IN VITRO DA ATIVIDADE PROTETORA DO AZEITE DE OLIVA E
DA PASTA DE PINHÃO SOBRE O ESMALTE DENTÁRIO SUBMETIDO À
EROSÃO**

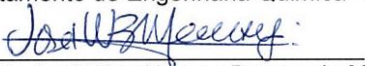
Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Saúde Bucal durante a Infância e Adolescência, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:

Orientador:


Prof. Dra. Maria Lucia Masson
Departamento de Engenharia Química- UFPR


Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima
Departamento de Estomatologia, UFPR


Prof. Dra. Luciana Igarashi Mafra
Departamento de Engenharia Química- UFPR


Prof. Dr. José Vitor Nôgara Borges de Menezes
Departamento de Estomatologia, UFPR

Curitiba, 27 de março de 2013.

Dedicatória

Dedico este trabalho a quem possivelmente, devido ao pouco estudo, menos compreenderia o que significa um Mestrado, porém assim mesmo seria dela o maior orgulho, sempre tão explicitamente manifestado. Para ela que sequer conseguiu, em vida, ver-me terminando a graduação, não me resta dúvidas de que essa minha nova conclusão de etapa é por ela, hoje, também comemorada. Muito além do cheiro de bolo e chá vindo da cozinha, sinto falta do seu abraço e de compartilhar momentos tão importantes na minha vida como este. Por isso, a ela: *mi abuela* Annunciata Massitelli Bahena.

Agradecimentos

À minha família por inculcar em mim todo meu senso de caráter. Tive os melhores exemplos que alguém pode ter de como ser uma pessoa de bem. Obrigado a todos por isto e por sempre respeitarem minhas decisões, sobretudo em relação a estudos. Amo a cada um inquestionavelmente;

Ao Programa de Mestrado em Odontologia da UFPR por ter acreditado em meu potencial e me aceitado a compor seu corpo docente;

À Prof Maria Lúcia Masson, por dividir seu conhecimento científico notório, além de possibilitar-me compreender que Odontologia e Engenharia podem estar mais próximas do que parecem;

Aos professores José Miguel Amenabar e Antonio Adilson Lima pelas considerações valiosíssimas na banca de qualificação;

À Carolina Bruzamolín, que contribuiu em praticamente todas as etapas deste trabalho. Sua colaboração foi fundamentalmente importante. *Obrigado, Carol!*

À Louise Liu, por ensinar-me detalhes imprescindíveis de como preparar amostras, usar o microdurômetro e é claro, extrair dentes bovinos;

Ao Prof. Daniel Granatto, pelas considerações na análise estatística;

Aos incontáveis amigos que sempre me impulsionaram a seguir meus objetivos e vibraram por cada conquista ao longo de toda a minha vida. Citá-los um a um seria impossível, mas declaro que os conservo no coração. *Fabi e Carol, vocês serão sempre meus exemplos de inteligência e companheirismo!*

Aos meus alunos, pelo fato de mesmo inconscientemente terem me feito ter a certeza do meu amor pela docência;

Às minhas colaboradoras Cíntia, Eva e Jhenypher por estarem sempre a minha disposição me ajudando tão prontamente;

Ao Frigorífico Argus pela doação dos dentes bovinos em prol da Ciência;

À Capes, pelo apoio financeiro;

Ao 15º B Log do Exército Brasileiro, por consentir minhas saídas da guarnição para que eu pudesse qualificar e defender a dissertação. Em especial à ASP Claudianne Cesconetto, ASP Karine Lyko e TEN Renatha por disporem-se a atender meus pacientes na minha ausência. Agradeço à equipe

do EAS 2013 que, no alojamento, não se incomodou com meu uso do computador durante algumas madrugadas para que eu estudasse e escrevesse esta dissertação. *Brasil!*

Ao Terreiro de Umbanda do Pai Maneco por ter me amparado espiritualmente nestes dois anos, recebendo minhas queixas, angústias e aflições, além de sob a premissa do bem e existência de Deus, fazer manifestar em mim a fé e o amor pela religião que agora abraço. *Odojá!*

A todos os meus professores, da pré-escola ao mestrado, por sempre terem conduzido meu desenvolvimento técnico, científico, crítico, cidadão e humano. Obrigado à Escola Municipal Mãe do Perpétuo Socorro, ao Colégio Estadual Manoel Ribas, à Universidade Estadual de Ponta Grossa, à Universidade Estadual de Londrina e à Universidade Federal do Paraná. Minha admiração gigante é acompanhada de absoluta gratidão e carinho.

*“Quando o dedo aponta o céu,
o idiota olha o dedo.”*

(Em “O fabuloso destino de Amelie Poulain”)

RESUMO

A erosão dentária é a perda progressiva de estrutura dental devido à exposição crônica desta a ácidos não bacterianos e de origem intrínseca (suco gástrico) ou extrínseca, através da alimentação. Devido à existência de alimentos em benefício humano, o desenvolvimento e inovação de produtos com componentes naturais têm motivado pesquisas que objetivam prevenir doenças, além de criar novos nichos de mercado. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito protetor do azeite de oliva e da pasta de pinhão ao esmalte bovino em desafio erosivo causado por um refrigerante contendo ácido fosfórico na composição. Para isto, os espécimes foram expostos aos produtos-teste por 2 minutos, uma vez ao dia por 4 dias. Por tempo idêntico, entre cada intervalo de tratamento, os corpos de prova foram mergulhados no refrigerante. Após, foram mensuradas as variações do teor de flúor e cálcio na solução erosiva utilizada, além de medidas de microdureza e análise morfológica da superfície dental por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que as perdas de flúor, cálcio e microdureza superficial foram estatisticamente maiores para o grupo controle tratado apenas com água destilada e menores para o grupos com azeite de oliva e pasta de pinhão, respectivamente. Em concordância a estes dados, as micrografias mostraram maiores alterações morfológicas na superfície de esmalte do grupo controle, seguido do azeite de oliva e pasta de pinhão. Em conclusão, este estudo sugere uma possível aplicabilidade do azeite de oliva e da pasta de pinhão na proteção contra a erosão dentária.

PALAVRAS – CHAVE: erosão dentária; odontologia preventiva; alimento funcional.

ABSTRACT

Dental erosion is the progressive loss of tooth structure due to chronic exposure to this non-bacterial acids and intrinsic origin (gastric) or extrinsic through feeding. Because there are foods on human benefit, the development and innovation of products with natural components have motivated research that aim to prevent disease and create new market niches. The aim of this study was investigate the protective effect of olive oil and *Araucaria angustifolia* seeds to bovine enamel in erosive challenge caused by a soft food containing phosphoric acid on composition. For this, the specimens were exposed to test products for 2 minutes once a day for 4 days. On the identical time, interval between each treatment, the specimens were immersed in the soft drink. After, we measured changes of calcium and fluoride levels in erosive solution used, and hardness measurements and morphological analysis of the tooth surface by scanning electron microscopy. The results showed that losses of fluoride, calcium and microhardness were statistically greater for the control group treated only with distilled water and lower for groups with olive oil and paste *Araucaria angustifolia* seeds, respectively. In agreement with these data, the micrographs showed greater morphological changes in the enamel surface of the control group, followed by olive oil and *Araucaria angustifolia* seeds. In conclusion, this study suggests a possible applicability of olive oil and paste *Araucaria angustifolia* seeds on protection against dental erosion.

PALAVRAS – CHAVE: dental erosion; preventive dentistry; functional foods.

SUMÁRIO

1 -	INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2 -	OBJETIVOS.....	24
2.1 -	OBJETIVO GERAL.....	24
2.2 -	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
3 -	ARTIGO: EFEITO PROTETOR <i>IN VITRO</i> DO AZEITE DE OLIVA E DO PINHÃO CONTRA A EROSÃO DENTÁRIA.....	25
4 -	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
	REFERÊNCIAS.....	65
	ANEXOS.....	72

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	TRATAMENTO, DESAFIO EROSIVO E ARMAZENAMENTO DOS CORPOS DE PROVA.....	50
FIGURA 2-	CINÉTICA DE PERDA DE MICRODUREZA PARA O GRUPO EXPERIMENTAL PASTA DE PINHÃO DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	51
FIGURA 3-	CINÉTICA DE PERDA DE MICRODUREZA PARA O GRUPO EXPERIMENTAL AZEITE DE OLIVA DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	52
FIGURA 4-	CINÉTICA DE PERDA DE MICRODUREZA PARA O GRUPO CONTROLE DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	53
FIGURA 5-	CINÉTICA DE PERDA DE CÁLCIO PARA O GRUPO EXPERIMENTAL PASTA DE PINHÃO DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	54
FIGURA 6-	CINÉTICA DE PERDA DE CÁLCIO PARA O GRUPO EXPERIMENTAL AZEITE DE OLIVA DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	55
FIGURA 7-	CINÉTICA DE PERDA DE CÁLCIO O GRUPO CONTROLE DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	56
FIGURA 8-	CINÉTICA DE PERDA DE FLÚOR PARA O GRUPO EXPERIMENTAL PASTA DE PINHÃO DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	57

FIGURA 9-	CINÉTICA DE PERDA DE FLÚOR PARA O GRUPO EXPERIMENTAL AZEITE DE OLIVA DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	58
FIGURA 10 -	CINÉTICA DE PERDA DE FLÚOR PARA O GRUPO CONTROLE DURANTE OS 4 DIAS DE EXPERIMENTO.....	59
FIGURA 11 -	MICROGRAFIA DO ESMALTE DENTÁRIO NÃO SUBMETIDO À EROSÃO, AO FINAL DO 4º DIA DE EXPERIMENTO.....	60
FIGURA 12 -	MICROGRAFIA DO ESMALTE DENTÁRIO DO GRUPO CONTROLE SUBMETIDO À EROSÃO, AO FINAL DO 4º DIA DE EXPERIMENTO.....	61
FIGURA 13 -	MICROGRAFIA DO ESMALTE DENTÁRIO DO GRUPO EXPERIMENTAL PASTA DE PINHÃO SUBMETIDO À EROSÃO, AO FINAL DO 4º DIA DE EXPERIMENTO.....	62
FIGURA 14 -	MICROGRAFIA DO ESMALTE DENTÁRIO DO GRUPO EXPERIMENTAL AZEITE DE OLIVA SUBMETIDO À EROSÃO, AO FINAL DO 4º DIA DE EXPERIMENTO.....	63

LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO EROSIVA, PASTA DE PINHÃO E AZEITE DE OLIVA QUANTO ÀS MEDIDAS INICIAIS DE CÁLCIO, FLÚOR E PH.....	40
TABELA 2-	AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA (FORÇA KNOOP) PARA OS GRUPOS CONTROLE E EXPERIMENTAIS....	41
TABELA 3-	VARIAÇÃO DO TEOR DE CÁLCIO (ppm) PERDIDO PARA A SOLUÇÃO EROSIVA NOS GRUPOS CONTROLE E EXPERIMENTAIS.....	42
TABELA 4-	VARIAÇÃO DO TEOR DE FLÚOR (ppm) PERDIDO PARA A SOLUÇÃO EROSIVA NOS GRUPOS CONTROLE E EXPERIMENTAIS.....	43
TABELA 5-	ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS MICRODUREZA, PERDA DE CÁLCIO E PERDA DE FLÚOR PARA O GRUPO PASTA DE PINHÃO.....	44
TABELA 6-	ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS MICRODUREZA, PERDA DE CÁLCIO E PERDA DE FLÚOR PARA O GRUPO AZEITE DE OLIVA.....	45
TABELA 7-	ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS MICRODUREZA, PERDA DE CÁLCIO E PERDA DE FLÚOR PARA O GRUPO CONTROLE.....	46
TABELA 8-	COMPARAÇÃO DE PERDA DE MICRODUREZA ENTRE OS GRUPOS EXPERIMENTAIS (PASTA DE PINHÃO E AZEITE DE OLIVA) E CONTROLE (TESTE DE FISHER LSD).....	47

TABELA 9-	COMPARAÇÃO DE PERDA DE CÁLCIO ENTRE OS GRUPOS EXPERIMENTAIS (PASTA DE PINHÃO E AZEITE DE OLIVA) E CONTROLE (TESTE DE FISHER LSD).....	48
TABELA 10 -	COMPARAÇÃO DE PERDA DE FLÚOR ENTRE OS GRUPOS EXPERIMENTAIS (PASTA DE PINHÃO E AZEITE DE OLIVA) E CONTROLE (TESTE DE FISHER LSD).....	49

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A Odontologia atual tem se embasado na premissa básica de que a prevenção de doenças deve se sobrepôr aos conceitos obsoletos de cunho meramente curativo (MOURA; MOURA; TOLEDO, 2007). Objetiva-se com uma visão moderna de Odontologia Preventiva, alcance de saúde perfeitamente satisfatória, visto que cuidados com a cavidade bucal refletem diretamente no organismo como um todo (FREIRE; MACEDO; SILVA, 2000).

Por muito tempo a prevenção na área odontológica focou-se basicamente em procurar meios que impedissem ou amenizassem danos resultantes da cárie dentária. No entanto, com o declínio desta doença na população, começou-se a dar atenção às outras alterações bucais danosas como a erosão dentária (GANSS; KLIMEK; GIESE, 2001).

A erosão dentária é uma condição bucal etiologicamente multifatorial que abrange fatores biológicos, químicos e comportamentais (LUSSI; JAEGGI, 2008). Ela representa a perda progressiva de estrutura dental quando da exposição crônica a ácidos de origem não bacteriana, podendo ser intrínseca (IMFIELD, 1996) quando relacionada a ácidos oriundos do suco gástrico associado com transtornos alimentares (JOHANSSON; NORRING; UNELL; JOHANSSON, 2012) como a bulimia e anorexia nervosas (TRAEBERT; MOREIRA, 2001) ou então com outros problemas gástricos como o refluxo esofágico (CORREA *et al.*, 2012). A exposição extrínseca aos ácidos inclui os provenientes de uma grande gama de alimentos que contêm os ácidos ascórbico, acetilsalicílico, cítrico (YIP; SMALES; Kaidonis, 2002), málico, tartárico, fosfórico e/ou carbônico em sua composição (FRAUNHOFER; ROGERS, 2004).

O consumo indiscriminado de bebidas com baixo pH (refrigerantes, vinagres, sucos de frutas ácidas e isotônicos) tem sido apontado pela literatura como uma das principais causas da erosão dentária (MOYNIHAN, 2005; CAVALCANTI *et al.*, 2010). Marca *et al.* (2009) também relataram doces do tipo pirulito como sendo passíveis de causar lesões erosivas.

Objetivou-se verificar o potencial erosivo de alguns produtos, 75 incisivos decíduos foram divididos e 3 grupos. Os espécimes foram imersos nas

soluções (I: saliva artificial; II: refrigerante de cola; III: suco de laranja à base de soja) por 5 minutos, 3 vezes ao dia, durante 60 dias. Foram analisados 30 corpos de prova quanto à microdureza e 15 em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os grupos II e III apresentaram diminuições de durezas superficiais similares e mais severas que o grupo controle. Os resultados obtidos com o MEV evidenciaram uma alteração estrutural evidente para os grupos II e III, não havendo modificações no grupo I. Aponta-se, portanto para uma relação diretamente proporcional entre o consumo de refrigerantes e sucos ácidos com o acometimento da estrutura dentária à erosão (TORRES, 2010).

Entretanto, a literatura tem mostrado, a relação de lesões erosivas com exposição a ácidos decorrentes do exercício de algumas atividades físicas (VIANNA; SANTANA, 2001) como nadadores devido à exposição frequente a um meio de baixo pH (MATTA; IRAKAWA, 2004) e também os provadores e vinho (MULIC *et al.*, 2010).

É possível associar ainda a possibilidade de erosão dentária à utilização contínua de alguns medicamentos, sobretudo na infância (NEVES; PIERRO; MAIA, 2007) como os corticoesteróides (VILLORIA, 2007), o paracetamol, a amoxicilina (CHINARRO; ZELADA, 2006) e anti-histamínicos (PIERRO *et al.*, 2010).

Em relação ao diagnóstico de erosão dentária, a literatura ainda não é bem clara e sugere maiores estudos a respeito, mas destaca que a determinação de lesões verdadeiramente de cunho erosivo deve ser acompanhada de anamnese individual e considerando aspectos dietéticos (GANSS, 2008).

Considera-se que o início do processo erosivo à estrutura dental é caracterizado apenas pela perda/desmineralização superficial, sendo inclusive passível de remineralização por intermédio da ação salivar (EISENBURGER *et al.*, 2001). Ao persistir o contato dentário com o meio ácido, resulta-se em amolecimento e desgaste estrutural clinicamente percebido como diminuição de brilho, perda de lisura (GUPTA *et al.*, 2009).

A permanência e evolução da erosão dental pode resultar em perda de

dimensão vertical, alterações oclusais, sensibilidade e comprometimento estético (BRANCO *et al.*, 2008), além de possibilitar prejuízos à polpa (GUPTA, *et al.*, 2009).

Quanto à velocidade do processo erosivo, é possível afirmar que fatores mecânicos contribuem significativamente para uma perda estrutural mais acelerada. Neste caso, a própria escovação é capaz de induzir maiores desgastes pela abrasão (RIOS *et al.*, 2006). Assim, é recomendável aguardar no mínimo uma hora para realizar higienização bucal com escovas dentais após um desafio erosivo (ATTIN *et al.*, 2000).

A saliva tem papel preponderante na proteção contra erosão dentária, uma vez que este líquido fisiológico é composto por uma parte orgânica e outra inorgânica representada pelos seguintes componentes: bicarbonato, responsável pelo tamponamento do meio bucal; cálcio e fosfato, fundamentais para a manutenção da integridade dental, uma vez que possibilitam uma taxa mais lenta de dissolução da estrutura dental (BUZALAF; HANNAS; KATTO, 2012) em situações de desafios ácidos (BARBOUR *et al.*, 2008). Já o flúor possui ação remineralizadora e controladora da perda de minerais no processo erosivo (WANG; LUSSI, 2010).

Em pesquisa com adolescentes britânicos e estadunidenses com idades entre 11 e 13 anos, revelou-se que 41% do grupo dos Estados Unidos e 37% dos pertencentes ao Reino Unido da amostra apresentaram lesões erosivas em seus dentes (DEERY *et al.*, 2000).

No Brasil, estudos epidemiológicos estimaram que a prevalência de erosão dentária em dentes decíduos foi de 58%, em 2006 (MURAKAMI; CORREA; RODRIGUES, 2006) e de 51,6 em 2011 nas amostras estudadas (MURAKAMI *et al.*, 2011).

Um estudo relacionando dieta e a saúde bucal foi realizado na China, aonde o desenvolvimento econômico nas últimas décadas tem repercutido significativamente no estilo de vida da população. Os resultados demonstraram que a prevalência da erosão dentária na dentição permanente de 1499 crianças entre 12 e 13 anos de idade foi de 27,3%, mostrando a necessidade de atenção em saúde, relacionando aspectos bucais e comportamentais (WANG *et al.*, 2010).

Apesar de a erosão dentária ser de prevalência considerável em diversos países, um estudo realizado na Noruega encontrou que os participantes escolhidos de forma aleatória demonstraram ter consciência da possibilidade de evitar aquela alteração bucal. Mas, apresentaram um alto consumo de refrigerantes. Desta forma, os resultados apontam para a necessidade de estratégias de intervenção com vistas à prevenção (ASMYHR; GRYTEN; HOLST, 2012).

Três presumíveis agentes anti-erosivos foram estudados, sendo eles: duas soluções de fluoreto de sódio a 1400 mg/L e 4500 mg/L e mousse à base de caseína de fosfato de cálcio, além de solução saturada de hidroxidoapatita destinadas ao grupo controle positivo e água deionizada para controle negativo. Inicialmente, as amostras foram erodidas utilizando-se ácido cítrico 0,3% de pH 3,2. Após isso, os espécimes (dentes humanos) divididos em diferentes grupos, passaram por tratamento com todos os produtos-teste. As soluções fluoretadas permaneceram em contato com as superfícies dentárias por 2 minutos. Para o controle positivo, o tratamento durou 60 minutos, enquanto que para o controle negativo foi deixado sobre o dente por 5 minutos (conforme recomendação do fabricante). A nanodureza medida antes e após o experimento demonstrou que apenas o controle positivo e solução de fluoreto de sódio mais concentrada foram capazes de reduzir o amolecimento de esmalte (ABDULALAH *et al.*, 2012).

Azevedo *et al.* (2012) verificaram *in vitro* o efeito protetor de laser Nd:YAG combinados ou não com flúor na tentativa de diminuir efeito do ataque ácido em dentes decíduos humanos. As amostras foram divididas em seis grupos de acordo com o tratamento recebido antes da desmineralização: controle (sem tratamento); flúor gel 1,23%; verniz fluoretado 5%; laser Nd:YAG 0,5W/10Hz; gel fluoretado 1,23% e laser Nd:YAG; verniz fluoretado e laser Nd:YAG. A dureza de esmalte foi verificada após cada tratamento e encontrou-se que os melhores resultados foram obtidos com o uso de gel fluoretado 1,23% e também no grupo que recebeu aplicação de laser associado com flúor em gel 1,23%. Sendo assim, foi possível concluir que o uso de laser associado ou não com aplicações de flúor, seja em gel ou verniz, não foi mais efetivo que usar somente o flúor.

White *et al.* (2010) pesquisaram capacidade protetora de colutórios fluoretados comerciais e soluções preparadas de diferentes concentrações de flúor frente a desafios ácidos. Todas as concentrações a partir de 10µg/g de fluoreto foram capazes de diminuir a erosão dentária.

Um estudo *in vitro* foi realizado para investigar o efeito de um dentifrício contendo 5000ppm de flúor sobre a erosão dentária. Os resultados mostraram que duas aplicações diárias do dentifrício-teste por um período de três semanas foi suficiente para proteger esmalte dentário da erosão ácida causada pelo suco de laranja (ph 3,8) (REN *et al.*, 2011).

O laser de CO₂ foi avaliado na prevenção da erosão de esmalte. Para isso, 140 amostras de esmalte foram divididos em 4 grupos: controle (sem tratamento); irradiação com laser de CO₂ (0,3 J / cm², 5uS, 226Hz); aplicação de NaF 1,25% por 3 minutos; aplicação de fluoreto 1,25% acrescido de exposição ao laser de CO₂. O desafio erosivo foi realizado com exposição das amostras em ácido cítrico (pH 2,3) por 20 minutos, 2 vezes ao dia por 5 dias e a erosão medida no esmalte por perfilometria no primeiro, terceiro e quinto dias. A perda de esmalte foi significativa em todos os grupos estudados. No entanto, o uso do laser de CO₂ e este método combinado com fluoretação tópica foram mais eficientes na proteção do esmalte dentário (RAMALHO *et al.*, 2012).

Em desafio erosivo causado por refrigerante, ao comparar duas marcas comerciais de vernizes fluoretados com uma fórmula deste produto contendo tetrafluoreto de Titânio (TiF₄-T), Magalhães *et al.* (2007) não encontraram diferenças significantes de proteção à estrutura dental quando se observaram resultados de análises perfilométricas e de microdureza nas amostras estudadas. Estes dados foram semelhantes aos encontrados por Tavassolli-Hojjati *et al.* (2012), pois não foram percebidas variações significantes de resultados entre os produtos testados (verniz fluoretado 2,26% e géis de flúor fosfato acidulado 1,23%) em outro estudo.

Ganss *et al.* (2012) encontrou em estudo que o uso de creme dental à base de Estanho e quitosana mostrou-se bastante promissor e eficiente na redução de perda de tecido dentário frente ao desafio erosivo com ácido cítrico (pH 2,5) 6 vezes ao dia, por 2 minutos durante 10 dias consecutivos.

A possibilidade de géis clareadores protegerem o esmalte dentário contra erosão ácida foi estudada da seguinte forma: amostras de dentes bovinos divididos em 4 grupos (controle; peróxido de hidrogênio 35%; peróxido de hidrogênio 35% acrescido de gluconato de cálcio 2% e peróxido de hidrogênio com adição de fluoreto de sódio 0,6%) tratados com seus respectivos produtos-teste por 40 minutos e armazenados por 2 horas em saliva artificial. Após, realizou-se desafio erosivo em refrigerante de limão (pH 2,8) 4 vezes por dia, por 2 minutos, durante 5 dias. As amostras foram lavadas e armazenadas em saliva artificial entre cada ciclo erosivo. Ao final de cada fase foram feitas medidas perfilométricas e observou-se que ocorreu erosão em maior intensidade no grupo controle e no tratado apenas com peróxido de hidrogênio 35%, apesar de este produto não aumentar de forma significativa a sensibilidade dental à perda erosiva de esmalte. O peróxido de hidrogênio 35% enriquecido de cálcio foi significativamente capaz de proteger o esmalte dos desafios erosivos (BORGES *et al.*, 2012).

Sales-Peres *et al.* (2012) desenvolveram um gel à base de extrato de *Euclea natalensis*, uma planta comumente utilizada no continente africano na prevenção de doenças bucais. O objetivo do estudo foi verificar o efeito protetor à dentina de terceiros molares humanos submetidos à exposição erosiva em ácido cítrico 6%. O gel foi capaz de reduzir a permeabilidade dentinária em 66%, entretanto os autores sugerem novos estudos para comprovar sua aplicabilidade clínica.

Algumas soluções antiácidas foram testadas *in vitro* e comparadas com a saliva artificial na proteção contra ataque ácido realizado em dentes bovinos por 2 minutos, 1 vez ao dia, por 5 dias com ácido clorídrico 0,01M (pH 2,0). Por intermédio de perfilometria e testes de microdureza, verificaram-se efeitos protetores dos seguintes grupos experimentais, além do controle: hidróxido de magnésio; hidróxido de alumínio; hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio; aluminato de magnésio hidratado; e outro contendo alginato de sódio, bicarbonato de sódio e carbonato de sódio. Os resultados mostraram significativa redução de perda de esmalte com uso de antiácidos. No entanto, as medidas de microdureza iniciais e finais foram semelhantes em todos os grupos, incluindo o grupo controle tratado com saliva artificial. Uma possível explicação para isto é o fato de que microdureza é um exame mais indicado

para efeitos erosivos iniciais, o que não é o caso deste estudo. Apesar de ainda se fazerem necessários outros ensaios, enxaguar a boca com soluções antiácidas após contato dos dentes com ácidos, incluindo vômitos, parece favorecer prevenção contra erosão dentária (TURSSI *et al.*, 2012).

Estudos epidemiológicos atuais vêm demonstrando a real relação entre o elo dieta e saúde, baseando-se na capacidade de certos alimentos a colaborarem na prevenção de doenças e manutenção da saúde, pois são inúmeros os componentes disponíveis nestes produtos responsáveis por efeitos benéficos ao organismo humano. Além de diversos outros efeitos fisiológicos dos alimentos ditos funcionais, podem ser destacados: a ação de reduzir lipídios plasmáticos, agir como agente anti-inflamatório e também antimicrobiano (ANGELIS, 2001).

A Odontologia, sobretudo quando se trata de prevenção de doenças bucais tem demonstrado grande interesse nos hábitos alimentares, uma vez que esta associação é bastante evidenciada pela literatura científica. Neste contexto, os alimentos podem conter características que aumentem ou diminuam riscos da ocorrência de doenças bucais (MOYNIHAN, 2005; HAGUE, 2011).

Como medida protetora frente à erosão dentária, alguns autores sugerem uso de chicletes estimuladores de salivação ou também a ingestão de alimentos ricos em cálcio, tais como: leite e queijo (GEDALIA *et al.*, 1991; LEWINSTEIN, 1993).

As propriedades de atuação favorável no processo de remineralização e de proteger o esmalte dentário contra desmineralização foi percebida em estudo com iogurte, devido à presença de caseína (FERRAZZANO, 2008). Esta proteína e também a albumina, presente em ovos, foram estudadas quanto à capacidade de proteger o esmalte dentário de desmineralizações oriundas de alguns ácidos: cítrico, málico ou láctico. Estas proteínas tiveram efeitos protetores estatisticamente significativos na proteção contra a erosão nos molares humanos deste estudo quando adicionadas na concentração de 0,2% em refrigerantes comerciais (HEMINGWAY *et al.*, 2010).

Na Tailândia, uma pasta de camarão com alto teor de cálcio na composição, foi testada contra erosão dentária. Um desafio erosivo foi realizado expondo-se esmaltes dentários em suco de tamarindo por 15

minutos, uma vez ao dia e durante um período de 29 dias. Apesar de ter sido instituído um ataque ácido prolongado, encontrou-se efeito protetor significativo (CHUENARROM; BENJAKUL, 2010).

Em experimento, com o objetivo de estudar o efeito protetor do chá verde contra a erosão dentária, dez indivíduos utilizaram dispositivos intra-orais contendo amostras de dentes bovinos. Os voluntários foram orientados a removerem os dispositivos e imergi-los em 150 ml de refrigerante (pH 2,7) durante 5 minutos, 4 vezes ao dia, por um período de 5 dias. Durante o período do desafio erosivo, os voluntários tomavam um gole da solução erosiva e imediatamente reinstalavam o aparelho intra-oralmente. Em seguida realizavam enxágue da cavidade oral com chá verde por 1 minuto. O cálculo médio de cinco leituras perfilométricas das superfícies dentárias de cada amostra foi analisado e verificou-se que a o chá verde apresentou-se como sendo potencialmente protetor contra desgaste dentário por erosão ácida (KATO, 2009).

Oriunda da Bacia do Mediterrâneo, a oliveira, cuja denominação taxonômica é *Olea europea*, possui frutos denominados de olivas (azeitonas) que quando maduros, extrai-se o azeite de oliva. Entretanto, outras formas de consumo também podem ser observadas, como por exemplo, as conservas (OLIVEIRA; VIEIRA-NETO, 2010).

O Brasil figura como o quarto colocado entre os países mais importadores de azeite de oliva no mundo, caracterizando o gosto desta população pelo produto (OLIVEIRA, VIEIRA-NETO, 2010). Sabe-se ainda que entre 2004 e 2009, esta importação saltou de 23 para 42 mil toneladas, demonstrando aumento de quase 80% (CONSEJO OLEICOLA INTERNACIONAL, 2012).

Em relação à composição química dos azeites de oliva, destacam-se os constituintes: ácidos graxos (oléico e palmítico), carotenóides, tocoferóis, clorofila, antocianinas e fenóis totais (PESTANA-BAUER, 2011).

Estudos têm demonstrado a utilização de produtos à base de oliva para finalidades terapêuticas, pois existe associação destes com a diminuição do risco de arteriosclerose, doenças cardiovasculares e outras doenças (VISOLI; GALI, 2002).

Um estudo do tipo caso-controle foi realizado no Chipre para observar as repercussões da dieta mediterrânea na saúde. Esta dieta utiliza o azeite de oliva na proteção contra o desenvolvimento de câncer de mama em mulheres entre 40 e 70 anos. Encontrou-se que este padrão alimentar rico em vegetais e azeite de oliva pode influenciar benéficamente um efeito protetor à mulheres com idades entre 40 e 70 anos contra o desenvolvimento de câncer de mama - (DEMETRIOU, 2012).

Saleh e Saleh (2011) estudaram o efeito protetor do azeite de oliva contra a osteoporose. Para tal, ratas *Wistar* de 12 a 14 meses foram divididas em três grupos: I – controle; II – ovariectomizadas; III - ovariectomizadas e com suplementação alimentar de azeite de oliva extra virgem. Após 2 meses, foram colhidas amostras de sangue que evidenciaram diminuição dos níveis plasmáticos de cálcio nas ratas do grupo II, ao passo que essa perda foi atenuada no grupo III, inclusive com aumento do teor do íon analisado. Verificaram-se variações das espessuras das tíbias, encontrou-se que houve considerável reabsorção óssea e aumento de osteoclastos no grupo II. Para os grupos I e III, os resultados foram semelhantes, porém melhores quando comparados ao segundo grupo. Assim, concluiu-se que o azeite de oliva parece ser promissor na prevenção e tratamento de osteoporose pós-menopausa.

Na Odontologia, já há certo tempo os azeites de oliva têm contribuído para os tratamentos endodônticos. Uma pesquisa envolvendo 33 dentes decíduos em 31 crianças de 1 a 11 anos de idade. Este estudo mostrou que o tratamento endodôntico realizado com hidróxido de cálcio e azeite de oliva foi eficaz em 97% dos casos (MASSARA, 2012).

Mello *et al.* (2011) encontraram que o azeite de oliva mostra-se eficaz quando adicionado ao pó de hidróxido de cálcio para tratamento de perfurações radiculares, pois promoveu formação de um selamento mineralizado da lesão.

Apesar de existirem poucos dados a respeito, um produto natural de conhecida importância regional é o pinhão. Este é a semente do Pinheiro-do-Paraná ou também denominado araucária (*Araucaria angustifolia*) e bastante presente e consumido na região sul do Brasil. Quanto a sua composição química, prevalece-se a presença de amido, magnésio, cobre e fibra alimentar,

mesmo após cozimento, como comumente é consumido (CORDENUNSI *et al.*, 2004).

O extrato hidroetanólico de folhas de araucária (*Araucaria angustifolia*) teve sua atividade anti-herpética testada *in vitro*. Os resultados corroboram com o uso popular desta planta para finalidades antivirais (FREITAS, 2009). Biflavonoides presentes nas araucárias também foram eficientes na proteção de alterações de DNA em timo de vitelo, quando submetido a radiações ultravioletas, sugerindo benefícios na prevenção do câncer de pele (YAMAGUCHI, 2009).

Assim, o presente estudo teve a sua realização justificada pela necessidade de se encontrar novos produtos capazes de proteger o esmalte dentário da erosão dentária e colaborar com a Odontologia Preventiva na busca pela manutenção de saúde bucal. Logo, objetivou-se estudar e comparar o efeito protetor *in vitro* do azeite de oliva e de uma pasta de pinhão frente a um desafio erosivo ocasionado com refrigerante com ácido fosfórico na composição, em esmalte de dentes bovinos.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar o efeito protetor de dois produtos alimentícios (azeite de oliva e pasta de pinhão) contra a erosão dentária em esmalte de dentes bovinos causada por refrigerante com ácido fosfórico na composição.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o potencial protetor do azeite de oliva e da pasta de pinhão contra a erosão dentária a partir da variação de concentração dos íons Cálcio, e Flúor em solução erosiva utilizada durante desafio erosivo;
- Analisar as alterações de dureza dentária (microdureza superficial) do esmalte dos dentes após ciclos de tratamento com produtos-teste (azeite de oliva e pasta de pinhão) e ataque por agente erosivo;
- Estudar as alterações na superfície do esmalte causadas pelo desafio erosivo com e sem a utilização do azeite de oliva e pasta de pinhão por meio da microscopia eletrônica de varredura.

3. EFEITO PROTETOR *IN VITRO* DO AZEITE DE OLIVA E DO PINHÃO CONTRA A EROSÃO DENTÁRIA

Palavras-chave: erosão dentária; odontologia preventiva; alimentos funcionais.

Érico Bahena (a)

Maria Lucia Masson (b)

a) Aluno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

b) Professora Doutora em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

Autor correspondente:

Érico Bahena

Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Universidade Federal do Paraná

Av. Pref. Lothário Meissner, 632

Jardim Botânico- Curitiba- Paraná

CEP: 80210-170

Telefone: (41) 9767-8595

Email: bahena.eric@hotmail.com

Todos os autores contribuíram efetivamente para este estudo e todos analisaram a versão final antes de sua apresentação.

¹ Artigo a ser submetido para o periódico *Pediatric Dentistry*, nas normas da revista.

RESUMO

Objetivo: Verificar potencial protetor *in vitro* do azeite de oliva e de pasta de pinhão contra um desafio erosivo causado por refrigerante em esmalte bovino. *Metodologia:* 60 espécimes foram expostos aos produtos-teste por 2 minutos, uma vez ao dia por 4 dias. Por tempo idêntico, entre cada intervalo de tratamento, os corpos de prova foram mergulhados em refrigerante. Foram mensuradas as variações do teor de flúor e cálcio na solução erosiva utilizada, além de medidas de microdureza e análise morfológica da superfície dental por microscopia eletrônica de varredura. *Resultados:* As menores perdas de flúor, cálcio, microdureza superficial e alterações morfológicas de superfície foram estatisticamente menores para o grupo tratado com pinhão, seguidos do azeite de oliva em comparação ao controle realizado com água destilada. *Conclusões:* Existe uma possível aplicabilidade do azeite de oliva e da pasta de pinhão na proteção contra a erosão dentária.

INTRODUÇÃO

O declínio da prevalência da cárie dentária no homem impulsionou a Odontologia Preventiva a prestar-se às outras alterações bucais como a erosão dentária ¹, condição bucal multifatorial que envolve fatores biológicos, químicos e comportamentais ², caracteriza-se pela perda progressiva de estrutura dental sob exposição ácida de origem extrínseca ³ provenientes de alimentos com baixo pH^{4, 5,6} (refrigerantes, vinagres ⁷, sucos de frutas ácidas ⁸ e isotônicos ⁹), exposição ácida decorrente de atividades laborais ^{10; 11; 12} ou utilização contínua de alguns medicamentos, sobretudo na infância ¹³.

Como forma de encontrar e desenvolver medidas preventivas à erosão dentária, estudos vem sendo realizados no sentido de encontrar e desenvolver novos produtos capazes de impedir efeitos erosivos em esmalte e dentina: soluções de fluoreto de sódio ¹⁴; laser ^{15, 16}; colutórios fluoretados ¹⁷; dentifrícios ¹⁸, vernizes fluoretados ^{19,20}; géis clareadores ²¹; gel à base de extrato de

*Euclea natalensis*²², soluções antiácidas²³, caseína^{24, 25} pasta de camarão²⁶ chá verde²⁷; chicletes estimuladores de salivação e alimentos ricos em cálcio, tais como leite e queijo^{28, 29}.

Estudos têm demonstrado a utilização de produtos à base de oliva para finalidades terapêuticas, pois existe associação destes com a diminuição do risco de doenças do coração³⁰, alguns casos de câncer³¹ e osteoporose³². Na Odontologia, obtiveram-se bons resultados na utilização de azeites de oliva na endodontia de dentes decíduos³³ e tratamento de perfurações radiculares³⁴.

Sobre o pinhão, semente da araucária ou pinheiro-do-Paraná (*Araucaria angustifolia*), poucos estudos são encontrados relacionando sua ação protetora à saúde, no entanto, as folhas deste produto regional apresentaram ação anti-herpética *in vitro*³⁵ e possível proteção contra câncer de pele³⁶.

Dessa forma, o presente estudo objetivou estudar o efeito protetor *in vitro* do azeite de oliva e de uma pasta de pinhão frente a um desafio erosivo ocasionado com refrigerante de cola em esmalte de dentes bovinos.

METODOLOGIA

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná (Nº CAAE: 01822612.5.0000.0102).

DEFINIÇÃO DO TEMPO DE DESAFIO EROSIVO - 12 amostras de dentes bovinos foram submetidas ao contato com solução erosiva (refrigerante que contém ácido fosfórico na composição) tendo sido mensuradas variações de cálcio, flúor e microdureza nos seguintes intervalos de tempo: 30, 60 e 90 segundos; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 10 minutos. As análises foram passíveis de mensuração a partir dos primeiros 2 minutos e com pouca variação em intervalos subsequentes menores que este. Após 8 minutos, a erosão percebida resultou em alteração de microdureza superficial indicativa de análise em dentina, não objetivada neste estudo. Assim, definiu-se realizar desafio erosivo em total de 8 minutos, sendo feito por 2 minutos em cada um dos 4 dias consecutivos.

SELEÇÃO DOS DENTES BOVINOS E CONFECÇÃO DOS CORPOS DE PROVA – Os incisivos inferiores bovinos que não apresentavam lesões evidentes de hipoplasias, trincas ou falhas na estrutura foram coletados e imediatamente armazenados em recipiente de vidro contendo gaze fixada na tampa e embebida em solução de Timol a 0,1%. Em seguida, os dentes foram então limpos de todo tecido mole, lavados em água destilada e armazenados secos em potes sob mesma condição descrita inicialmente, em geladeira refrigerada a 4°C (*Eletrolux, Brasil*). Durante o período de armazenamento, a solução de Timol foi trocada semanalmente.

Para a confecção das amostras, tubos de acrílico de aproximadamente 10mm de altura por 10mm de diâmetro foram isolados com vaselina líquida (*King, Brasil*) com auxílio de pincel. Então, os dentes foram fixados na base inferior do tubo por intermédio de fita adesiva, de modo que a face vestibular de cada dente não fosse imersa pela resina acrílica incolor ou acrescida de corantes verde ou vinho utilizados para a diferenciação dos grupos controle e experimentais.

Após a etapa de acrilização, conseguiu-se o paralelismo entre as superfícies das amostras por intermédio de Politriz rotativa (*Arotec/Aropol V2, Brasil*), utilizando 2 pesos e velocidade baixa (10 rpm) e lixas de granulações 400, 600, 800, 1000, 1200 e 1500 consecutivamente, sob refrigeração com água durante 3 minutos. Em seguida, foi realizado um polimento no mesmo sistema (*Arotec/Aropol, Brasil*), usando dois discos de feltro de texturas distintas e na presença de pasta diamantada (*Diamond Wafering Blade, Buehler, EUA*).

OBTENÇÃO DOS PRODUTOS-TESTE E SOLUÇÃO EROSIVA - Os pinhões para a confecção da pasta, o azeite de oliva extra virgem (acidez máxima 0,3%) e a solução erosiva utilizada (refrigerante com ácido fosfórico na composição) foram obtidos em comércio local da cidade de Curitiba-PR, havendo sido em qualquer etapa, a utilização de mesma marca e lote.

Para a confecção da pasta de pinhão, em fogão as sementes foram cozidas em panela de pressão (*Penedo, Brasil*) durante 30 minutos sob pressão em água destilada, de forma a não sofrer interferência no teor de

minerais encontrados no vegetal *in natura*. Em seguida, foram cortados em seu longo eixo e descascados. Então cada 100g de pinhões foram processados com 100ml de água destilada, em liquidificador por 2 minutos em potência máxima, obtendo assim a forma de pasta.

Os produtos-teste e a solução erosiva foram armazenados em geladeira (*Eletrolux, Brasil*) a 4°C.

GRUPO CONTROLE – As amostras do grupo controle foram tratadas apenas com água destilada.

ANÁLISE DE pH - Foram realizadas medidas de pH em 10 ml refrigerante com ácido fosfórico na composição, 10 ml do azeite de oliva e 10 g da pasta de pinhão utilizando-se eletrodo específico e previamente calibrado, no laboratório de Tecnologia de Alimentos localizado na Usina Piloto A da UFPR.

ANÁLISE DO TEOR DE FLÚOR E CÁLCIO DOS PRODUTOS-TESTE E SOLUÇÃO EROSIVA - 10ml refrigerante contendo ácido fosfórico na composição, 10 ml do azeite de oliva e 10g da pasta de pinhão tiveram suas concentrações de flúor mensuradas utilizando-se eletrodo específico (*Accumet® Fluoride Half-Cell Ion Selective Electrode - Fisher Scientific pre, Canadá*) e cálcio igualmente por intermédio de eletrodo específico (*Accumet® Calcium Combination Ion Seletive Electrode - Fisher Scientific Canadá*), sendo todos previamente calibrados no laboratório do curso de graduação em Engenharia Química, na Usina Piloto A da UFPR. .

Além disso, amostras foram feitos ensaios no Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA) por meio de absorção atômica (ICP) em espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido (*Varian, Brasil*) para quantificar mg de cálcio em 100g da pasta de pinhão, 100ml do refrigerante e 100ml de azeite de oliva. Valores semelhantes foram encontrados quando na utilização de potenciômetro.

DESAFIO EROSIVO UTILIZANDO REFRIGERANTE - A princípio, os espécimes tiveram metade da área de esmalte exposta, coberta com fita adesiva de modo a poder comparar a área erodida com a não submetida à

erosão. Cada espécime foi exposto ao produto-teste por 2 minutos, uma vez ao dia por 4 dias (Figuras 1A e 1B) , lavado com água destilada e seco. Entre cada intervalo de tratamento, os corpos de prova foram mergulhados em 10 ml de solução erosiva com pH 2,8 em pote plástico por um período de 2 minutos, uma vez ao dia e em 4 dias consecutivos (Figura 1C). Em seguida, as amostras foram removidas do desafio erosivo, lavadas em água destiladas e secas. De modo a garantir padronização do poder erosivo do refrigerante utilizado neste procedimento, antes de cada desafio erosivo foi verificado o valor de pH do refrigerante. Com auxílio de potenciômetro e eletrodos específicos para cada íon, também foram feitas leituras das quantidades de cálcio e flúor no refrigerante antes e após exposição das superfícies de esmalte à solução erosiva. As amostras passaram, então, por medida de microdureza, e armazenadas em água destilada por 24 horas (Figura 1D), até o momento do novo desafio erosivo.

ANÁLISE DE MICRODUREZA –Após cada desafio erosivo, todos os espécimes passaram por testes de microdureza utilizando-se microdurômetro (*BUEHLER – Micronet 5104 N° série 660 – Mit4-00306, EUA*), sob indentação com penetrador diamantado em formato piramidal tipo Knoop, com carga de 25g a um tempo de 5 segundos.

A superfície de esmalte medida em relação a sua microdureza foi calculada a partir da média aritmética de 5 indentações, sendo que os valores de cada endentação era fornecido, em força Knoop, pelo próprio equipamento.

ANÁLISE DE SUPERFÍCIE POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) - Cada grupo experimental e controle deram origem a 4 espécimes, sendo um para cada intervalo de tempo dos ciclos erosivos (2, 4, 6 e 8 minutos). Essas amostras foram cobertas com camada tênue de ouro, de modo a terem suas superfícies visualizadas em aumentos de 5000, 10000 vezes em microscópio eletrônico de varredura (FEI, Phenom), no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

ANÁLISE ESTATÍSTICA - Para realizar a cinética de perda de microdureza de cálcio e de flúor nas amostras de esmalte bovino, os dados foram submetidos à

análise de regressão linear simples. Para isso, os 20 espécimes foram divididos randomicamente em 4 grupos, e o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado, obtendo-se p-valor maior que 0,05 para todos o conjunto de dados. Os parâmetros de qualidade de ajuste avaliados foram o coeficiente de correlação (r), coeficiente de determinação (R^2), e o valor de probabilidade associado à regressão (p-valor) obtido pela análise de variância unifatorial. P-valores abaixo de 0,1 foram considerados significativos.

A análise de correlação entre as variáveis de resposta foi realizada levando em consideração os 4 dias de estudo no intuito de verificar associação significativa entre as variáveis de resposta,. Para isso, o coeficiente de Pearson, juntamente com o valor de probabilidade da correlação foram calculados.

Para avaliar a eficácia das pastas compostas com azeite de oliva e com pasta de pinhão em relação ao controle negativo, um teste de comparação de médias das perdas entre os grupos foi efetuado. Para isso, inicialmente a homogeneidade de variâncias foi verificada pelo teste de Hartley e diferenças significativas entre os grupos foram avaliadas pela análise de variância unifatorial (*one-way* ANOVA). Quando diferenças estatisticamente significativas foram detectadas ($p < 0,05$), o teste de Fisher de diferença mínima significativa foi utilizado.

RESULTADOS

Os valores das concentrações iniciais de cálcio, flúor e ph do refrigerante, azeite de oliva e da pasta de pinhão são apresentados na tabela 1. A tabela 2 ilustra valores médios obtidos e as figuras 2, 3 e 4 a cinética de perda de cálcio para cada grupo experimental e controle.

A variação do teor de cálcio e flúor verificada por potenciometria a cada desafio erosivo nos 4 dias de experimento estão dispostas nas tabelas 3 e 4, respectivamente. As figuras 5, 6 e 7 ilustram a cinética de perda de flúor para cada grupo experimental e controle, ao passo que as figuras 8, 9 e 10 mostram a cinética de perda de microdureza também para cada grupo.

As tabelas 5, 6 e 7 descrevem associação entre as variáveis resposta para todos os grupos, em relação à diminuição de microdureza, perda de cálcio e flúor.

Observou-se que os dois grupos experimentais apresentaram efeito protetor significativo em comparação ao grupo controle, sendo mais evidenciado para o representado por Pasta de pinhão do que para o Azeite de oliva. Esta afirmativa é válida para a perda de microdureza, cálcio e flúor, conforme mostram as tabelas 8, 9 e 10.

As análises de microscopia eletrônica de varredura ilustram os resultados dos experimentos com os todos os grupos estudados: o grupo controle é representado pela Figura 12 e mostra superfície com maior alteração morfológica em relação à superfície não exposta à solução erosiva (Figura 11); a Figura 13 pertence ao grupo tratado com pasta de pinhão e apresenta a superfície de esmalte levemente alterada e mais semelhante ao grupo não erodido; a imagem do esmalte do grupo experimental azeite de oliva é representada pela figura 14 e contém diferenças mais pronunciadas que o grupo pasta de pinhão e menores que o controle em comparação ao esmalte sem contato com o refrigerante.

DISCUSSÃO

O presente estudo encontrou significância estatística para todos os experimentos realizados com azeite de oliva. Isto parece ser indicar efeito protetor deste produto contra a erosão dentária induzida nesta pesquisa. Diferentemente, Wiegand, Gutsche, Attin (2007)³⁷ analisaram efeito protetor de azeite de oliva puro, emulsão de azeite de oliva 2%, enxaguatório bucal fluoretado acrescido de azeite de oliva frente à erosão dental induzida com ácido cítrico (pH 2,3) e encontraram que o óleo puro não apresentou proteção ao esmalte e dentina, ao passo que os outros grupos foram significativos para esta finalidade. No entanto, os autores discutem que resultados poderiam ser melhorados utilizando-se um desafio erosivo menos severo que o adotado (5 ciclos de 3 minutos cada). Em contrapartida, resultados positivos foram percebidos em estudo utilizando-se gel de óleo de oliva, sendo perceptível a

redução desmineralização (cálcio e fósforo) em pré-molares humanos contendo aparato ortodôntico conhecidamente indutor de perda mineral ³⁸.

Apesar de haver necessidade de mais investigações a respeito dos benefícios dos lipídios na Odontologia, parece ser viável o uso destes sob a forma de óleos comestíveis. Os componentes oleicos contribuem para a formação de uma película lipídica capaz de diminuir benéficamente a perda de minerais em situações de exposição ácida, conseqüentemente apresentando proteção contra erosão dentária³⁹. Estas considerações vão de encontro à pesquisa que visou associar diminuição de desmineralização ácida ao uso de emulsões lipídicas em dentina e mostrou que lipídios de fonte extrínseca são capazes de influenciar a redução de perda mineral, sugerindo estudos que embasem a indicação destes compostos como alimento auxiliar à prevenção de doenças e alterações no âmbito odontológico ⁴⁰.

Ao se investigar a correlação entre as variáveis, verificou-se que, para todos os grupos, microdureza está intimamente relacionada à perda de cálcio. Portanto, conforme a microdureza é diminuída, também o cálcio é degradado. Todavia, vale ressaltar que outros minerais estão envolvidos no processo de erosão, tal como o fosfato⁴¹, não verificado neste estudo e talvez não transferido da superfície dentária para a solução erosiva.

Encontrou-se neste estudo, ainda, que a pasta de pinhão também mostrou efeito protetor, sendo ainda maior que para o grupo Azeite de oliva. Em média tem-se que o teor de fósforo e potássio a cada 100g de pinhão giram em torno de 650mg e 780mg, respectivamente, valores consideravelmente altos em relação a outros alimentos ⁴².

As cinéticas de perda de microdureza e cálcio mostraram-se semelhantes para todos os grupos, sendo que com o passar dos dias em que o experimento foi realizado, a degradação foi menor. O mesmo não é possível perceber ao se analisar a regressão linear para a perda de flúor, para todos os grupos, uma vez que este íon tem sua perda progressivamente maior com o passar dos dias.

O pH da solução erosiva relaciona-se diretamente com o seu potencial de erodir o esmalte dentário. Assim, apesar do rigor metodológico para o estabelecimento do ciclo erosivo adotado, pode ser possível que adequações no método resultem em resultados mais promissores. Assim, também é

possível que os produtos testados sejam mais eficazes se forme submetidos a outros tipos de soluções ácidas, como o ácido láctico, ácido málico e outros ou ainda, outras bebidas utilizadas, sobretudo aquelas comuns na infância e adolescência, tais como os sucos fermentados e isotônicos.

É preciso observar que foram utilizados apenas dentes bovinos. Apesar de estes serem bastante adotados e recomendados em pesquisas envolvendo erosão dental ²³, sugere-se reproduzir testes de variação de íons deste estudo utilizando-se dentes humanos, considerando-se a possibilidade de espécimes bovinos apresentarem maior porosidade e susceptibilidade de perda mineral devido à ação ácida.

Ainda, durante os intervalos entre os ciclos erosivos os espécimes foram armazenados em água destilada, na tentativa de não ocorrer transporte de minerais da solução para a o esmalte e agir como agente de confusão na proteção dos produtos-teste frente à erosão. Todavia, o armazenamento diário em saliva natural ou artificial poderia ser recomendado de forma a simular mais proximamente situações reais, salientando a possível formação de película adquirida que por sua vez, acrescida das supostas propriedades preventivas do azeite de oliva e da pasta de pinhão poderia contribuir com resultados mais positivos.

Controvérsias e indefinições são evidentes na literatura científica no que se refere a ainda não haver metodologia padrão em estudos sobre erosão dentária, sendo que a grande quantidade de métodos de estudo dificulta a comparação de resultados entre as pesquisas. E provavelmente isto foi uma das principais limitações encontradas na realização deste estudo.

CONCLUSÕES

Diante das análises dos resultados encontrados neste estudo, conclui-se que:

- Tanto azeite de oliva como pasta de pinhão foram estatisticamente capazes de proteger o esmalte bovino contra a perda de cálcio, flúor e microdureza no desafio ácido adotado neste estudo;
- Pasta de pinhão apresentou maior indício de efeito protetor contra a

erosão dentária causada por refrigerante que o azeite de oliva.

REFERÊNCIAS

1. Ganss C, Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents: a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol* 2001;29(4):264-71.
2. Lussi A, Jaeggi T. Erosion – diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig* 2008;12Suppl 1: 5-13.
3. Imfeld T, Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci* 1996;104:151-155.
4. Yip KHK, Smales RJ, Kaidonis JA. The diagnosis and control of extrinsic acid erosion of tooth substance. *Gen Dent* 2003;51(4):350-53.
5. Fraunhofer AJ, Rogers M. Dissolution of dental enamel in soft drinks. *Gen Dent* 2004;52(4):308-312.
6. Torres CP, Chinelatti MA, Gomes-Silva JM, *et al.* Surface and Subsurface Erosion of Primary Enamel by Acid Beverages over Time. *Braz Dent J* 2010;21(4):337-45.
7. Moynihan PJ. The role of diet and nutrition in the etiology and prevention of oral diseases. *Bull World Health Organ* 2005;83(9):694-99.
8. Santacruz MCF, Chamorro ACM. Diagnóstico y epidemiologia de erosión dental. *Salud UIS* 2011;43(2):179-89.
9. Cavalcanti AL, Xavier AFC, Souto R *et al.* Avaliação *in vitro* do potencial erosivo de bebidas isotônicas. *Rev Bras Med Esporte* 2010;16(6):455-58.

10. Vianna MIP, Santana VS. Exposição ocupacional a névoas ácidas e alterações bucais; uma revisão. *Cad Saude Publica* 2001;17(6):1335-44.
11. Matta ARC, Irakawa CRK. Efecto del agua de piscine en esmalte de dientes deciduous humanos: estudo con microscopia electrónica de barrido. *Rev. Estomatol Hered* 2004;14:59-62.
12. Mulic A, Tveit AB, Hove LH *et al.* Dental erosive wear among Norwegian wine tasters. *Acta Odontol Scand* 2010;69(1):21-6.
13. Neves BG, Pierro VSS, Maia LC. Percepções e atitudes de responsáveis por crianças frente ao uso de medicamentos infantis e sua relação com cárie e erosão dentária. *Ciênc Saúde Coletiva* 2007;12(5):1295-300.
14. Abdullah AZ, Ireland AJ, Sandy JR *et al.* A Nanomechanical Investigation of Three Putative Anti-Erosion Agents: Remineralisation and Protection against Demineralisation. *Int J Dent* 2012; 2012. DOI: 10.1155/2012/768126.
15. Azevedo DT, Romano JJF, Dercel JR *et al.* Effect of Nd:YAG Laser Combined with Fluoride on the Prevention of Primary Tooth Enamel Demineralization. *Braz Dent J* 2012;23(2):104-9.
16. Ramalho KM, Eduardo CP, Heussen N *et al.* Protective effect of CO2 laser (10.6 µm) and fluoride on enamel erosion in vitro. *Lasers Med Sci* 2011;1-8.
17. White AJ, Jones SB, Barbour ME *et al.* Inhibition of erosive dissolution by sodium fluoride: Evidence for a dose–response. *J Dent* 2012;40:654-60.
18. Ren Y, Liu X, Fadel N *et al.* Preventive effects of dentifrice containing 5000 ppm fluoride against dental erosion in situ. *J Dent* 2011;39:672-8.

19. Magalhaes AC, Kato MT, Rios D *et al.* The effect of na experimental 4% TiF₄ varnish compared to NaF varnishes and 4% TiF₄ solution on dental erosion *in vitro*. *Caries Res* 2008;42:269-274.
20. Tavassoli-Hojjati S, Haghgoo R, Mehran M *et al.* In vitro evaluation of the effect of fluoride gel and varnish on the de-mineralization resistance of enamel. *JIDA* 2012;24(1):28-34.
21. Borges AB, Torres CRG, Souza PAB *et al.* Bleaching Gels Containing Calcium and Fluoride: Effect on Enamel Erosion Susceptibility. *Int J Dent* 2012;39:1-6.
22. Sales-Peres SHC, Brianezzi LFF, Marsicano JA *et al.* Evaluation of an Experimental Gel Containing *Euclea natalensis*: An *In vitro* study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012;2012:1-6.
23. Turssi CP, Vianna LQFP, Hara AT *et al.* Counteractive efeito de suspensões de antiácido em erosão dental intrínseca. *Eur J Oral Sci* 2012;120(4):349-52.
24. Ferrazzano GF, cantile T, Quarto M *et al.* Protective effect of yogurt extract on dental enamel demineralization *in vitro*. *Austr Dent J* 2008;53(4):314-9.
25. Hemingway CA, White AJ, Shellis RP *et al.* Enamel Erosion in Dietary Acids: Inhibition by Food Proteins *in vitro*. *Caries Res* 2010;44:525–30.
26. Chuenarrom C, Benjalul P. Dental erosion protection by fermented shrimp paste in acidic food. *Caries Res* 2010;44:20–3. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-77572009000600004>.
28. Gedalia I, Ionat-Bendat D, Bem-Moshed S *et al.* Tooth enamel softening with a cola type drink and rehardening with hard cheese or stimulated saliva *in vitro*. *J Oral Rehabilitation* 1991; 18(6):501-6.

29. Lewinstein I, Ofek L, Gedalia I. Enamel rehardening by soft cheeses. *American J Dent* 1993;6(1):46-48.
30. Visoli F, Galli C. Biological properties of olive oil phytochemicals. *Crit Rev Food Sci Nutr* v.42, p.209-221, 2002.
31. Demetriou CA, Hadjisavvas A, Loizidou MA *et al.* The mediterranean dietary pattern and breast cancer risk in Greek-Cypriot women: a casecontrol study. *BMC Cancer* 2012;12:113.
32. Saleh NK, Saleh HA. Azeite atenua eficazmente a osteoporose induzida por ovariectomia em ratos. *BMC Compl Altern Med* 2011;11:10.
33. Massara MLA, Tavares WLF, Noronha JC *et al.* A Eficácia do Hidróxido de Cálcio no Tratamento Endodôntico de Decíduos: Seis Anos de Avaliação. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2012;12(2):155-9.
34. Melo PAV, Travassos RMC, Dourado AT. Perfuração radicular cervical: relato de caso clínico. *Rev. Odontol. Univ. Cid. São Paulo* 2011;23(3):266-72.
35. Freitas M, Almeida MTR, Andrighetti-Fröhnerc CR, Cardozo FTGS *et al.* Antiviral activity-guided fractionation from *Araucaria angustifolia*. *JEthnopharmacol* 2009;126:512-7.
36. Yamaguchi LF, Kato MJ, Mascio PD. Biflavonoids from *Araucaria angustifolia* protect against DNA UV-induced damage. *Phytochemistry* 2009;70(5):615-620.
37. Wiegand A, Gutsche M, Attin T. Effect of olive oil and an olive-oilcontaining fluoridated mouthrinse on enamel and dentin erosion in vitro. *Acta Odontologica Scandinavica* 2007;65:35761.

38. Ghobashy SA, El-Tokhey HM. In Vivo Study of the Effectiveness of Ozonized Olive Oil Gel on Inhibiting Enamel Demineralization during Orthodontic Treatment. *Journal of American Science* 2012;8(10):657.
39. Kensche A, Reich M, Kümmerer K *et al.* Lipids in preventive dentistry. *Clin Oral Invest* 2012:1-17.
40. Buchalla W, Attin T, Roth P *et al.* Influence of olive oil emulsions on dentin demineralization in vitro. *Caries Res* 2003;37:100–7.
41. Johansson A, Omar R, Carlsson GE *et al.* Dental erosion and its growing importance in clinical practice. *Int J Dent* 2012:1-17
42. Associação Portuguesa de Insuficientes Renais. Teor de fósforo e potássio em alguns gêneros alimentícios [Internet]. Lisboa: APIR, 2012. [acesso em 2012 dez 20].

TABELAS

Tabela 1. Caracterização da solução erosiva, pasta de pinhão e azeite de oliva quanto às medidas iniciais de cálcio, flúor e pH.

	Cálcio	Flúor	pH
Azeite de oliva	16,57mg/100ml *	43,3ppm**	5,01**
Pasta de pinhão	68,83mg/100g *	60,4ppm**	5,94**
Refrigerante	24,03mg/100ml *	4,89ppm**	2,81**

* Metodologia: ICP

** Metodologia: Potenciometria

Tabela 2. Média das medidas de microdureza (Força Knoop) perdida para os grupo controle e experimentais.

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	TOTAL PERDIDO
Grupo controle					
(água destilada)	53,8	49,3	30,3	36,6	170
Azeite de oliva	34,5	31,6	27,2	30,8	124,1
Pasta de pinhão	12,7	10,6	9,7	12,4	45,4

Tabela 3. Variação do teor de cálcio (ppm) perdido para a solução erosiva nos grupos controle e experimentais.

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	TOTAL PERDIDO
Grupo controle (água destilada)	8,4	2,8	2,9	4,3	18,4
Azeite de oliva	5,4	2,3	1,6	1,9	11,2
Pasta de pinhão	4,3	2,1	0,4	0,9	7,7

Tabela 4. Variação do teor de flúor (ppm) perdido para a solução erosiva nos grupos controle e experimentais.

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	TOTAL PERDIDO
Grupo controle (água destilada)	1,91	2,01	2,10	2,17	8,19
Azeite de oliva	1,61	1,61	1,82	2,01	7,05
Pasta de pinhão	1,31	1,51	1,44	1,71	5,97

Tabela 5. Análise de correlação entre as variáveis Microdureza, perda de cálcio e perda de flúor para o Pasta de Pinhão.

	Microdureza	Cálcio	Flúor
Microdureza	1,0000 (p= ---)	0,8781 (p= 0,000)	- 0,4384 (p=0,89)
Cálcio	0,8781 (p=0,000)	1,0000 (p= ---)	- 0,3984 (p=0,126)
Flúor	- 0,4384 (p= 0,89)	- 0,3984 (p=0,126)	1,0000 (p= ---)

p<0,1

Tabela 6. Análise de correlação entre as variáveis Microdureza, perda de cálcio e perda de flúor para o Grupo Azeite de Oliva.

	Microdureza	Cálcio	Flúor
Microdureza	1,0000 (p= ---)	0,8281 (p= 0,000)	- 0,4339 (p=0,93)
Cálcio	0,8281 (p=0,000)	1,0000 (p= ---)	- 0,4884 (p=0,055)
Flúor	- 0,4339 (p= 0,93)	- 0,4884 (p=0,055)	1,0000 (p= ---)

p<0,1

Tabela 7. Análise de correlação entre as variáveis Microdureza, perda de cálcio e perda de flúor para o Grupo Controle.

	Microdureza	Cálcio	Flúor
Microdureza	1,0000 (p= ---)	0,6197 (p=0,10)	0,6197 (p=0,10)
Cálcio	0,6197 (p=0,10)	1,0000 (p= ---)	- 0,4918 (p=0,53)
Flúor	- 0,6263 (p= 0,09)	- 0,4918 (p=0,53)	1,0000 (p= ---)

p<0,1

Tabela 8. Comparação de perda de microdureza entre os grupos experimentais (Pasta de pinhão e Azeite de Oliva) e controle (Teste de Fischer LSD).

Grupo	Microdureza	1	2	3
Pasta de Pinhão	45,9300	****		
Azeite de Oliva	124,2550		****	
Controle	168,2000			****

- p-valor (homogeneidade de variâncias): 0,21
- p-valor (ANOVA): <0,0001

Tabela 9. Comparação de perda de cálcio entre os grupos experimentais (Pasta de pinhão e Azeite de Oliva) e controle (Teste de Fisher LSD).

Grupo	Cálcio	1	2	3
Pasta de Pinhão	7,905	****		
Azeite de Oliva	11,380		****	
Controle	18,515			****

- p-valor (homogeneidade de variâncias): 0,54

- p-valor (ANOVA): <0,0001

Tabela 10. Comparação de perda de flúor entre os grupos experimentais (Pasta de pinhão e Azeite de Oliva) e controle (Teste de Fisher).

Grupo	Flúor	1	2	3
Pasta de Pinhão	5,960000	****		
Azeite de Oliva	7,045000		****	
Controle	8,170000			****

- p-valor (homogeneidade de variâncias): 0,16
- p-valor (ANOVA): 0,0005

LISTA DE FIGURAS

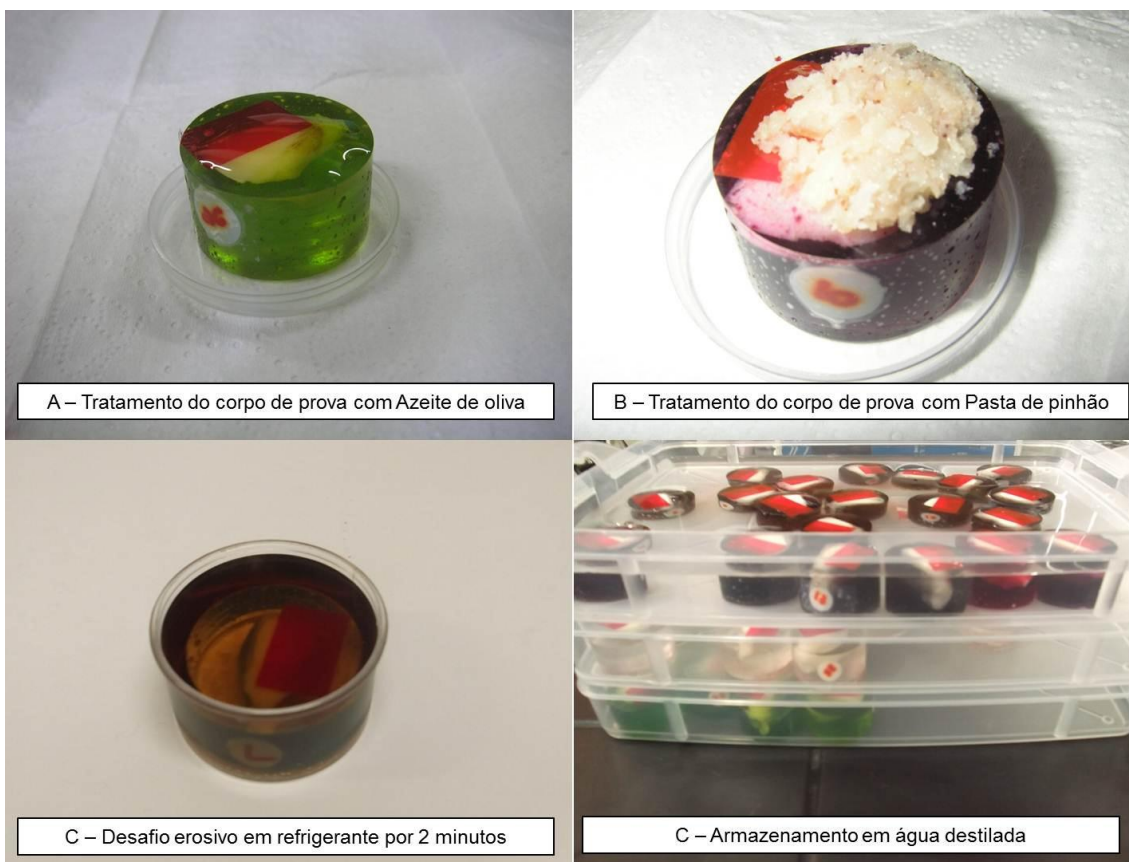
Figura 1. Tratamento, desafio erosivo e armazenamento dos corpos de prova.

Figura 2. Cinética de perda de microdureza para o grupo experimental Pasta de Pinhão durante os 4 dias de experimento.

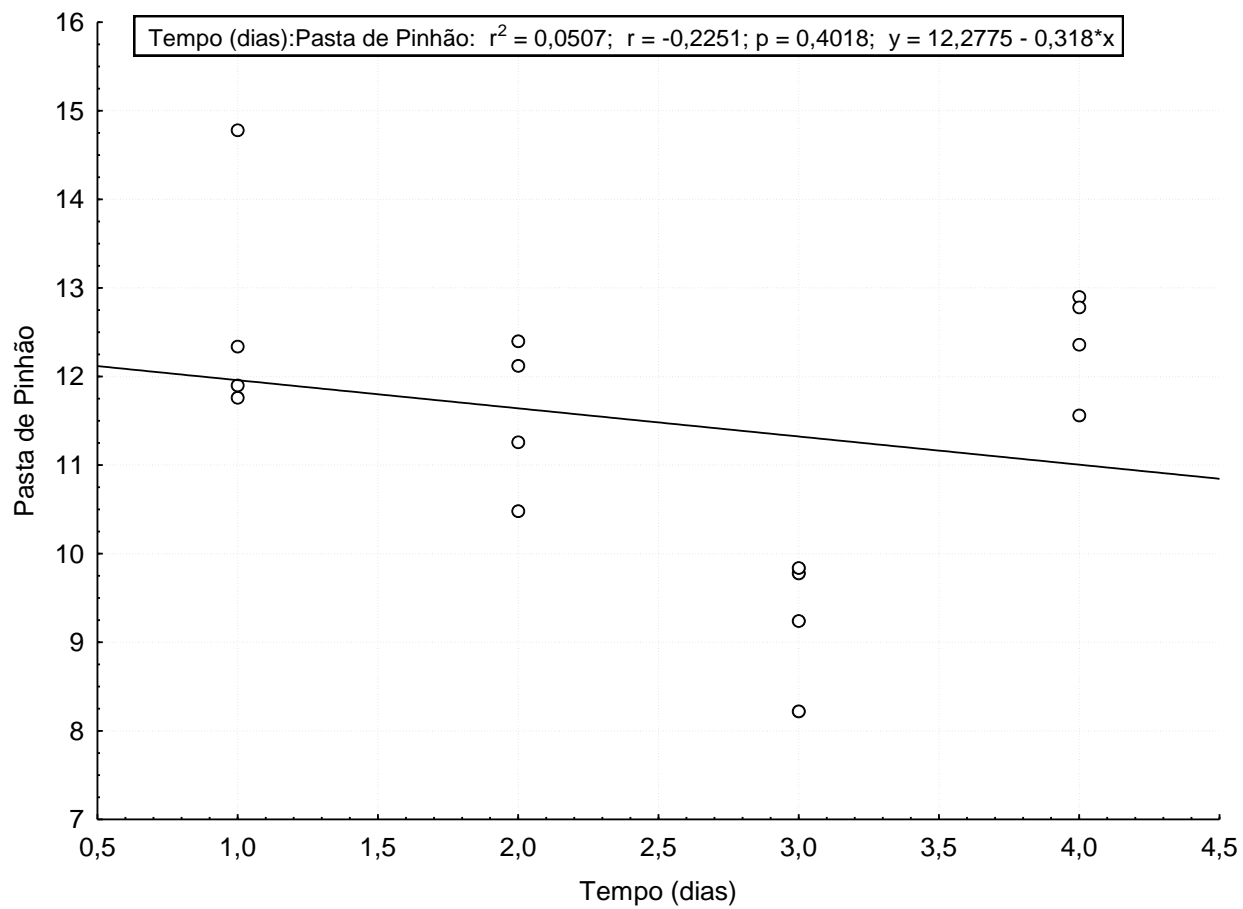


Figura 3. Cinética de perda de microdureza para o grupo experimental Azeite de Oliva durante os 4 dias de experimento.

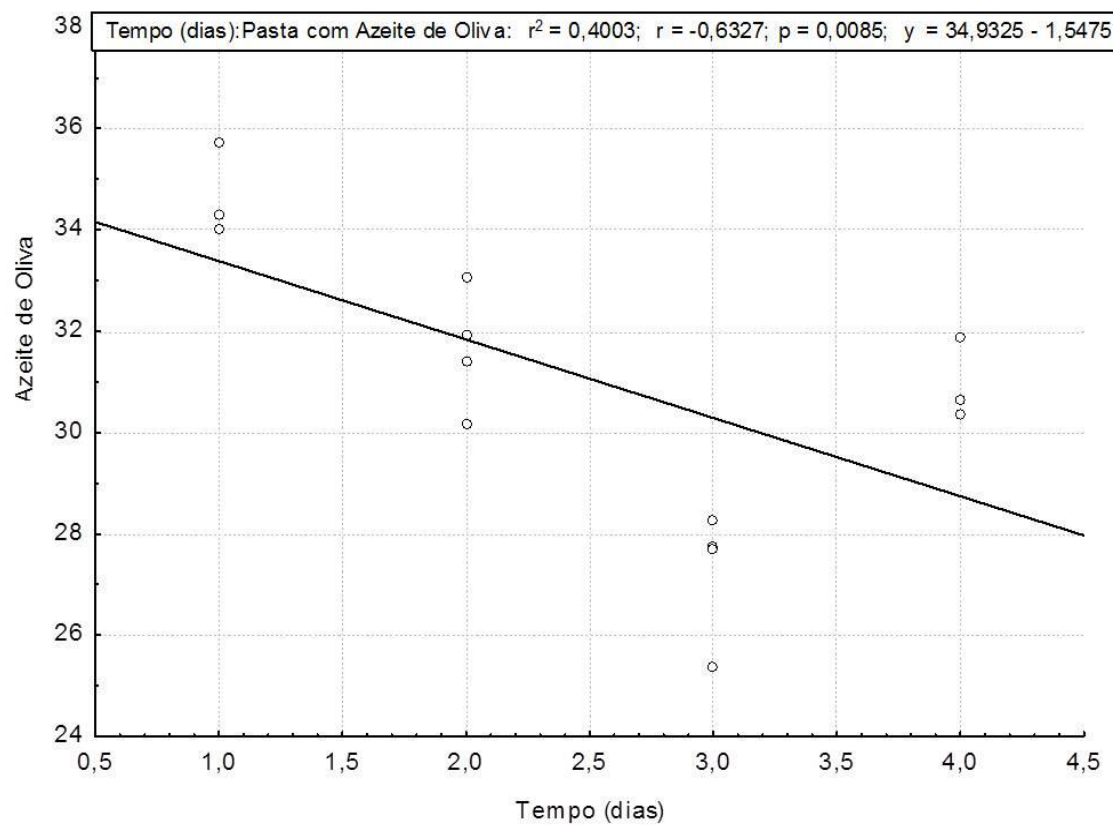


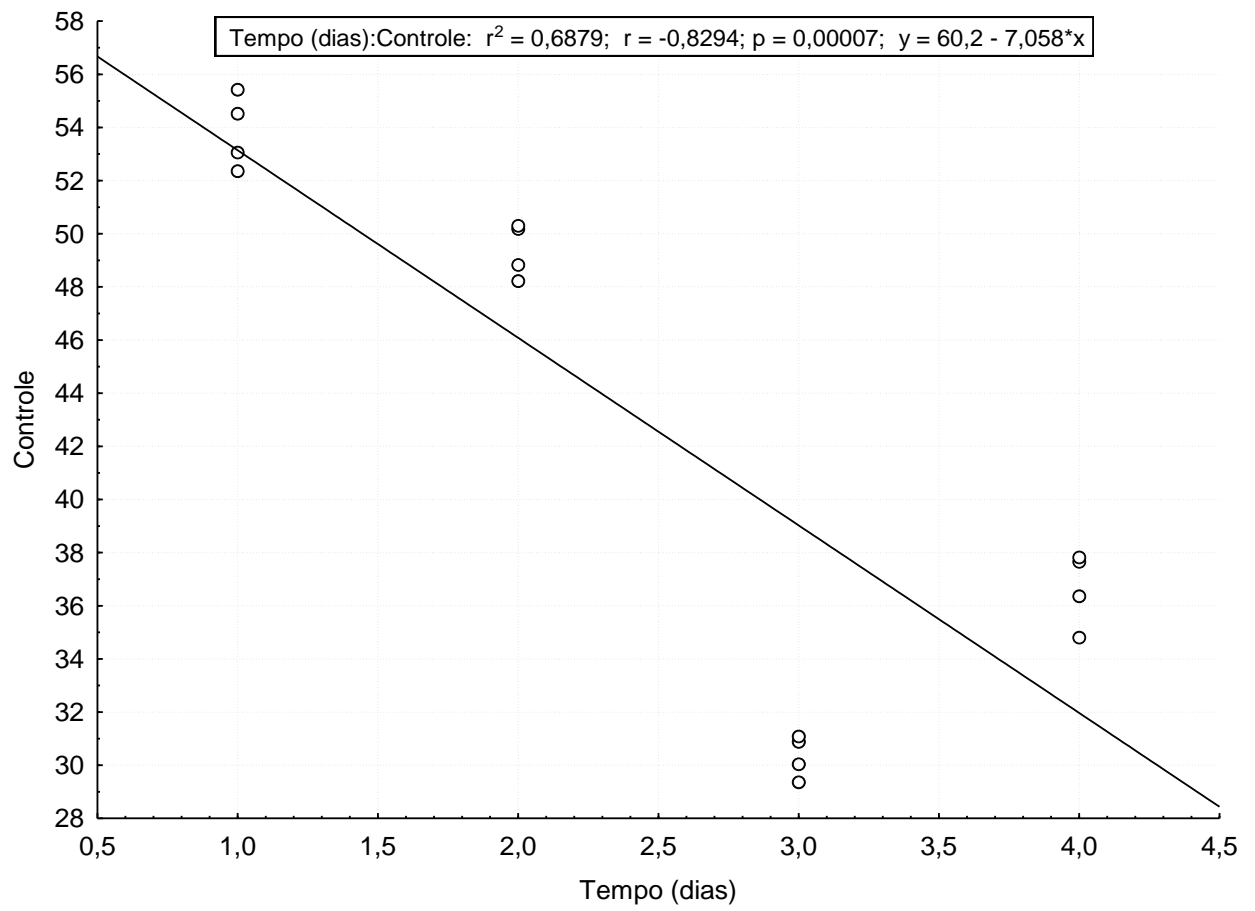
Figura 4. Cinética de perda de microdureza para o grupo Controle.

Figura 5. Cinética de perda de cálcio para o grupo experimental Pasta depinhão.

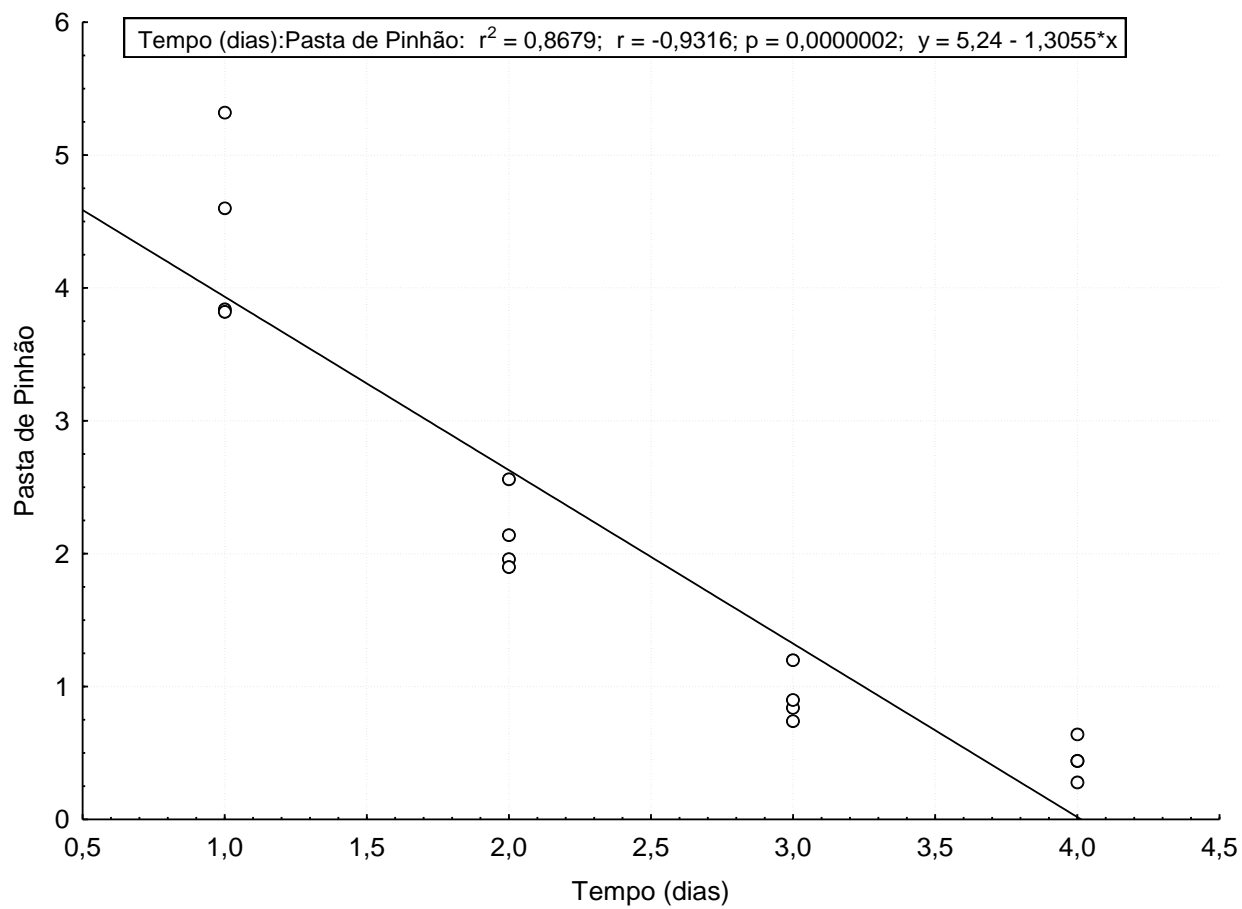


Figura 6. Cinética de perda de cálcio para o grupo experimental Azeite de Oliva.

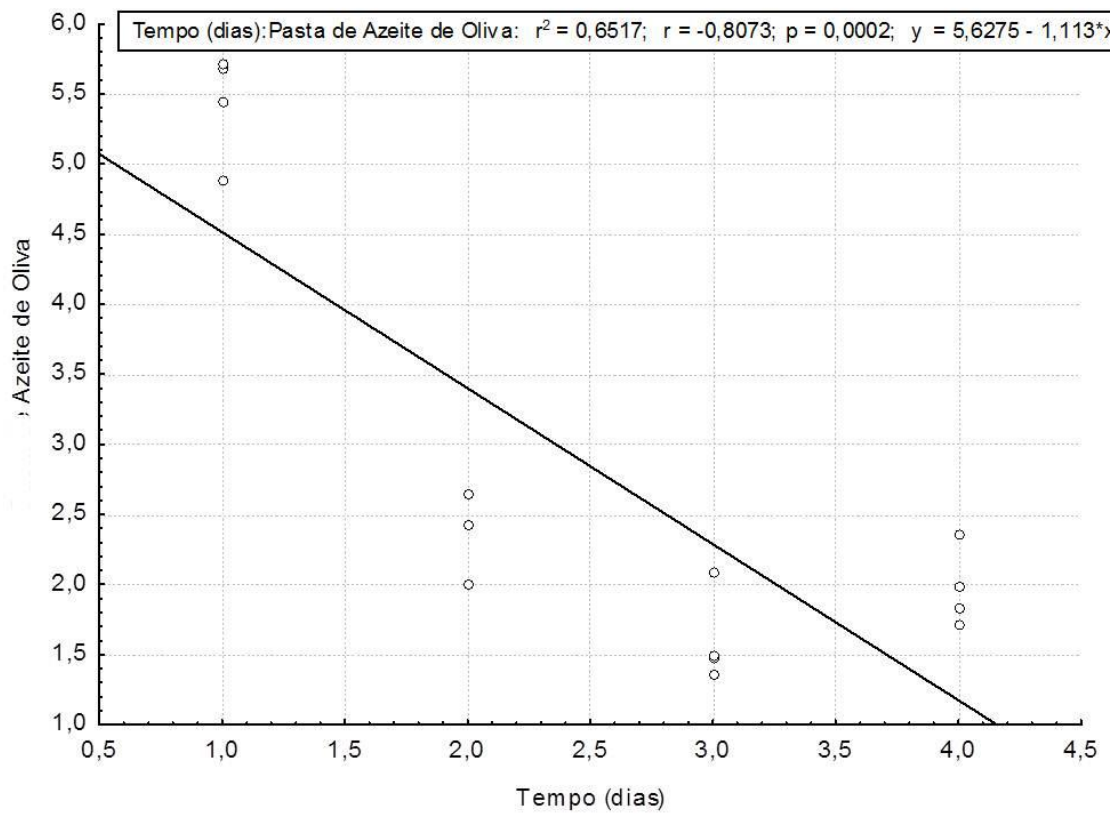


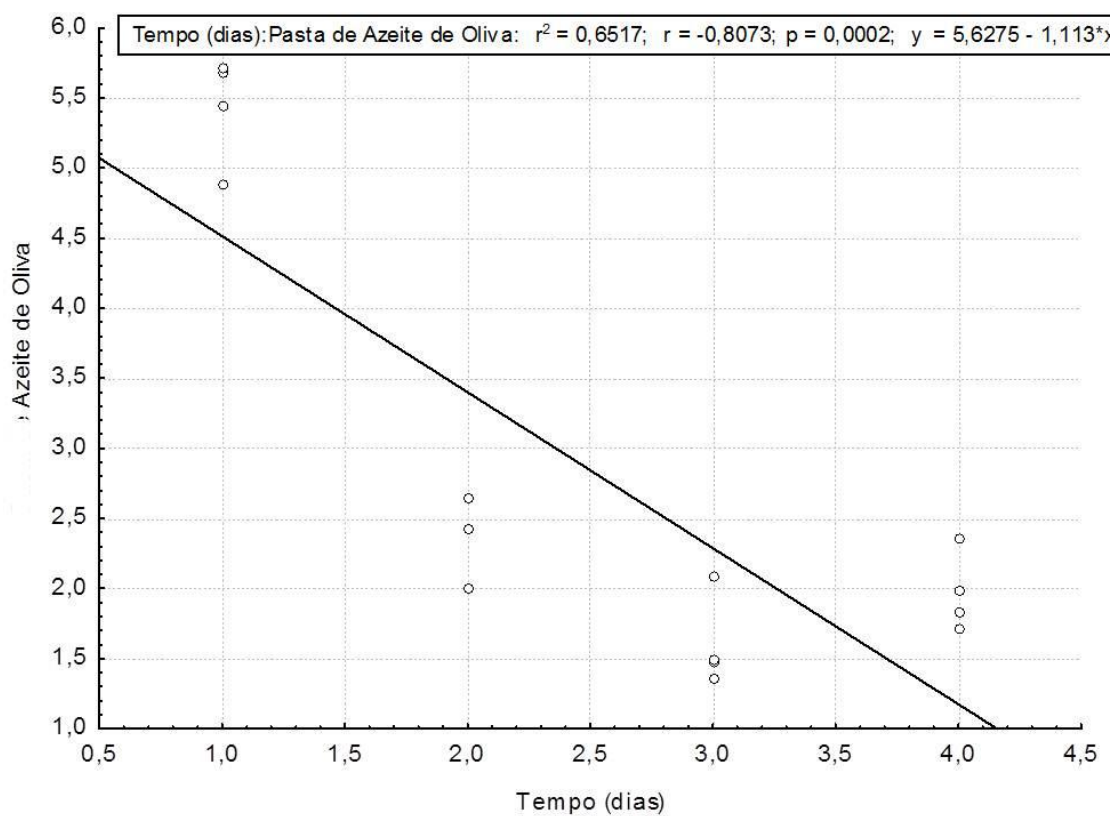
Figura 7. Cinética de perda de cálcio para o grupo Controle.

Figura 8. Cinética de perda de flúor para o grupo experimental Pasta de Pinhão.

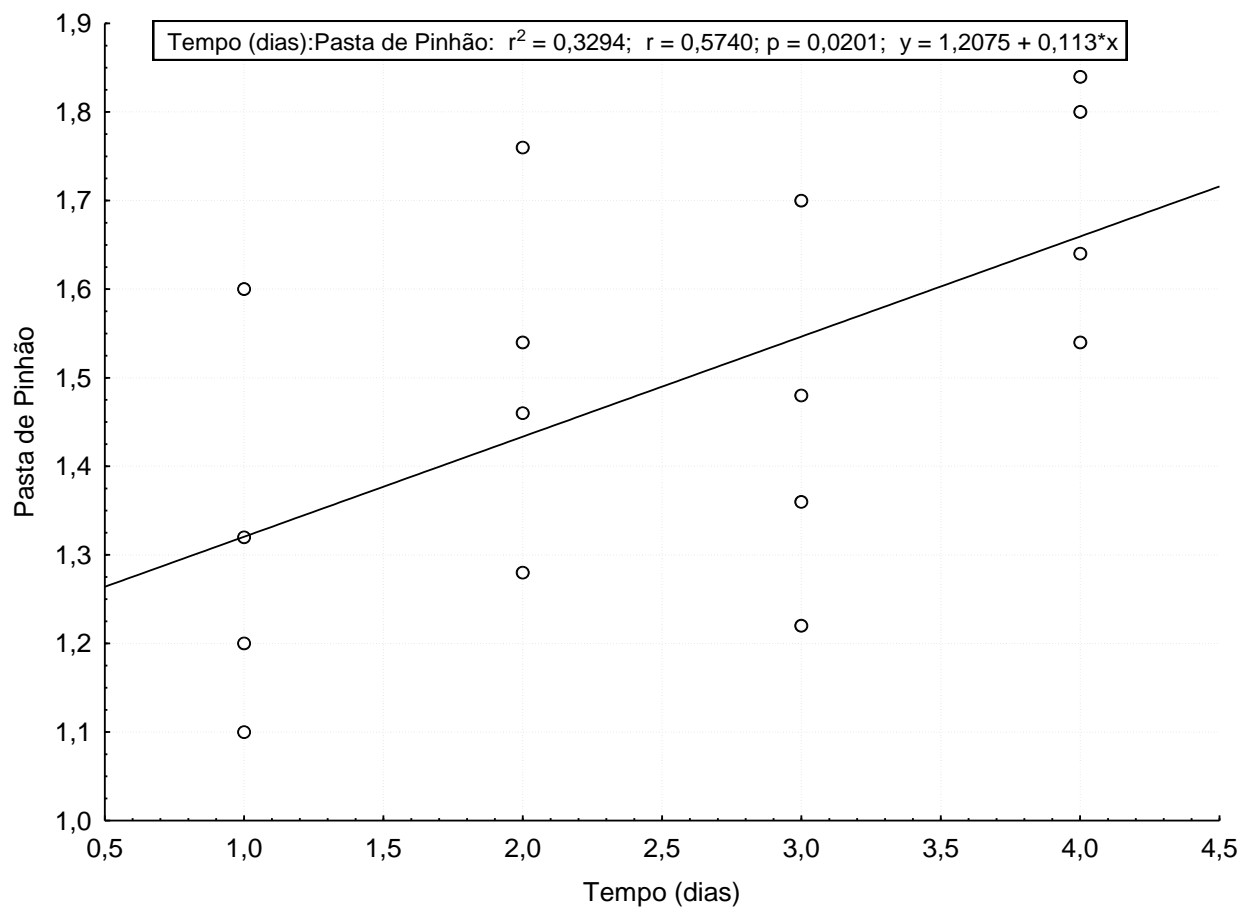


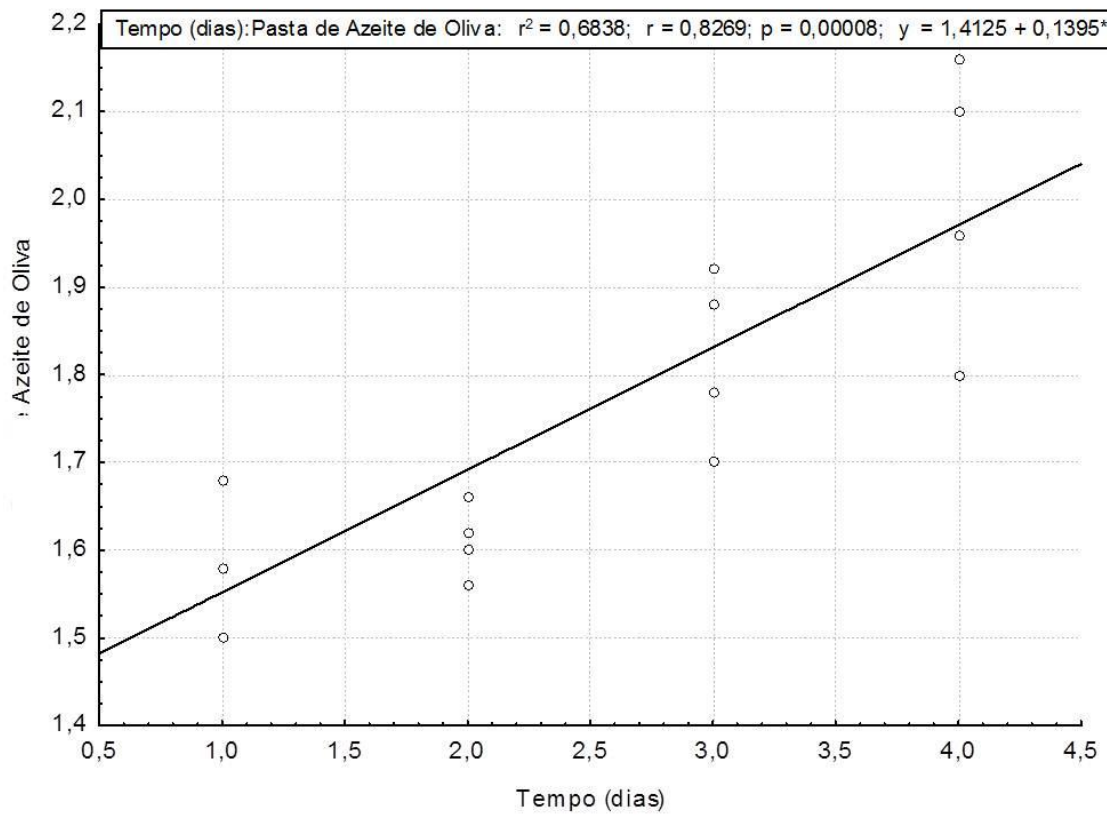
Figura 9. Cinética de perda de flúor para o grupo experimental Azeite de Oliva.

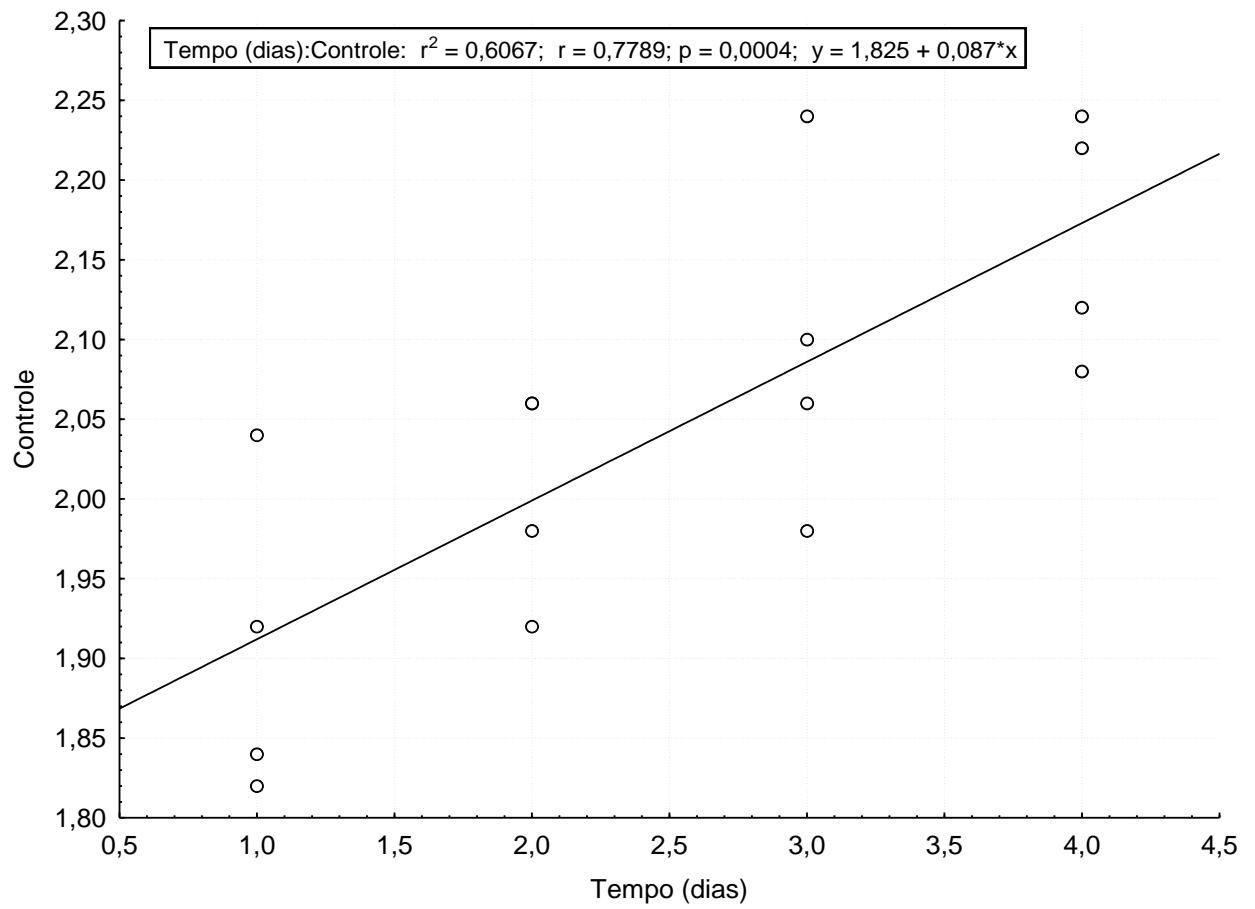
Figura 10. Cinética de perda de flúor para o grupo Controle.

Figura 11. Micrografia do esmalte dentário não submetido à erosão, ao final do 4º dia de experimento.

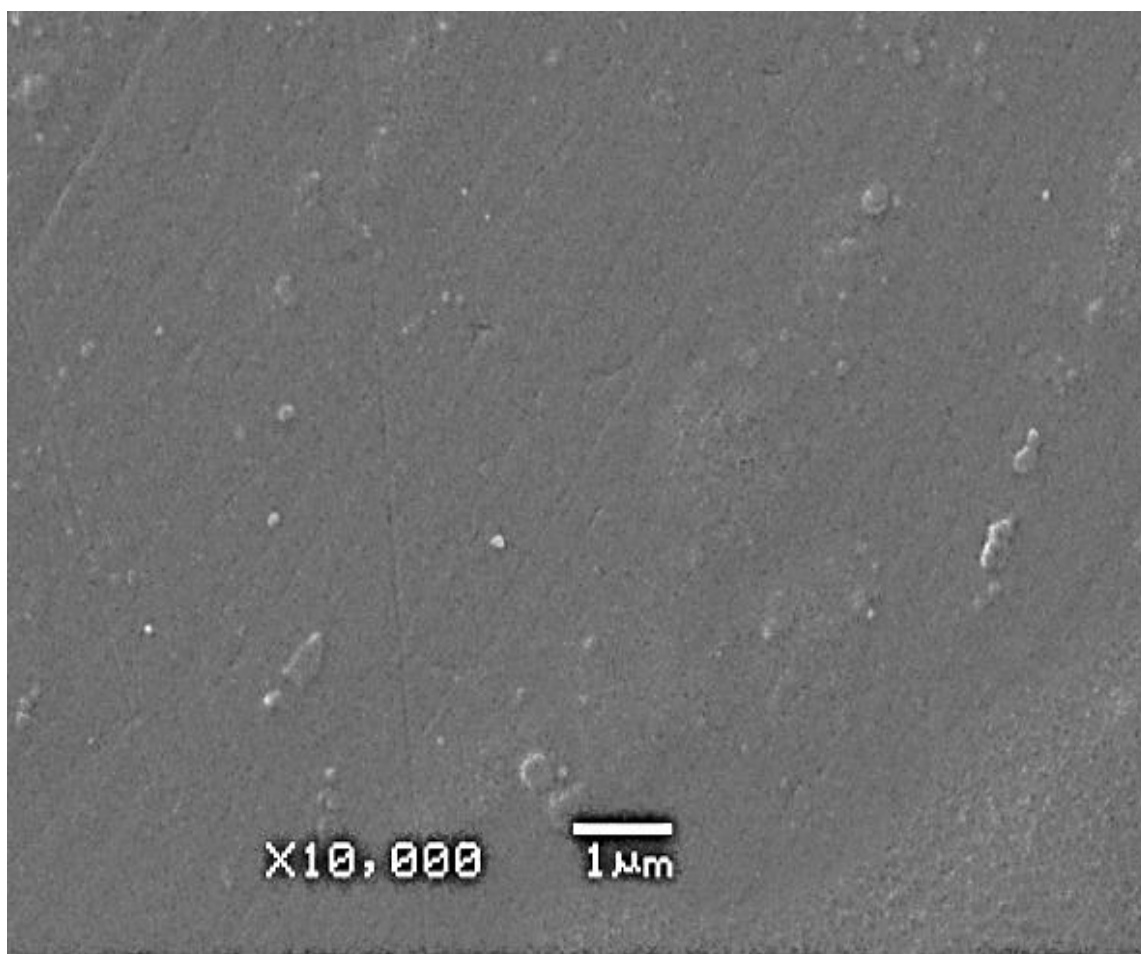


Figura 12. Micrografia do esmalte dentário do grupo controle submetido à erosão, ao final do 4º dia de experimento.

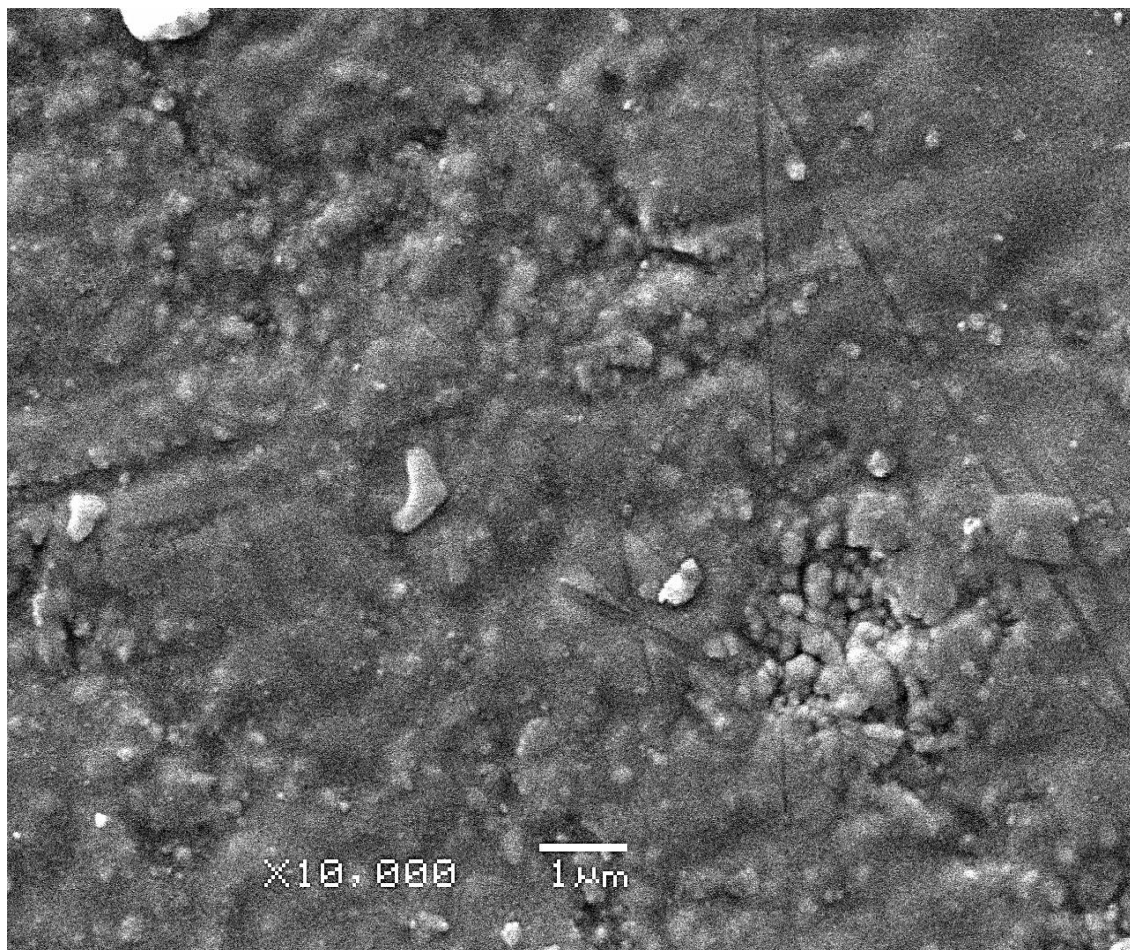


Figura 13. Micrografia do esmalte dentário do grupo experimental Pasta de pinhão submetido à erosão, ao final do 4º dia de experimento.

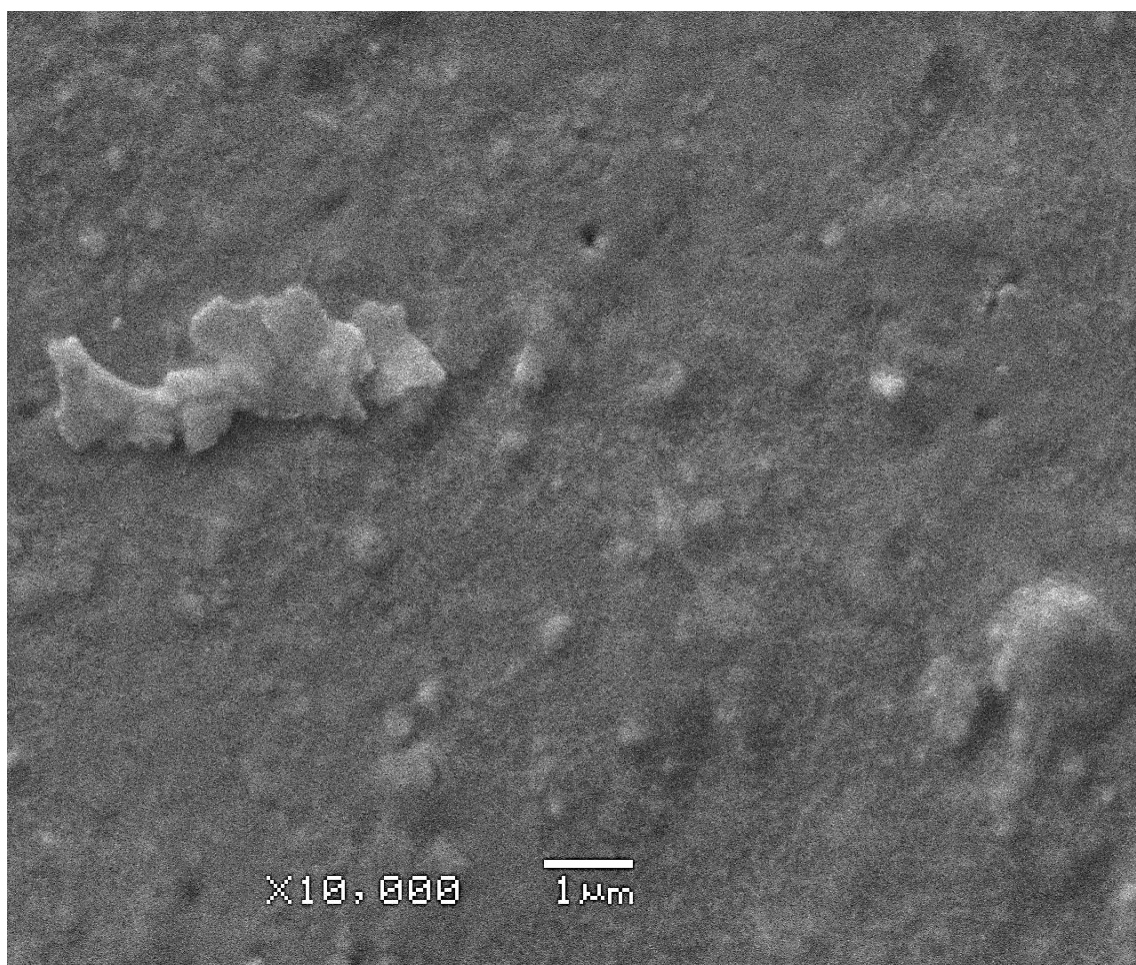
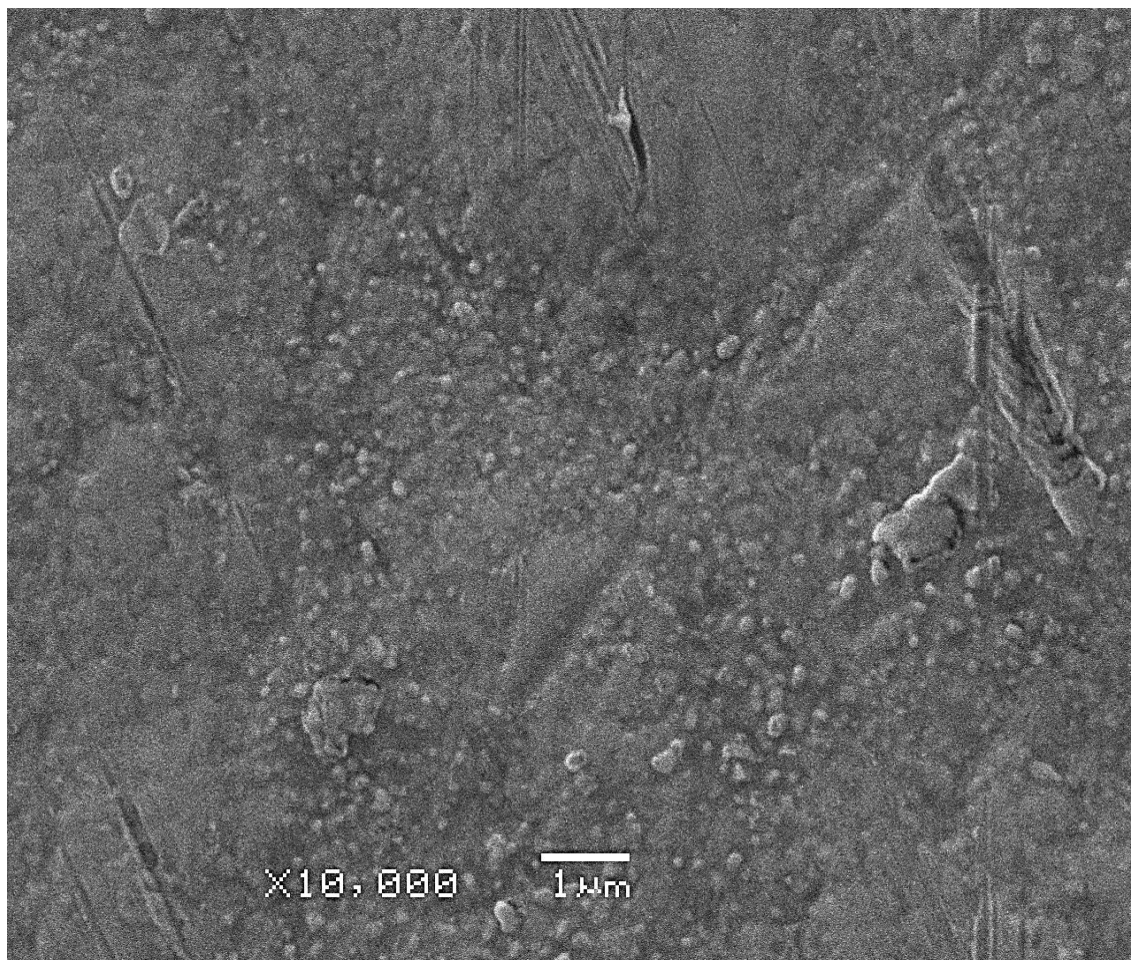


Figura 14. Micrografia do esmalte dentário do grupo experimental Azeite de oliva submetido à erosão, ao final do 4º dia de experimento.



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A erosão dentária tem sido percebida como um problema de saúde bucal de considerável necessidade de atenção e relevância de estudo, sobretudo quando se depara com estudos de prevalência e incidência denunciadores da expansão ou percepção desta alteração em diferentes populações, incluindo crianças e adolescentes.

Com base nos preceitos da Odontologia Preventiva, são de grandiosa importância estudos que visem prevenir e controlar a erosão dentária, na tentativa de contribuir para que se consiga condição bucal satisfatória e capaz de colaborar para que melhores índices de saúde geral.

O uso de produtos naturais e alimentícios na Odontologia vem de encontro à nova perspectiva do setor da saúde que valoriza a interdisciplinaridade e intersetorialidade na tentativa de aglomerar conhecimentos e repercutir benéficamente na qualidade de vida da sociedade.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, A. Z.; IRELAND, A. J.; SANDY, J. R.; BARBOUR, M. E. A Nanomechanical Investigation of Three Putative Anti-Erosion Agents: Remineralisation and Protection against Remineralisation. **Int J Dent**, v. 2012, p. 1-7, 2012.

ANGELIS, R. C. Novos conceitos em Nutrição. **Arq Gastroenterol**, v. 38, n. 4, p. 269-271, 2001.

ASMYHR, O.; GRYTTE, J.; HOLST, D. Occurrence of risk factors for dental erosion in the population of young adults in Norway. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 40, p. 425-431, 2012.

ATTIN, T.; BUCHII, W.; GOLNER, M.; HELWIG, E. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. **Caries Res**, v. 34, n. 1, p. 49-54, 2000.

AZEVEDO, D. T.; ROMANO, J. J. F.; DERCEL, J. R. Effect of Nd:YAG Laser Combined with Fluoride on the Prevention of Primary Tooth Enamel Demineralization. **Braz Dent J**, v. 23, n. 2, p. 104-109, 2012.

BARBOUR, M. E.; SHELLIS, R. P.; PARKER, D. M. Inhibition of hydroxyapatite dissolution by whole milk casein: the effects of pH, concentration, ionic strength, and calcium. **Eur J Oral Sci**, v. 116, p. 473-478, 2008.

BORGES, A. B.; TORRES, C. R. G.; SOUZA, P. A. B.; MAGALHAES, A. C. Bleaching Gels Containing Calcium and Fluoride: Effect on Enamel Erosion Susceptibility. **Int J Dent**, v. 39, p. 1-6, 2012.

BRANCO, C. A.; VALDIVIA, A. D. M. C.; SOARES, P. B. F.; FONSECA, R. B.; FERNANDES NETO, A. J.; SOARES, C. J. Erosão dental: diagnóstico e opções de tratamento. *Rev Odontol UNESP*, v. 37, n. 3, p. 235-242, 2008.

BUZALAF, M. A. R.; HANNAS, A. R.; KATO, M. T. Saliva and dental erosion. **JAppl OralSci**, v. 20, n. 5, p. 493-502, 2012.

CAVALCANTI, A. L.; XAVIER, A. F. C.; SOUTO, R. Q.; OLIVEIRA, M. C. SANTOS, J. A.; VIEIRA, F. In vitro Evaluation of the Erosive Potential of Sports Drinks. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, n. 6, p. 455-458, 2010.

CHINARRO, C. C. R.; ZELADA, G. C. Efecto de los medicamentos pediátricos sobre la microdureza superficial del esmalte de dientes decíduos. **Kiru**, v. 2, n. 2, p. 19-23, 2005.

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

CONSEJO OLEICOLA INTERNACIONAL, 2012. Importaciones por países. Madrid, jul. 2012. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/42-importaciones-por-paises>> Acesso em: 23 ago. 2012.

CORDENUNSI, B. R.; MENEZES, E. W.; GENOVESE, M. I. S. Chemical Composition and Glycemic Index of Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia*) Seeds. **J Agric Food Chem**, v. 52, n. 11, p. 3412-3416, 2004.

CORREA, M. C. C. S. F. LERCO, M. M. CUNHA, M. L. R. S.; HENRY, M. A. C. A. Salivary parameters and teeth erosions in patients with gastroesophageal reflux disease. **Arq Gastroenterol**, v. 49, n. 3, p. 214-218, 2012.

DEERY, C.; WAGER, M. L.; LONGBOTTON, C.; NUGENT, Z. L. The prevalence of dental erosion in a United States and a United Kingdom sample of adolescents. **Pediatr Dent**, v. 22, n. 6, p. 505-510, 2000.

DEMETRIOU, C. A.; HADJSAVVAS, C. A.; LOIZIDOU, M. A. The mediterranean dietary pattern and breast cancer risk in Greek-Cypriot women: a casecontrol study. **BMC Cancer**, v. 12, p. 113, 2012.

EISENBURGER, M.; HUGHES, J. A.; WEST, J. A. Ultrasonication as a method to study enamel demineralisation during acid dissolution. **Caries Res**, v. 34, p. 289-294, 2000.

FERRAZZANO, G. F.; CANTILE, T.; QUARTO, M. Protective effect of yogurt extract on dental enamel demineralization *in vitro*. **Austr Dent**, v. 53, n. 4, p. 314-319, 2008.

FRAUNHOFER, A. J.; ROGERS, M. Dissolution of dental enamel in soft drinks. **Gen Dent**, v. 52, n. 4, p. 308-312, 2004.

FREIRE, M. C. M. ; MACEDO, R. A.; SILVA, W. H. Conhecimentos, atitudes e práticas dos médicos pediatras em relação à saúde bucal. **Pesq Odont. Bras**, v. 14, n.1, p. 39-45, 2000.

FREITAS, M.; ALMEIDA, M. T. R.; ANDRIGHETTI-FROHNERC, C. R. Antiviral activity-guided fractionation from *Araucaria angustifolia*. **J Ethnoph**, v. 126, p. 512-517, 2009.

GANSS, C. How valid are current diagnostic criteria for dental erosion? **Clin Oral Invest**, v. 12, n. 1, S41–S49, 2008.

GANSS, C.; HINCKELDEY, J.; TOLLE, A. Efficacy of the stannous ion and biopolymer in toothpastes on enamel erosion/abrasion. **J Dent**, v. 40, p. 1036-1043, 2012.

GANSS, C.; KLIMEK, J.; Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents: a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 29, n. 4, p. 264-271, 2001.

GEDALIA, I.; IONAT-BENDAT, G. BEN-MOSHED, S. Tooth enamel softening with a cola type drink and with hard cheese or stimulated saliva *in situ*. **J Oral Rehabilitation**, v. 29, n. 4, p. 264-506, 1991.

GUPTA M.; PANDIT, I. K.; SRIVASTAVA, N.; GUGNNI, N. Dental Erosion in Children. **J Oral Health Comm Dent**, v. 3, n. 3, p. 56-61, 2009.

HAGUE, A. Diet may be Associated with the Detection of Cariogenic Bacteria in Children with Early Childhood Caries. **J Evid Based Dent Pract**, v. 11, p. 153-155, 2011.

HEMINGWAY, C. A.; WHITE, A. J.; SHELLIS, R, P. Enamel Erosion in Dietary Acids: Inhibition by Food Proteins in vitro. **Caries Res**, V. 44, P. 525-530, 2010.

IMFELD, T.; Dental erosion. Definition, classification and links. **Eur J Oral Sci**, v. 104, p. 151-155, 1996.

JOHANSSON, A. K.; NORRING, C.; UNELL, L.; JOHANSSON, A. Eating disorders and oral health: a matched case-control study. **Eur J Oral Sci**, v. 120, n. 1, p. 61–69, 2012.

KATO, M. T.; MAGALHAES, A. C. Protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion. **JAppl Oral Sci**, v. 17, n. 6, 2009.

LEWINSTEIN, I.; OFEK, L.; GEDALIA, I. Enamel rehardening by soft cheeses. **Am J Dent**, v. 6, n. 1, p. 1, p. 46-48.

LUSSI, A.; JAEGGI, T. Erosion – diagnosis and risk factors. **Clin Oral Invest**. v. 12, n. 1, S5-S13, 2008.

MARCA, H. S.; GAMBON, D. L. PAAN, A.; BULTHUIS, M. S.; VEEMAN, I. P. I.; MERONGEN, A. V. N. The erosive potential of lollipops. **Int Dent Journal**, v. 59, n. 6, p. 358-362, 2009.

MASSARA, M. L A.; TAVARES, W. L. F.; NORONHA, J. C. A Eficácia do Hidróxido de Cálcio no Tratamento Endodôntico de Decíduos: Seis Anos de Avaliação. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr** v. 12, n. 2p. 155-159, 2012.

MATTA, A. R. C.; IRAKAWA, C. R. K. Efecto del pH del agua de piscine en esmalte de dientes deciduous humanos: estudo con microscopia electrónica de barrido. **Rev Estomatol Hered**, 2004.

MELO, P. A. V.; TRAVASSOS, R. M. C.; DOURADO, A. T. Perfuração radicular cervical: relato de caso clínico. **Rev Odontol Univ Cid São Paulo**, v. 23, n. 3, p. 266-272, 2011.

MOURA, L. F. D.; MOURA, M. S.; TOLEDO, O. A. Knowledge of oral health and practices among mothers attendin a mother-child dental care program. **Ciênc Saúde Coletiva**, v. 12, n. 4, p. 1079-1086, 2007.

MOYNIHAN, P. J. The role of diet and nutrition in the etiology and prevention of oral diseases. **Bull World Health Organ**, v. 83, n. 9, p. 694-699, 2005.

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, 2010.

MURAKAMI, C.; CORREA, M. S. N. P; RODRIGUES, C. R. M. D. Prevalência de erosão dental em crianças e adolescentes de São Paulo. **UFES Rev. Odontol**, v.8, n.1, p. 4-9, 2006.

MURAKAMI, C.; OLIVEIRA, L. B.; SHEIHAM, A.; CORREA, M. S. N. P. HADDAD, S.; BONECKER, M. Risk indicators for erosive tooth wear in brazilian preschool children. **Caries Res**, v. 45, p. 121-129, 2011.

NEVES, B. G.; PIERRO, V. S. S.; MAIA, L. C. Perceptions and attitudes among parents and guardians on the use of pediatric medicines and their cariogenic and erosive potential. **Ciênc e Saúde Coletiva**, v. 12, n. 5, p. 1295-1300, 2007.

OLIVEIRA, A.; VIEIRA-NETO, J. Parâmetros físico-químicos dos primeiros azeites de oliva brasileiros extraídos em Maria da Fé, Minas Gerais. **Sci Agr**, v. 11, n. 3, 2010, 255-261.

PESTANA-BAUER, V. R.; GOURLART DUTRA, F. L.; ZAMBIAZI, R. C. Characterization of olive (Carolea variety) cultivated in the Southern Region of Brazil. **Alim Nutr**, v. 11, n. 3, 2010.

RAMALHO, K. M.; EDUARDO, C. P.; HEUSSEN, N. Protective effect of CO₂ laser (10.6 µm) and fluoride on enamel erosion in vitro. **Lasers Med Sci**, p. 1-8, 2011.

REN, Y.; LIU, X.; FADEL, N. Preventive effects of dentifrice containing 5000 ppm fluoride against dental erosion in situ. **J Dent**, v. 39, p. 672-678, 2011.

RIOS, D.; HONORIO, H. M.; MAGALHAES, A. C. Influence of toothbrushing on enamel softening and abrasive wear of eroded bovine enamel: an *in situ* study. **Braz Oral Res**, v. 20, n. 2, p. 148-154, 2006.

SALEH, N. K.; SALEH, H. A. Azeite atenua eficazmente a osteoporose induzida por ovariectomia em ratos. **BMC Compl Altern Med**, v. 11, p. 10, 2011.

SALES-PERES, S. H. C.; BRIANEZZI, L. F. F.; MARSICANO, J. A.; FORIM, M. R.; SILVA, M. F. G. F.; SALES-PERES, A. Evaluation of an Experimental Gel Containing *Euclea natalensis*: An *In Vitro* Study. **EvidBased ComplementAltern Med**, v. 2012, p. 1-6, 2012.

TAVASSOLI-HOJJATI, S.; HAGHOO, R.; MERHRAN, M. In vitro evaluation of the effect of fluoride gel and varnish on the de-mineralization resistance of enamel. **JIDA**, v. 24, n. 1, p. 28-34, 2012.

TORRES, C. P.; CHINELATTI, M. A.; GOMES-SILVA, J. M.; J. M.; RIZOLI, F. A.; OLIVEIRA, M. A. H. M.; PALMA-DIBB, R. G. Surface and Subsurface Erosion of Primary Enamel by Acid Beverages over Time. **Braz Dent J**, v. 21, n. 4, p. 337-345, 2010.

TRAEBERT, J.; MOREIRA, E. A. M. Transtornos alimentares de ordem

comportamental e seus efeitos sobre a saúde bucal na adolescência. **Pesqui Odontol Bras**, v. 15, n. 4, p. 359-363.

TURSSI, C. P.; VIANNA, L. O. F. P.; HARA, A. T. Counteractive efeito de suspensões de antiácido em erosão dental intrínseca. **Eur J Oral Sci**, v. 120, n. 4, p. 349-352, 2012.

VIANNA, M. I. P.; SANTANA, V. S. Exposição ocupacional a névoas ácidas e alterações bucais; uma revisão. **Cad Saude Publica**, v. 17, n. 6, p. 1335-1344, 2001.

VILLORIA, C. Efecto s a nível dentário em niños asmáticos com uso continuo de corticosteroides inalados o tomados – revision de literatura. **Acta Odontol Venez**, v. 45, n. 1, p. 1-3, 2007.

VISOLI, F.; GALLI, C. Biological properties of olive oil phytochemicals. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 42, p. 209-221, 2002.

WANG, P. H. C.; CHEN, J. H.; LIANG, H. Y. The prevalence of dental erosion and associated risk factors in 12-13-year-old school children in Southern China. **BMC Public Health**, v. 10, p. 478, 2010.

WANG, X.; LUSSI, A. Functional foods ingredients on dental erosion. **Eur J Nutr**, v. 51, S39–S48, 2010.

WHITE, A. J.; JONES, S. B.; BARBOUR, M. E. Inhibition of erosive dissolution by sodium fluoride: Evidence for a dose–response. **J Dent**, v.40, p. 654-660, 2012.

YAMAGUCHI, L. F.; KATO, M. J.; MASCIO, P. D. Biflavonoids from *Araucaria angustifolia* protect against DNA UV-induced damage. **Phytochemistry**, v. 70, n. 5, p. 615-620.

YIP, K. H.K.; SMALES, K. H. K.; KAIDONIS, R. J. The diagnosis and control of

extrinsic acid erosion of tooth substance. **Gen Dent**, v. 51, n. 4, p. 350-353.

ANEXOS

ANEXO A -	APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ.....	73
ANEXO B -	DECLARAÇÃO DE DOAÇÃO DOS DENTES BOVINOS.....	75
ANEXO C -	ANÁLISE DO TEOR DE CÁLCIO NO REFRIGERANTE.....	76
ANEXO D -	ANÁLISE DO TEOR DE CÁLCIO DO AZEITE DE OLIVA...	77
ANEXO E -	ANÁLISE DO TEOR DE CÁLCIO NA PASTA DE PINHÃO.	78
ANEXO F -	NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS NO PERIÓDICO PEDIATRIC DENTISTRY.....	79

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Universidade Federal do Paraná - Setor de Ciências da Saúde/ SCS - UFPR

PROJETO DE PESQUISA

Título: Estudo in vitro da atividade protetora de alimentos à base de yacon e azeite de oliva sobre o esmalte dentário submetido à erosão

Área Temática:

Pesquisador: ERICO BAHENA DA SILVA

Versão: 2

Instituição: Universidade Federal do Paraná - Setor de Ciências da Saúde/ SCS

CAAE: 01822612.5.0000.0102

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 28957

Data da Relatoria: 30/05/2012

Apresentação do Projeto:

A presente proposta de pesquisa "Estudo in vitro da atividade protetora de alimentos à base de yacon e azeite de oliva sobre o esmalte dentário submetido à erosão", tem por objetivo verificar, em laboratório, se produtos à base de yacon e azeite de oliva possam contribuir para a prevenção e/ou tratamento da erosão dental em crianças; com finalidade de estudar e conhecer novas alternativas para a prevenção da erosão dental na infância.

MATERIAL E MÉTODOS:

1ª fase:

- Obtenção dos corpos de prova, suco flor de yacon e azeite de oliva;

- As amostras confeccionadas utilizando a maior parte possível da coroa do dente decíduo (Incisivos superiores deciduos humanos higienizados: 51 ou 61) serão expostas aos seguintes produtos: suco da flor de yacon e azeite de oliva. Esta exposição levará 5 minutos.

Em seguida, será realizado o desafio erosivo, no qual cada espécime previamente com metade do esmalte encoberto com fita adesiva, será submetida a suco de laranja por 5 minutos, duas vezes ao dia (com intervalo de 60 minutos) num período de 5 dias.

Ao final desta fase, os frascos serão lavados em água destilada e logo armazenados em saliva humana por 24 horas, sendo esta renovada periodicamente a cada 24 horas.

2ª fase:

Depois de terminada a parte experimental, os corpos serão lavados em água destilada permanecerão em um recipiente com uma gaze embebida em Timol 0,1% na tampa.

As quantidades de íons cálcio e flúor na solução erosiva inicial e após a sua utilização serão mensuradas a cada desafio erosivo.

O desafio erosivo estabelecido neste estudo é o utilizado por Rehder Neto (2010) e consiste em expor o esmalte dentário a suco de laranja por 5 minutos, duas vezes ao dia num período de 5 dias.

Otensão de saliva humana para armazenamento

A saliva humana utilizada será proveniente de doação de pais/responsáveis por crianças atendidas na Clínica de Odontopediatria da UFPR.

Objetivo da Pesquisa:

Geral

Avaliar efeito protetor de produtos alimentícios frente à erosão dentária em esmalte de dentes deciduos humanos.

Específicos

- Verificar potencial protetor contra a erosão dentária de alguns produtos (suco de flores de yacon e azeite de oliva) a partir da mensuração da variação de íons Cálcio, e Flúor em solução erosiva utilizada durante desafio erosivo;

- Analisar alterações de dureza dentária (microdureza superficial) do esmalte dos dentes após tratamento com produtos-teste (suco de flores de yacon e azeite de oliva) e ataque por agente erosivo;

- Observar alterações na superfície de esmalte, através de microscopia de varredura, antes e após utilização de desafio erosivo e utilização de produtos, tais como: suco de flores de yacon e azeite de oliva.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: O pesquisador não sofrerá nenhum dano devido a execução do projeto. As crianças doadoras de saliva não sofrerão qualquer tipo de coação para a coleta de saliva, pois serão resguardados os princípios de doação voluntária. Além disso, serão tomadas medidas necessárias para que não haja qualquer constrangimento no momento da coleta.
Benefícios: Colaborar com a prática profissional diária de cirurgiões-dentistas, encontrando alternativas para prevenir e proteger pacientes da erosão dentária.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não foi apresentado e ou descrito o local para a coleta da saliva (se adequado, reservado, etc)
Não foi informado a faixa etária das crianças doadoras de saliva

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE PARA OS PAIS E RESPONSÁVEIS ESTÁ ADEQUADO, porém não foi apresentado o TERMO DE ASSENTIMENTO (deverá ser apresentado PARA as CRIANÇAS MAIORES 12 ANOS E MENORES DE 18 ANOS).

Recomendações:

O pesquisador afirma não haver riscos , alertamos que toda pesquisa gera risco mesmo que seja por constrangimento , no ato da coleta da saliva...

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Foi descrito o local para a coleta da saliva.....
 - A faixa etária das crianças doadoras de saliva será de 06 a 11 horas, portanto não necessita do TERMO DE ASSENTIMENTO (PARA as CRIANÇAS MAIORES 12 ANOS E MENORES DE 18 ANOS).
 - O pesquisador incluiu os riscos da pesquisa no TCLE decorrentes do possível desconforto durante a coleta da saliva.
 - O TCLE foi corrigido e direcionado pais que apenas autorizam a participação do filho(a).
 - Substituir a expressão "erosão dental" no TCLE por outro termo de mais fácil mais compreensão.
 - Foi substituído o endereço residencial do pesquisador pelo comercial no TCLE.
- Foram atendidas todas as solicitações ...

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Pendências sanadas. Protocolo aprovado.

CURITIBA, 30 de Maio de 2012

Assinado por:
IDA CRISTINA GUBERT

ANEXO B – DECLARAÇÃO DE DOAÇÃO DE DENTES BOVINOS

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



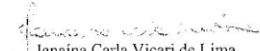

Telefone para contato: 41 3383-8585

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 " **Estudo in vitro da atividade protetora de alimentos a base de yacon e azeite de oliva sobre o esmalte dentário submetido à erosão** " do Curso de Pós-graduação (Mestrado) em Odontologia da Universidade Federal do Paraná. Afirmando 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 09 de março de 2012.

Nome: RICARDO JOSÉ DI PRETOROFunção no Frigorífico Argus Ltda: GERENTE COMERCIALAssinatura: 
Ricardo José Di Pretoro
Gerente Comercial

ANEXO C – ANÁLISE DO TEOR DE CÁLCIO NO REFRIGERANTE

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	01/01
	SETOR DE TECNOLOGIA CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS CENTRO POLITECNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3268-1647 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ	 39 ANOS, GARANTINDO QUALIDADE!
CERTIFICADO DE ANÁLISE		135601
PRODUTO: REFRIGERANTE – COCA-COLA		
FABRICANTE/PRODUTOR: Não consta		
SOLICITANTE: Érico Bahena		
ENDEREÇO: Rua Coronel Dulcídio, 1.090 apto 161 – Batel – Curitiba/PR		
PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº: 958 – 19/09/12		
AMOSTRA: 3223/12		
Informações da amostra		
Acondicionadas em:	01 frasco plástico transparente	Temperatura: ambiente
Peso/Volume aproximado de:	100 mL	Responsável pela coleta: solicitante
RESULTADOS		
PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO		
	Unidade de medida	Resultado
Cálcio	mg/L	24,03
REFERÊNCIA CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. <i>Análise de Alimentos e Produtos Orgânicos em ICP OES</i> . PE-LE-033/R01. Curitiba, 2012. 14 p.		
Dados do ensaio: Início: 25/09/12 Término: 02/10/12 Executora: Louize I. Cactano.		
/s		
Curitiba, 02 de outubro de 2012		
 Janaína Carla Vicari de Lima Gerente Técnica CRQ 09200834 – 9ª região	 Jackeline 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.		

ANEXO D – ANÁLISE DO TEOR DE CÁLCIO NO AZEITE DE OLIVA



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) 3356-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3256-1647
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

01/01

CERTIFICADO DE ANÁLISE 135264

PRODUTO: AZEITE DE OLIVA
FABRICANTE/PRODUTOR: Não consta
SOLICITANTE: Érico Bahena
ENDEREÇO: Rua Coronel Dulcídio, 1.090 apto 161 – Batel – Curitiba/PR
PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA N°: 821 – 13/08/12
AMOSTRA: 2784/12

Informações da amostra			
Acondicionada em:	01 frasco plástico transparente	Temperatura:	ambiente
Peso/Volume aproximado de:	80 mL	Responsável pela coleta:	Solicitante

RESULTADOS

PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO

	Unidade de medida	Resultado
Cálcio	mg/L	16,57

REFERÊNCIA

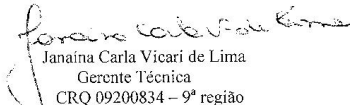
CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. *Análise de Alimentos e Produtos Orgânicos em ICP OES*. PE-LE-033/R01. Curitiba, 2012. 14 p.

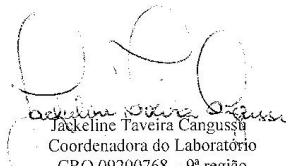
Dados do ensaio:

Início: 15/08/12 **Término:** 23/08/12
Executora: Louize Caetano.

Curitiba, 27 de agosto de 2012

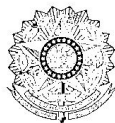
/S


 Janaina Carla Vicari de Lima
 Gerente Técnica
 CRQ 09200834 – 9ª região


 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.

ANEXO E – ANÁLISE DO TEOR DE CÁLCIO NA PASTA DE PINHÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 SETOR DE TECNOLOGIA
CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS
 CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO R - SALA PPD
 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3206-1647
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

01/01

CERTIFICADO DE ANÁLISE 135263

PRODUTO: PASTA DE PINHÃO
FABRICANTE/PRODUTOR: Não consta
SOLICITANTE: Érico Bahena
ENDEREÇO: Rua Coronel Dulcídio, 1.090 apto 161 – Batel – Curitiba/PR
PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA N°: 821 – 13/08/12
AMOSTRA: 2783/12

Informações da amostra			
Acondicionada em:	01 frasco plástico transparente	Temperatura:	ambiente
Peso/Volume aproximado de:	170 gramas	Responsável pela coleta:	Solicitante

RESULTADOS

PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO

	Unidade de medida	Resultado
Cálcio	mg/kg	68,23

REFERÊNCIA

CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. *Análise de Alimentos e Produtos Orgânicos em ICP OES*. PE-LE-033/R01. Curitiba, 2012. 14 p.

Dados do ensaio:

Início: 15/08/12 Término: 23/08/12
 Executora: Louize Cactano.

Curitiba, 27 de agosto de 2012

/S

Janaina Carla Vicari de Lima
 Janaina Carla Vicari de Lima
 Gerente Técnica
 CRQ 09200834 – 9ª região

Jackeline Taveira Cangussi
 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.

ANEXO F – NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS NO PERIÓDICO PEDIATRIC DENTISTRY

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS



Introduction

Pediatric Dentistry [or *Journal of Dentistry for Children*], a journal of the American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD), is published bimonthly [or 3 times per year] to promote practice, education, and research specifically related to the specialty of pediatric dentistry. Manuscripts are accepted for consideration if neither the article, nor any part of its essential substance, tables, or figures has been or will be published in another journal or is simultaneously submitted to another journal. Published papers do not necessarily represent the views of the editor, the AAPD Communications Department, or the American Academy of Pediatric Dentistry.

Types of articles

The journal publishes full-length scientific articles not exceeding 8 printed pages (20 double-spaced 8 1/2x11-in document pages; font no smaller than 11-point Times New Roman or Arial); and clinical articles and case reports not exceeding 4 printed pages (10 double-spaced 8 1/2x11-in document pages).

Authors are encouraged to review these Instructions carefully prior to submitting their manuscripts.

Submission of manuscripts

Submission of manuscripts to *Pediatric Dentistry* [*Journal of Dentistry for Children*] occurs online through the ScholarOne Manuscript Central Web site at <http://mc.manuscriptcentral.com/peddent>, [<http://mc.manuscriptcentral.com/jdentchild>]. No hard copy submissions will be accepted. Submitting authors must set up an online account and provide all information requested during the online submission process, including: corresponding author's contact information; names, titles (such as "associate professor," "chairman,"), academic degrees (such as "DMD," "MS," "PhD,"), and affiliations of all authors; short (running) title; and 3 to 5 keywords. Honorary designations should not be included (eg, "FRCS," "FICD," "Diplomate, ABPD," etc). Authors should ensure that the keywords appear in the U.S. National Library of Medicine Medical Subject Headings, or "MeSH" (found at "<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>"). This information should also appear on the first page of the UNBLINDED version of the manuscript but should be removed from BLINDED version along with any references to names, authors, or institutions. Both an UNBLINDED and BLINDED version of the manuscript must be uploaded. Tables should appear at the end of the main document, while photos, photomicrographs and graphs should be submitted as separate files (.jpg or .tif format).

Prior to submission, the corresponding author must guarantee that the article has not been published, and is not being considered for publication elsewhere. Submission of

multi-authored manuscripts implies participation of each of the authors in the preparation of the paper. Only individuals who have made a significant contribution to the study or manuscript should be listed as authors. The efforts of others should be noted in the *Acknowledgments* section at the end of the manuscript. The corresponding author should submit the following statement: "All authors have made substantive contribution to this study and/or manuscript, and all have reviewed the final paper prior to its submission."

Authors (including authors of letters to the editor) are responsible for disclosing all financial and personal relationships that might bias their work. If such conflicts exist, the authors must provide additional detail in the appropriate text box during online submission. Funding sources for the work being submitted must be disclosed in the *Acknowledgments* section of the manuscript.

Manuscript organization

Scientific articles should be organized under the following headings: *Abstract*, *Introduction*, *Methods*, *Results*, *Discussion*, *Conclusions*, *Acknowledgments*, and *References*. Titles of all papers should not exceed 15 words. The *Introduction* section should include only pertinent references. When included for a study, the *Methods* section should be sufficiently detailed to replicate the study. The *Results* section should include only results and not discussion of the data. The *Discussion* section should discuss the results, but not repeat them. The *Conclusions* section should consist of succinct, numbered statements that are supported by the results of the study. They should not repeat the *Results* section. Clinical articles and case reports should include: brief unstructured *Abstract*, brief *Introduction*, *Description of Case or Clinical Technique*, *Discussion* (if any), *Acknowledgments* (if any), and *References* (if any). Literature reviews should include a brief unstructured *Abstract*, *Introduction*, the *Review of the Literature* with appropriate subheadings, *Discussion*, *Conclusions*, *Acknowledgments*, and *References*.

Abstracts

All submissions must include an abstract. Abstracts should be brief providing the reader with a concise but complete summary of the paper. Generalizations such as "methods were described" should not be used. Scientific articles should have a structured abstract of approximately 200 words with the following sections: *Purpose*, *Methods*, *Results*, and *Conclusions*. Clinical articles, case reports, and literature reviews should have an unstructured abstract consisting of not more than 150 words.

Editorial style

Papers will be published in English, using American spelling. Manuscripts must be submitted with proper English

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS



grammar, syntax, and spelling. Authors should express their own findings in the past tense and use the present tense where reference is made to existing knowledge, or where the author is stating what is known or concluded. Footnotes should be avoided and their content incorporated into the text. Numbers should be represented as digits; only numbers beginning a sentence should be spelled out. The editors reserve the right to revise the wording of papers in the interest of the journal's standards of clarity and conciseness.

Units of measure: Authors should express all quantitative values in the International System of Units (SI units) unless reporting English units from a cited reference. Figures and tables should use SI units, with any necessary conversion factors given in legends or footnotes. All numbers should be expressed as digits, and percent values should be expressed as whole numbers. Laboratory data values should be rounded to the number of digits that reflects the precision of the results and the sensitivity of the measurement procedure.

Statistical tests: The results of all statistical comparisons should be reported to include the statistical test value and the associated *P* value and confidence interval, if appropriate. If $P \geq .01$, the actual value for *P* should be expressed to 2 digits, whether or not *P* is significant, unless rounding a significant *P* value expressed to 3 digits would make it nonsignificant (eg, *P*-.049, not *P*-.05). If $P < .01$, it should be expressed to 3 digits (eg, *P*-.003, not *P*<.05). Actual *P* values should be expressed unless *P*<.001, in which case they should be so designated. Nonsignificant values should not be expressed as "NS." For confidence intervals, the number of digits should equal the number of digits in the point estimate. For example, for an odds ratio of 3.56, the 95% confidence interval should be reported as "1.23, 5.67," not as "1.234, 5.678."

Tooth names: The complete names of individual teeth should be given in full in the text of articles using the following convention: [primary/permanent] [maxillary/mandibular] [right/left] [central/lateral or first/second/third] [tooth type]. Examples: "primary maxillary right first molar," "permanent mandibular first molars," but "mandibular right second premolar." In tables these names may be abbreviated by the Universal system (A-T for primary teeth, 1-32 for permanent teeth).

Commercially-produced Materials: Any mention of commercially produced materials, instruments, devices, software, etc, must be followed by the name of the manufacturer and the manufacturer's location in parentheses. Example: "... in an Excel spreadsheet (Microsoft, Inc, Redmond, Wash)."

Abbreviations: Abbreviations should be used to make manuscripts more concise. The first time an abbreviation appears, it should be placed in parentheses following the

full spelling of the term (eg, "...permanent first molars (PFMs)..."). In manuscripts using more than three abbreviations, authors should use bold typeface for the first appearance of each abbreviation.

Permissions

For materials taken from other sources, a written statement from the authors and publisher giving permission to *Pediatric Dentistry* for reproduction must be provided. Waivers and statements of informed consent must accompany the manuscript when it is submitted for review. Waivers should accompany any photograph showing a human subject unless the subject's features are blocked enough to prevent identification.

Human and Animal Subjects

Manuscripts of research involving human or animal subjects must state in the Methods section that the study was approved by an Institutional Review Board (IRB) or other institutional research ethics committee using language similar to "...this institutionally approved study..." IRB approval for human subjects must also be obtained if the study involved the use of tissues from humans (eg, extracted teeth), or work produced by humans (eg, systematic analyses and meta-analyses). When human subjects have been used, the text should indicate that informed consent was obtained from all participating adult subjects, and parents or legal guardians of minors or incapacitated adults. If required by the authors' institution, informed assent must be obtained from participating children at or above the age specified by the institution. The cover letter for the manuscript must contain a statement similar to the following: "The procedures, possible discomforts or risks, as well as possible benefits were explained fully to the human subjects involved, and their informed consent was obtained prior to the investigation."

Figures

Graphics/photos should be provided at a minimum resolution of 600 dpi as a .tif or .jpg file. Photomicrographs must include a scale labeled with a convenient unit of length (eg, 50 μ m). Figures should be numbered in Arabic numerals in the order of the first citation in the text. Legends for each figure must be printed on a separate page. Include a key for symbols or letters used in the figures. Figures should be save as a separate file.

Figure legends should be understandable without reference to the text. A key for any symbols or letters used in the figure should be included. Abbreviations should be explained in a footnote to the figure. If illustrations, tables, or other excerpts are included from copyrighted works the author is responsible for obtaining written permission from

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS



the copyright holder prior to submitting the final version of the paper. Full credit must be given to such sources with a superscript reference citation in the figure legend. Reference citations in figure legends or captions should follow numerically the reference number in the text immediately preceding mention of the figure. Figures take up additional page space and should be limited to those that add value to the text.

Tables

Tables should be double-spaced, appear on separate pages, and should be titled and numbered in Arabic numerals in the order of the first citation in the text. Short headings should appear at the top of each column. Explanatory matter should be placed in captions, not in the title. For footnotes, use the following symbols in this sequence: *, †, ‡, §. Tables should be understandable without alluding to the text. Due to space limitations, only tables adding value to the text should be included.

Acknowledgments

Funding and other sources of support must be disclosed in the *Acknowledgments* section. Personal acknowledgments should be limited to appropriate professionals who have contributed intellectually to the paper but whose contribution does not justify authorship.

References

References should be relevant to the material presented and identified by superscript Arabic numerals in the text. A list of all references should appear at the end of the paper in numeric order as they are cited in the text. Journal abbreviations are those used by Index Medicus. Reference style is that used by the Journal of the American Dental Association (http://www.ada.org/prof/resources/pubs/jada/author/auth_general.asp#style). The following are sample references:

Journals: Bogert TR, Garcia-Godoy E. Effect of prophylaxis agents on the shear bond strength of a fissure sealant. *Pediatr Dent* 1992;14:50-1.

For journals, list all authors when there are 6 or fewer; when there are 7 or more, list the first 3, then "et al." Page numbers should be elided where possible. For example: 12-8, 347-51, 191-5.

Books: Bixler D. Genetic aspects of dental anomalies. In: McDonald RE, Avery DR, eds. *Dentistry for the Child and Adolescent*. 5th ed. Philadelphia: CV Mosby Co; 1987:90-116.

Article, report, or monograph issued by a committee, institution, society, or government agency: Medicine for the public: Women's health research. Bethesda, Md.: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health; 2001. DHHHS publication 02-4971.

World Wide Web: Centers for Disease Control and Prevention. Water Fluoridation. Available at: "<http://www.cdc.gov/oralhealth/waterfluoridation/index.htm>". Accessed June 18, 2006.

Authors citing material from the World Wide Web should use WebCite (www.webcitation.org), a free service for authors who wish to archive their Web references to ensure that cited Web material will remain available to readers in the future. Web citations archived on WebCite will not disappear in the future.

Authors should provide direct references to original sources whenever possible. Avoid using abstracts as references. Avoid references to papers accepted but not yet published, if possible. If such a citation is necessary, these papers should be cited as being "in press," and verification that they have been accepted for publication must be provided. Where possible, references of easily accessible material are preferable to dissertations, theses, and other unpublished documents. Authors should avoid citing "personal communication" unless it provides essential information not available from a public source. In those cases, the name of the individual providing the information and the date of communication should be provided in parentheses in the text and not as a numbered reference. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication; this permission should be submitted as a supplementary document at the time of manuscript submission.

Authors should verify the accuracy of all references and are responsible for ensuring that no cited reference contains material that was retracted or found to be in error subsequent to its publication.

Copyright

All authors must agree to the terms of copyright transfer as indicated during the online manuscript submission process. The American Academy of Pediatric Dentistry owns copyright of any contribution. The AAPD and its licensees have the right to use, reproduce, transmit, derivate, publish, and distribute the contribution, in the journal or otherwise, in any form or medium. Authors will not use or authorize the use of the contribution without the AAPD's written consent, except as may be allowed by US fair use law.