KÉSSIA SUÊNIA FIDELIS DE MESQUITA

**EFEITO DE ALIMENTOS E BEBIDAS NO ESMALTE DENTAL
DECÍDUO APÓS DESAFIO EROSIVO COM ÁCIDO
CLORÍDRICO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Grau de Mestre em Ciências junto ao Programa de Odontopediatria com Área de Concentração em Odontopediatria.

Orientadora: Profa. Dra. Mônica Campos Serra

RIBEIRÃO PRETO

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Mesquita, Késsia Suênia Fidelis

Efeito de alimentos e bebidas no esmalte dental decíduo após desafio erosivo com ácido clorídrico. Ribeirão Preto, 2012.

p. 91 : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP - Área de concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Serra, Mônica Campos

1. Erosão dentária. 2. Esmalte. 3. Dente decíduo. 4. Ácido clorídrico. 5. Alimentos. 6. Bebidas

KÉSSIA SUÊNIA FIDELIS DE MESQUITA

**EFEITO DE ALIMENTOS E BEBIDAS NO ESMALTE DENTAL DECÍDUO
APÓS DESAFIO EROSIVO COM ÁCIDO CLORÍDRICO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Grau de Mestre em Ciências.

Data da defesa: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Dr(a).: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

KÉSSIA SUÊNIA FIDELIS DE MESQUITA

Nascimento	26/05/1983 – Maceió/AL
Filiação	Pedro Pinto de Mesquita Filho Claudia Maria Fidelis de Mesquita
2004-2009	Curso de Graduação em Odontologia Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alagoas – FOUFAL/UFAL
2009-2011	Curso de Pós-Graduação em Odontologia (Especialização). Área de concentração: Odontopediatria Associação Odontológica de Ribeirão Preto – AORP
2009-2012	Curso de Pós-Graduação em Odontologia (Mestrado). Área de concentração: Odontopediatria Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP/USP

DEDICATÓRIA

A Deus...

Pela graça da vida...

Pela oportunidade que me é dada todos os dias para ser feliz...

Pela família que me proporcionou ter...

Pelos amigos sinceros que me presenteou...

Pelo caminho saudável que me guia...

Pelas conquistas alcançadas...

E pelas vitórias que estão por vir!

*"Mais importante que o lugar que ocupas em mim, é a intensidade
de Tua presença em tudo que faço." Ana Cláudia Soranzo*

*Aos meus queridos pais, **Claudia Maria Fidelis de Mesquita e Pedro
Pinto de Mesquita Filho...***

Pelo amor incondicional...

Por acreditarem nos meus sonhos e me incentivarem a lutar por eles!

*Imagino o quanto deve ser difícil superar o vazio deixado pelos
filhos ao saírem de casa, mas também imagino o quão satisfatório
deve ser vê-los conquistando seu espaço... Obrigada por todo amor e
dedicação!*

Às minhas irmãs Keyssse Suelen Fidelis de Mesquita e

Kyssia Suedna Fidelis de Mesquita...

Pelo carinho, amizade, cumplicidade, incentivo...

Pelos momentos compartilhados e por acreditarem nos meus ideais!

Aos meus avós, Luzenita Fidelis de Lima e Cícero Carlos de Lima...

*Obrigada pela experiência de vida compartilhada e pelo amor
incondicional. Amo demais vocês!*

Ao meu noivo Aryel Alves Guimarães...

Por tornar os meus dias mais completos...

Por me fazer tão feliz com seu amor e carinho...

Por sua dedicação, respeito, incentivo, paciência e compreensão...

*Obrigada pela força, pelos abraços de conforto e por entender a
distância física que ainda nos separa! Amo você!!!*

“A cada passo, um desafio...

A cada desafio, uma vitória...

A cada vitória, um novo passo rumo ao sucesso!”

Michele Bertoletti

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha orientadora Professora Dra. Mônica Campos Serra, pelos ensinamentos, acolhimento, dedicação e confiança. Obrigada pelo conhecimento científico compartilhado! Orgulho-me em tê-la como orientadora. Com certeza levarei sempre comigo seu exemplo de ética profissional!

À minha coorientadora Professora Dra. Maria Cristina Borsatto, por sua alegria constante e sua disposição em querer sempre ajudar. Obrigada por sua amizade, pela forma tão especial que me acolhe e por ter me adotado assim que cheguei à FORP. Você tem eternamente minha admiração e carinho!

Ao Professor Dr. Milton Fernando de Andrade Silva e ao Professor Dr. Natanael Barbosa dos Santos por terem me proporcionado a experiência da pesquisa científica e me incentivado a buscar esse caminho!

AGRADECIMENTOS

*À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do atual diretor **Prof. Dr. Valdemar Mallet da Rocha Barros**.*

*À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da Coordenadora **Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva** e do Vice-Coordenador **Prof. Dr. Paulo Nelson-Filho**.*

*Aos Professores do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **Profa. Dra. Aldevina Campos de Freitas**, **Profa. Dra. Alexandra Mussolino de Queiroz**, **Profa. Dra. Kranya Victória Diaz Serrano**, **Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva**, **Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto**, **Prof. Dr. Paulo Nelson-Filho**, **Profa. Dra. Raquel Assed Bezerra da Silva**, **Profa. Dra. Sada Assed**, **Prof. Dr. Adilson Thomazinho**, **Prof. Dr. Fábio Lourenço Romano**, **Prof. Dr. José Tarcísio Lima Ferreira**, **Profa. Dra. Maria Bernadete Sasso Stuani** e **Profa. Dra. Mírian Aiko Nakane Matsumoto**.*

***Profa. Dra. Aldevina Campos de Freitas**, sua dedicação e amor aos pacientes são admiráveis. Obrigada por compartilhar sua sabedoria!*

Profa. Dra. Alexandra Mussolino de Queiroz, obrigada pelo acolhimento e pela forma carinhosa que sempre me recebeu. Suas palavras de incentivo foram essenciais ao longo desta caminhada!

Profa. Dra. Andriara De Rossi, obrigada pela sua amizade sincera, carinho, incentivo e parceria ao longo do curso. Agradeço também pelas palavras de incentivo e por acreditar no meu potencial!

Profa. Dra. Kranya Victória Diaz Serrano, obrigada pela agradável convivência, por sua alegria e pela sua disposição em querer sempre ajudar!

Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva, obrigada pela oportunidade que me foi dada em poder fazer parte do programa de mestrado em odontopediatria da FORP. Tenho plena convicção do amadurecimento profissional que estou trilhando ao lado de vocês!

Prof. Dr. Paulo Nelson-Filho, obrigada por seus ensinamentos, dedicação, apoio e atenção no decorrer do curso. Você é um professor exemplar e espero poder repassar tudo que venho aprendendo ao seu lado!

Profa. Dra. Raquel Assed Bezerra da Silva, obrigada pela sua amizade, carinho, cumplicidade e ajuda nos momentos que precisei. Espero que ainda possamos compartilhar muitos momentos juntas!

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Benedita Viana Rodrigues, Carmo Eurípedes Terra Barreto, Dra. Carolina Paes Torres Montavani, Dorival Gaspar, Fátima Jacinto Daniel, Fátima Aparecida Rizoli, Filomena Lelli Placciti, Dr. Francisco Wanderley Garcia de Paula e Silva, José Aparecido Neves do Nascimento, Marco Antônio dos Santos, Matheus Morelli Zanela, Micheli Cristina Leite Rovanholo, Nilza Letícia Magalhães, Renata Aparecida Fernandes e Vera Ribeiro do Nascimento pela paciência e agradável convivência.

Micheli Cristina Leite Rovanholo, obrigada pela simpatia que sempre me recebeu, por sempre estar à disposição em ajudar e por ser uma pessoa iluminada!

Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Isabel Cristina Galino Sola e Regiane Cristina Moi Sacilotto, pela atenção dada durante o período do curso.

Aos amigos da Pós-Graduação, Ana Caroline Fumes, Ana Zilda Nazar Bergamo, Bárbara Jarreta, Camila Scatena, Cíntia Guimarães de Almeida, Cláudia de Castro Rizzi Maia, Cristhiane Ristum Bagattin Rossi, Cristina Bueno Brandão, Daniele Luca Longo, Danielle Torres Azevedo, Danielly Cunha Araújo Ferreira, Denise de Souza Matos, Driely Barreiros, Elaine Machado Pingueiro, Fabrício Kitazono de Carvalho, Fernanda Regina Ribeiro Santos, Francisco Carlos Rehder Neto, Giselle de Angelo Leite Carbonaro Guerreiro, Iliana Ferraz Sabbattini, Iria de Fátima Lopes Peixoto Dutra, Karina Alessandra Michelão Grecca Pieroni, Katharina Morant Holanda de Oliveira, Kleber Cortês Bonifacio, Larissa Moreira Spinola de Castro Raucchi, Larissa Nogueira Soares Ribeiro, Leonardo Biscaro Pereira, Ligia Maria Napolitano Gonçalves, Marcela C. D. Andruccioli, Marcela Martin Del Campo Fierro, Mariana Alencar Nemezio, Marília Pacífico Lucisano, Marina Fernandes de Sena, Maristela Soares Swerts Pereira, Marta Maria Martins Giamatei Contente, Maya Fernanda Manfrin Arnez, Milena Silva Campos, Priscilla Coutinho Romualdo, Regina Aparecida Segatto Saiani, Rodrigo Alexandre Valério, Rodrigo Teixeira Macri, Silvana Aparecida Fernandes Polizeli, Soraya Cheier Dib Gonçalves, Tatiana dos Santos Ciccone de Faria e Walter Raucchi Neto, pelos momentos compartilhados.

Camila Scatena, obrigada pela atenção e ajuda no decorrer da execução deste trabalho. Você é uma mulher guerreira, um exemplo de força e superação!

Cíntia Guimarães de Almeida, meu carinho e admiração por você aumentam a cada dia. Você é uma pessoa iluminada e agradeço a Deus por colocar pessoas como você no meu caminho. Tenha certeza que suas palavras sempre sensatas e carinhosas, sua doçura e afeto me tornaram mais forte durante esta caminhada. Obrigada por ser uma pessoa tão especial!

Marília Pacífico Lucisano, nem sei como agradecer essa amizade tão pura e sincera. Você e sua família me acolheram como se eu fosse parte dela. Sinto-me honrada em receber um carinho tão especial vindo de vocês. Agradeço inclusive em nome da minha família, por todo acolhimento proporcionado. Com certeza meus dias foram mais felizes e leves com sua amizade. Obrigada por ter sorrido e chorado junto comigo, pelo ombro amigo e pelas palavras sempre carinhosas! Má, você é muito especial!

Marina Fernandes de Sena, obrigada pela amizade, companheirismo e agradável convívio! Nossas tardes tomando cappuccino e nossas gargalhadas serão sempre lembradas.

À amiga Paula Dariana Fernandes Ferreira, por tudo que fez por mim! Qualquer agradecimento será pouco diante de todo acolhimento. Obrigada por sempre ter cuidado de mim como se fosse uma irmã, por todos os favores, caronas, almoços e por sua alegria constante! Agradeço também, em nome da minha família, por ter encontrado um anjinho por aqui. Dari, você é uma amiga mais que especial!

*À amiga **Cristiane Tomaz Rocha**, pela amizade construída, pelo companheirismo, por todas as gargalhadas e pela confiança depositada em mim. Saudades Ju!*

*À amiga conterrânea **Cristine D'almeida Borges**, pela amizade construída, pelos agradáveis momentos compartilhados, pelo bom humor e por me fazer sentir tão próxima de casa.*

*À **Patrícia Marchi**, técnica do laboratório de Dentística, pelo carinho, amizade, gargalhadas e auxílio durante a execução do experimento. Paty, muito obrigada!*

*Aos amigos do Departamento de Odontologia Restauradora **Ana Bárbara, César Lepri, Daniel Galafassi, Júlia, Juliana Jendiroba Faraoni Romano, Renata Siqueira Scatolin, Taísa Penazzo Lepri.***

*Ao **Prof. Dr. Antônio Luiz Rodrigues Júnior**, pelo auxílio, disponibilidade e orientação da análise estatística dos resultados.*

*À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.*

*À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alagoas – **FOUFAL** e aos meus eternos **mestres**, por terem feito parte do meu processo de aprendizagem.*

As minhas amigas de Maceió Katherine Maria de Araújo Veras, Joanna Manoela Castello Branco Evaristo de Paiva, Lanusia Nunes Almeida, Liliane Santana Araújo, Mayara Costa Neves Rocha, Milene Reis de Santana, Renata de Melo Franco, Suzana Caroline Vieira de Menezes e Viviane da Hora Dantas, pelo incentivo e por sempre torcerem por mim!

Katherine Maria de Araújo Veras, você é um exemplo de garra e determinação. Obrigada pela sua fiel amizade!

Liliane Santana Araújo, Mayara Costa Neves Rocha, Milene Reis de Santana e Viviane da Hora Dantas, obrigada pelos momentos agradáveis, pelas gargalhadas e torcida sempre!

Renata de Melo Franco, agradeço a Deus por ter uma amiga tão iluminada em minha vida. Admiro muito você!

Suzana Caroline Vieira de Menezes, o que seria de mim se não existisse sua amizade ao longo dos meus dias? Obrigada por estar sempre presente em minha vida, compartilhando as derrotas e vitórias e por ser essa amiga-irmã tão especial. Obrigada por ter ouvido minhas angústias, minhas alegrias e por ter me incentivado a sempre olhar para frente!

“Sou um pouco de todos que conheci,

Um pouco dos lugares que fui,

Um pouco das saudades que deixei,

Sou muito das coisas que gostei.

Entre umas e outras errei.

Entre muitas e outras conquistei!”

Ramon Hasman

MESQUITA, KSF. **Efeito de alimentos e bebidas no esmalte dental decíduo após desafio erosivo com ácido clorídrico**. 91p. [dissertação]. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2012.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito, *in vitro*, de alguns alimentos e bebidas industrializados oferecidos como lanche às crianças, sobre o esmalte dental decíduo, após simulação de desafio erosivo intrínseco em função do tempo de exposição. A coroa de cento e dois incisivos decíduos hígidos foram fixadas em bases acrílicas, expondo-se uma área de 2mm de diâmetro da superfície vestibular. Os espécimes foram submetidos a um desafio erosivo com ácido clorídrico e divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=17): Leite Achocolatado Toddynho (Pepsico) - controle negativo, Petit Suisse Danoninho (Danone), iogurte de Morango (Vigor), Papinha de Maçã (Nestlé), Leite Fermentado Yakult (Yakult) e Suco de Laranja Caseira com Gominhos (del Valle) - controle positivo. Os ciclos de imersão nos produtos teste foram realizados durante 28 dias, 2x/dia, intercalados com saliva artificial. Medidas de microdureza superficial do esmalte foram realizadas inicialmente (*baseline*), após imersão em ácido clorídrico e com 7, 14, 21 e 28 dias de experimento. A Análise de Variância (ANOVA) a dois critérios, seguida pela decomposição da soma dos quadrados e pelo teste de Tukey apresentou diferença significativa a interação entre *Lanches* e *Tempo* (p= 0.0000). O suco de laranja foi o produto que resultou em maior perda mineral do esmalte aos 28 dias. Nenhum dos lanches utilizados foi capaz de recuperar a microdureza do esmalte dental decíduo ao longo do tempo final de exposição (28 dias). A análise qualitativa por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada ao término dos 28 dias de exposição aos produtos, observando-se destruição generalizada dos prismas de esmalte dos dentes decíduos.

Palavras-chave: erosão dentária, esmalte, dente decíduo, ácido clorídrico, alimentos, bebidas.

MESQUITA, KSF. **Effect of food and beverages in deciduous tooth enamel after erosive challenge with hydrochloric acid**. 91p. [dissertation]. Ribeirão Preto: FORP – University of São Paulo, 2012.

The objective of this study was to evaluate the effect *in vitro* of some industrialized foods and beverages offered to children as a snack, in enamel deciduous teeth after simulation of erosive intrinsic challenge inherent function of time of exposure. The crowns of one hundred and two deciduous incisor teeth were fixed on acrylic bases, setting up an area of 2 mm diameter of the buccal surface. The specimens were subjected to an erosive challenge with hydrochloric acid and randomly divided into 6 groups (n=17): Chocolate Milk Toddynho (Pepsico) - negative control, Petit Suisse Danoninho (Danone), Strawberry Yogurt (Vigor), apple pap (Nestlé), Fermented Milk Yakult (Yakult) and Orange Juice Home Squeezed Style (del Valle) - positive control. The cycles of immersion in the test products were made during 28 days, 2x/day, interspersed with artificial saliva. Measurements of microhardness of enamel were performed initially (baseline), after immersion in hydrochloric acid and 7, 14, 21 and 28 days of experiment. A two-away ANOVA according split-plot design, followed by decomposition of the sum of the squares and the Tukey test, revealed significant effect for interaction between Time and Snacks ($p = 0.0000$). The orange juice was the product that resulted in greater mineral loss of enamel after 28 days. None of the snacks used was able to recover the microhardness of the deciduous tooth enamel over time end of exposure (28 days). Qualitative analysis by Scanning Electron Microscopy was performed at the end of 28 days of exposure to products, noting the widespread destruction of enamel rods of deciduous teeth.

Keywords: dental erosion, enamel, deciduous tooth, hydrochloric acid, food, drink.

SUMÁRIO

RESUMO	16
ABSTRACT.....	17
INTRODUÇÃO	21
PROPOSIÇÃO	25
MATERIAL E MÉTODOS	27
<i>ASPECTOS ÉTICOS.....</i>	<i>28</i>
<i>DELINEAMENTO EXPERIMENTAL</i>	<i>28</i>
<i>SELEÇÃO DE DENTES E PREPARO DOS ESPÉCIMES.....</i>	<i>28</i>
<i>COMPOSIÇÃO DOS ALIMENTOS E BEBIDAS.....</i>	<i>32</i>
<i>DESAFIOS EROSIVOS E CICLOS DE IMERSÃO.....</i>	<i>32</i>
<i>ÁCIDO CLORÍDRICO.....</i>	<i>32</i>
<i>ALIMENTOS E BEBIDAS.....</i>	<i>32</i>
<i>MICRODUREZA.....</i>	<i>36</i>
<i>MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA</i>	<i>36</i>
<i>ANÁLISE ESTATÍSTICA</i>	<i>37</i>
RESULTADOS.....	39
<i>MICRODUREZA KNOOP.....</i>	<i>40</i>
<i>MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA</i>	<i>43</i>
DISCUSSÃO	48
CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS.....	56
APÊNDICE.....	65
ANEXOS	67

A nutrição adequada durante a infância é essencial para garantir o crescimento, a saúde e o desenvolvimento da criança (WHO, 2009). A partir do sexto mês de vida do bebê, alimentos e líquidos são introduzidos (Imdad et al., 2011; PAHO, 2003; WHO, 2003) preferencialmente na forma de papas e sucos (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2006), aumentando-se gradualmente a consistência e a frequência de consumo com a idade (WHO, 2009).

Os sinais de fome e saciedade da criança devem ser observados. Além das refeições principais, podem ser oferecidos lanches, que são alimentos práticos e fáceis de preparar, consumidos entre as refeições, em média duas vezes ao dia (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2006; WHO, 2009). Os alimentos industrializados são opções práticas por serem facilmente transportados (Hurley e Black, 2010), porém, o consumo inadequado, em excesso e muito frequente pode ser prejudicial durante a infância (Aquino e Philippi, 2002) e na idade adulta (Aquino e Philippi, 2002).

Problemas de saúde bucal, como a erosão dental, podem ser causados por alimentos e bebidas ácidas (Järvinen et al., 1991; Lussi et al., 2011). A erosão dental é a perda crônica de substância dentária (Jitpukdeebodintra et al., 2010) na presença de ácidos, sem envolvimento de bactérias (Nunn, 1996; Lussi et al., 2011), caracterizada clinicamente como desgaste corrosivo abrasivo (Serra et al., 2009). É uma condição de etiologia complexa e multifatorial (Lussi et al., 2011) comum em crianças e adolescentes (Lussi et al., 2007), no qual o contato de ácidos com a estrutura dentária pode ser decorrente de fatores intrínsecos, como vômitos, regurgitação e refluxo gastroesofágico (Bartlett et al., 1996; Shaw e Smith, 1998) e/ou extrínsecos (Lussi e Jaeggi, 2006), como fontes industriais (Addy e Shellis, 2006), uso de medicamentos e dieta (Lussi e Jaeggi, 2006).

O refluxo gastroesofágico é um processo fisiológico, comum em pacientes pediátricos (Alfaro et al., 2008), caracterizado pela passagem involuntária (Davies e Sandhu, 1995) do conteúdo estomacal pelo esôfago (Alfaro et al., 2008) até a cavidade bucal

(Bartlett, 2006). Esse quadro é considerado patológico com o aumento da frequência e intensidade, causando a doença do refluxo gastroesofágico (Davies e Sandhu, 1995).

Apesar do ácido clorídrico, presente no suco gástrico, provocar desmineralização e perda de tecido dental duro (Bartlett, 2006), a dieta é o principal fator causador da erosão dental (Moynihan, 2005; Lussi et al., 2011) devido ao alto consumo de alimentos e bebidas ácidas (Lussi et al., 2000). O potencial erosivo vai depender do pH, concentração de ácidos,

duração do tempo de exposição (Larsen e Nyvad, 1999), acidez titulável, conteúdo mineral, *clearance* da superfície e propriedade quelante (Lussi e Jaeggi, 2008).

Em busca de oferecer lanches práticos às crianças, os cuidadores têm optado por produtos industrializados, dentre eles: iogurtes, leites fermentados, petit suisses, papinhas de frutas, sucos e leites achocolatados. Na literatura, os resultados sobre o efeito erosivo do iogurte são conflitantes. Enquanto alguns autores afirmam que o iogurte, apesar do pH ácido, não tem potencial (Lussi et al., 2000; Caglar et al., 2006; Kargul et al., 2007), nem efeito erosivo (Rytömaa et al., 1988; Caglar et al., 2005; Wongkhantee et al., 2006; Waterhouse et al., 2008), existe relato que o iogurte aumenta significativamente o desgaste e reduz a microdureza do esmalte (Jitpukdeebodintra et al., 2010). Em estudo recente, bebidas lácteas fermentadas, ricas em *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium*, utilizadas na prevenção e tratamento de transtornos gastrointestinais (Haukioja, 2010) provocaram perda mineral superficial em esmalte bovino após ciclos de desmineralização e remineralização (Lodi et al., 2010). Embora seja um alimento bastante consumido pelas crianças, não existem trabalhos sobre o efeito, em dente, do petit suisse danoninho, um queijo fresco, rico em minerais, vitaminas e polpa de frutas a partir da pasteurização e fermentação do leite. As papinhas de frutas são alimentos pastosos práticos, oferecidos às crianças em colheradas, porém, não existem estudos que tenham avaliado o potencial e/ou efeito erosivo. Estudos sobre desgaste erosivo apontam o suco de laranja com alto potencial (Hunter et al., 2009) e

efeito erosivo (Rytömaa et al., 1988; Larsen e Nyvad, 1999; Lussi et al., 2000; Lussi e Hellwig, 2001; Wang et al., 2008; Wongkhantee et al., 2006; Jitpukdeebodintr et al., 2010; Torres et al., 2010), porém apesar de ser uma bebida ácida ainda é bastante consumida por ser considerada mais saudável. Por outro lado, alimentos e bebidas contendo leite e, portanto com alto teor de cálcio e fosfato, como achocolatados, têm maior probabilidade de causar um efeito remineralizante (Amaechi e Higham, 2005) no esmalte dental.

Devido ao consumo constante desses alimentos e bebidas infantis e à escassez de estudos na literatura, faz-se necessário avaliar o efeito erosivo sobre o esmalte dental já erodido com ácido clorídrico, proveniente de refluxo gastroesofágico, em dentes decíduos.

PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente estudo foram:

- Avaliar, *in vitro*, o efeito erosivo de alimentos e bebidas industrializados sobre o esmalte dental de dentes decíduos, após desafio erosivo com ácido clorídrico em função do tempo de exposição.

- Avaliar, qualitativamente, as alterações superficiais do esmalte de dentes decíduos, após o desafio erosivo com ácido clorídrico seguido da imersão nos diferentes alimentos e bebidas, no tempo final de exposição.

_____ MATERIAL E MÉTODOS

Aspectos éticos

O experimento foi realizado em esmalte dental de incisivos decíduos, selecionados e doados pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, tendo sido submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP (Processo 2011.1.1012.58.7) (Anexo A).

Delineamento experimental

Os fatores em estudo foram **lanches** (**alimentos** ou **bebidas infantis**) em seis níveis: Controle Negativo [Leite Achocolatado Toddynho (Pepsico)], Controle Positivo [Suco de Laranja Caseira com Gominhos (del Valle)], Papinha de Maçã (Nestlé), Iogurte de Morango (Vigor), Leite Fermentado Yakult (Yakult), Petit Suisse Danoninho (Danone) e **tempo de imersão** em seis níveis (inicial ou *baseline*, após imersão em HCl, 7, 14, 21 e 28 dias).

O delineamento do estudo foi realizado em blocos completos casualizados, sendo a amostra composta por 102 incisivos decíduos (unidade experimental), divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=17).

A variável de resposta quantitativa utilizada foi microdureza Knoop (KNH). Também foi realizada avaliação qualitativa por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Seleção dos dentes e preparo dos espécimes

Cento e dois incisivos decíduos (Figura 1A) foram armazenados em timol a 0,1% (Amaechi et al., 1998) a 4°C por 48 horas (Messias et al., 2010) para desinfecção e fixação dos mesmos. Em seguida, foram limpos com curetas periodontais tipo Gracey e submetidos à profilaxia com pedra pomes e água, utilizando-se escova de Robinson.

Os dentes foram analisados em lupa estereoscópica¹ com aumento de 20x e aqueles que apresentavam trincas ou anomalias de estrutura foram descartados. As raízes, quando presentes, foram seccionadas na junção amelocementária em máquina de corte² (Figura 1B)

sob refrigeração à água e as superfícies palatinas, desgastadas com ponta diamantada 1092³ em alta rotação⁴ (Figura 1C). As coroas foram incluídas no orifício central (0,8 cm de diâmetro e 0,35 cm de profundidade) de uma base de resina acrílica (1,5 cm X 1,5 cm X 1 cm) com cera utilidade⁵, mantendo-se a superfície vestibular paralela com o auxílio de um paralelômetro⁶ (Figura 1D). Em seguida, a fixação das coroas foi complementada com cera para escultura⁵, utilizando-se um gotejador elétrico⁷ (Figura 1E).

O esmalte dental de cada espécime foi planificado com lixas de Al₂O₃⁸ de granulação decrescente (600 e 1200) e polido em pasta abrasiva de alumina de 0,3 µm⁹ em disco de feltro⁹ sob refrigeração com água em politriz giratória¹⁰ (Figura 1F). Após essa etapa, os espécimes foram lavados em água destilada e submetidos ao ultrassom¹¹ (Figura 1G) durante 10 minutos em água destilada para remoção dos resíduos. Na superfície planificada de cada espécime foi delimitada uma área circular de 2 mm de diâmetro por meio de uma fita adesiva isolante¹² (Figura 1H) confeccionada com um perfurador.

Os conjuntos dente/base acrílica foram impermeabilizados com duas camadas de esmalte cosmético para unhas (Figura 1I). Após secagem, as fitas adesivas foram removidas, expondo-se a área delimitada (Figura 1J).

Os espécimes foram numerados e distribuídos aleatoriamente em 17 blocos completos e casualizados (Montgomery, 1984) e permaneceram em 100% de umidade relativa a 37°C (Messias et al., 2008) até a etapa experimental.

¹ Carl Zeiss Jena, EUA

² Isomet 5000, Germany

³ KG Sorensen, Dinamarca

⁴ KaVo do Brasil Ind. Com. Ltda, Brasil

⁵ Kota Ind. Com. Ltda, Brasil

⁶ ElQuip, São Carlos, Brasil

⁷ Guelfi Equipamentos, Brasil

⁸ Norton Saint-Gobain, Brasil

⁹ Buheler, EUA

¹⁰ Phonix B – Buehler, EUA

¹¹ Cleaner, Odontobrás, Brasil

¹² Scotch, 3M do Brasil Ltda, Brasil

Figura 1. Seleção e preparação dos espécimes

- A.** Incisivo decíduo
- B.** Secção da junção amelocementária
- C.** Desgaste da superfície palatina
- D.** Paralelômetro
- E.** Fixação da coroa
- F.** Politriz
- G.** Ultrasson
- H.** Área circular delimitada
- I.** Conjunto dente/base acrílica
- J.** Conjunto dente/base acrílica com área delimitada
- K.** Estufa

Vinte e quatro horas antes do início dos ciclos, os mesmos foram mantidos em saliva artificial a 37°C em estufa¹³ (Figura 1K) (Torres et al., 2010). A saliva artificial (Figura 2B) foi produzida como descrita por Mcknight-Hanes e Whitford (1992) e modificada por Amaechi et al. (1999).

Composição dos alimentos e bebidas

A composição dos produtos testados foi fornecida pelo fabricante e o pH de cada um foi avaliado por meio de um medidor de pH digital¹⁴ (Tabela 1).

Desafios erosivos e ciclos de imersão

Ácido clorídrico

Na tentativa de simular o desafio erosivo (intrínseco) em pacientes portadores de refluxo gastroesofágico, após as medidas de microdureza inicial, cada espécime foi individualmente imerso em 10 ml de solução de ácido clorídrico 0,01 M (Figura 2C) e pH 2 (Hove et al., 2006) por 2 minutos e lavados, em seguida, com água destilada (Amaechi et al., 1999) por aproximadamente 10 segundos.

Alimentos e bebidas

Após o desafio erosivo dos espécimes com ácido hidrocloreídrico e medição da microdureza superficial, cada espécime foi individualmente imerso em lanches (produtos industrializados) por 1 minuto em temperatura ambiente, 2x/dia (9:00 e 15:00 horas), durante 28 dias consecutivos, totalizando 56 ciclos de imersão.

Os produtos teste foram representados por: Leite Achocolatado Toddynho (Pepsico) (Figura 2D) como controle negativo, Suco de Laranja Caseira com Gominhos (del Valle) (Figura 2E) como controle positivo, Papinha de Maçã (Nestlé) (Figura 2F), Iogurte de Morango (Vigor) (Figura 2G), Leite Fermentado Yakult (Yakult) (Figura 2H) e Petit Suisse Danoninho (Danone) (Figura 2I).

¹³ Odontobrás Ind. Com. Equip. Med. Odont. LTDA, Brasil

¹⁴ Analion® AN2000, Brasil

Figura 2. Fase experimental

- A.** Microdurômetro
- B.** Saliva
- C.** Ácido clorídrico
- D.** Leite achocolatado toddynho
- E.** Suco de laranja
- F.** Papinha de maçã
- G.** Iogurte de morango
- H.** Leite fermentado yakult
- I.** Petit suisse danoninho de morango

Tabela 1: Descrição da composição dos produtos testados

PRODUTOS	COMPOSIÇÃO*	pH**
Leite achocolatado toddynho	Leite integral reconstituído, açúcar, soro de leite em pó, cacau, gordura vegetal hidrogenada, extrato de malte, vitaminas (c, a e ácido fólico), sal, espessantes: goma guar e carragena, estabilizantes: mono e diglicerídeos de ácidos graxos, citrato de sódio, e lecitina de soja, aromatizante. Contém glúten.	6,41
Suco de laranja	Suco de laranja, água, açúcar, polpa de laranja, aroma natural, antioxidante, ácido ascórbico e acidulante ácido cítrico.	3,56
Papinha de maçã	Água, maçã, suco de maçã, amido, farinha de arroz, vitamina c e acidulante ácido cítrico.	3,78
logurte de morango	Leite desnatado, permeado de leite, açúcar, leiteiro, preparado de morango (polpa de morango, açúcar, água, amido, aroma artificial de morango, corante natural carmim de cochonilha, espessante e estabilizante carragena, acidulante ácido cítrico e conservante sorbato de potássio), amido modificado, soro de leite em pó desnatado e fermento lácteo. Aromatizado artificialmente. Não contém glúten.	4,19
Leite fermentado yakult	Leite desnatado e/ou leite desnatado reconstituído, açúcar, glicose, fermento lácteo e aroma. Não contém glúten.	3,67
Petit suisse danoninho	Leite desnatado, xarope de açúcar, preparado de morango (água, frutose, polpa de morango, cálcio, fósforo, açúcar, amido modificado, zinco, ferro, vitaminas D e E, estabilizantes goma xantana, goma carragena e carboximetilcelulose, acidulantes ácido tartárico e ácido cítrico, aromatizante, conservador sorbato de potássio e corante natural carmim), creme de leite, cálcio, cloreto de cálcio, fermento lácteo, quimosina e estabilizantes goma guar, carboximetilcelulose, goma carragena e goma xantana. Contém glúten. Pode conter traços de castanha de caju.	4,27

* De acordo com os respectivos fabricantes.

** Avaliado utilizando-se um medidor de pH digital.

Para cada desafio, foram utilizados béqueres padronizados de 20 ml contendo 10 ml dos produtos testes. Em sequência, cada espécime era lavado com água destilada e imerso em 10 ml de saliva artificial por 6 horas (entre os ciclos) e 18 horas (entre o último e o primeiro ciclo do dia seguinte). Após cada ciclo, os produtos testados eram desprezados. A saliva era trocada antes do primeiro ciclo de cada dia.

Microdureza

Foram realizados seis testes de microdureza: inicial (*baseline*), após desafio com ácido clorídrico e após 7, 14, 21 e 28 dias de ciclos de imersão com os alimentos e bebidas, utilizando-se um microdurômetro¹⁵ (Figura 2A), com penetrador piramidal Knoop e carga estática de 25 gf por um período de 30 segundos, no qual foram realizadas três marcações com 100 µm de distância entre cada uma.

Os valores de microdureza Knoop em KHN foram registrados pelo software do equipamento¹⁶ e foram obtidos através do comprimento da maior diagonal das impressões.

Fórmula para transformar a medida das impressões do penetrador em valor de microdureza Knoop:

$$KHN = P/(d^2 \cdot 14299)$$

Onde:

P = carga aplicada durante o teste

d = maior diagonal da impressão

Microscopia Eletrônica de Varredura

Foi utilizado um total de 30 dentes, sendo cinco incisivos decíduos de cada produto estudado após os 28 dias de experimento.

¹⁵ HMV-2 Shimadzu Japão

¹⁶ HMV-2 Shimadzu, Japão

Ao término do experimento, os espécimes foram preparados para a realização da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Zeiss EVO 50. A área dos dentes a ser observada foi marcada utilizando-se ponta diamantada. Em seguida foram lavados abundantemente com água destilada e levados à cuba ultrassônica¹⁷ para remoção de resíduos. Foram imersos em solução de glutaraldeído (2,5 %) em tampão cacodilato de sódio 0,1M e pH 7,4 por um período de 12 horas em temperatura ambiente e lavados com água destilada.

Após fixação e lavagem dos espécimes, os mesmos foram desidratados em graus ascendentes de etanol¹⁸, sendo a sequência: 25% (20 minutos), 50% (20 minutos), 75% (20 minutos), 95% (30 minutos) e 100% (60 minutos). Para finalizar, os espécimes foram imersos em Hexametildissilazano (HMDS)¹⁹ durante 10 minutos, secos com papel absorvente e, então, fixados em *stubs*. Uma cobertura de ouro foi realizada sobre os espécimes para possibilitar a avaliação em MEV de toda superfície exposta aos produtos. As fotografias foram realizadas com magnitude de 1500 e 5000 vezes.

Análise Estatística

A Análise de Variância (ANOVA) foi efetuada para delineamento split-plot, no qual foram considerados blocos, tratamentos em seis níveis e medidas repetidas em seis tempos. As comparações entre as variáveis de resposta foram estudadas pela decomposição da soma de quadrados e teste de comparações múltiplas com teste de Tukey em nível de 5%. Os cálculos foram realizados com o auxílio do software STATA 9²⁰.

Na Figura 3, pode-se observar a metodologia aplicada ao modelo de estudo proposto, de forma esquematizada.

¹⁷ Odontobrás, Brasil

¹⁸ Labsynth Ltda., Brasil

¹⁹ Merck KGaA, Germany

²⁰ Stata Corp., EUA

Figura 3: Metodologia do modelo de estudo proposto

RESULTADOS

Microdureza Knoop

A Análise de Variância (ANOVA) a dois critérios, seguida pela soma dos quadrados e pelo teste de Tukey apresentou diferenças significativas para os fatores *Lanches* ($p=0.0001$), *Tempo* ($p=0.0000$) e para a interação entre *Lanches* e *Tempo* ($p=0.0000$). Embora os fatores isolados tenham sido significativos, foi analisada a interação por ser mais relevante.

Na tabela abaixo é possível observar as médias dos valores de microdureza Knoop de cada lanche nos diferentes tempos testados.

Tabela 2. Médias e desvios padrão da microdureza Knoop nos diferentes tempos de exposição aos lanches.

Lanches	Tempo					
	Inicial (Baseline)	HCl	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Leite achocolatado toddynho	315,12 (49,16) ^{Ba}	224,86 (46,65) ^{Aab}	237,55 (49,17) ^{Aab}	223,77 (46,89) ^{Ab}	238,49 (50,62) ^{Ac}	248,92 (51,26) ^{Ac}
Petit suisse danoninho de morango	306,08 (47,26) ^{Ca}	193,80 (61,94) ^{Aa}	233,53 (48,04) ^{Bab}	222,05 (55,86) ^{ABb}	224,68 (52,80) ^{ABbc}	223,29 (46,80) ^{ABbc}
logurte de morango	297,65 (44,72) ^{Ba}	232,92 (38,69) ^{Ab}	265,55 (57,77) ^{ABb}	241,88 (40,25) ^{Ab}	229,65 (36,39) ^{Abc}	229,25 (51,34) ^{Abc}
Papinha de maçã	283,53 (56,37) ^{Ba}	191,67 (50,20) ^{Aa}	223,55 (34,71) ^{Aa}	211,23 (48,57) ^{Ab}	196,55 (29,22) ^{Ab}	200,20 (35,24) ^{Ab}
Suco de laranja	318,84 (59,22) ^{Ca}	222,88 (60,15) ^{Bab}	199,33 (36,60) ^{Ba}	148,72 (36,89) ^{Aa}	148,98 (42,20) ^{Aa}	132,45 (39,83) ^{Aa}
Leite fermentado yakult	292,49 (61,73) ^{Ba}	191,47 (59,45) ^{Aa}	214,51 (52,53) ^{Aa}	213,51 (49,21) ^{Ab}	219,10 (51,18) ^{Abc}	221,10 (49,27) ^{Abc}

Letras maiúsculas sobrescritas indicam análise em linhas e letras minúsculas, análise em colunas.

Letras diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Ao se observar o fator tempo (em linhas), nota-se que houve diminuição nos valores de microdureza superficial do esmalte dental decíduo após simulação de desafio erosivo endógeno com ácido clorídrico em comparação aos valores médios iniciais.

Leite achocolatado toddynho, papinha de maçã e leite fermentado yakult, apresentaram diminuição significativa entre os valores de microdureza inicial e ao longo de 7, 14, 21 e 28 dias, não havendo diferença significativa entre eles e o desafio erosivo em ácido clorídrico.

Após 14 dias de exposição ao petit suisse danoninho e ao iogurte de morango, os espécimes tiveram a microdureza superficial do esmalte diminuída, porém não foi significativamente diferente da exposição ao ácido clorídrico e do sétimo dia de experimento. No sétimo dia de imersão em iogurte de morango, o valor médio de microdureza aumentou em relação ao desafio erosivo com ácido clorídrico, no entanto, apesar de apresentar valor médio inferior ao *baseline* não foi significativamente diferente deste.

O suco de laranja, embora após o desafio erosivo com ácido clorídrico tenha apresentado valor diminuído de microdureza ao sétimo dia, não apresentou diferença estatística significativa, contudo, após 14 dias, houve uma diminuição significativa nos valores de microdureza do esmalte. Com 14, 21 e 28 dias não houve diferença estatística entre eles.

Comparando-se, em colunas, os valores de microdureza do esmalte no tempo inicial (*baseline*), nota-se que não houve diferença estatística entre os lanches. Ao expor os espécimes ao ácido clorídrico, ocorreu uma diminuição nos valores médios de microdureza superficial do esmalte dental decíduo, porém os espécimes representados pelo iogurte diferiram estatisticamente dos representados pelo petit suisse danoninho, papinha e leite fermentado yakult, que não diferiram entre si. Não houve diferença estatística entre os valores médios dos espécimes representados pelo leite achocolatado toddynho, petit suisse danoninho, papinha, suco de laranja e leite fermentado yakult, nem entre os representados pelo leite achocolatado toddynho, iogurte e suco de laranja.

No sétimo dia de exposição aos lanches, o iogurte de morango apresentou valor médio de microdureza significativamente maior do que a papinha, suco de laranja e leite fermentado yakult, entretanto não diferiu estatisticamente do petit suisse danoninho e leite achocolatado toddynho, que também não diferiram entre si.

Após 14 dias, houve uma diminuição geral dos valores de microdureza superficial do esmalte, porém apenas o suco de laranja apresentou diferença estatística significativa.

Aos 21 e 28 dias, o suco de laranja apresentou valor médio significativamente menor do que todos os lanches. O leite achocolatado toddynho apresentou valor médio significativamente maior do que a papinha e o suco de laranja, mas não foi significativamente maior do que o petit suisse danoninho, iogurte de morango e leite fermentado yakult.

A figura 4 ilustra estes resultados.

Figura 4. Valores médios de microdureza Knoop superficial de cada lanche em função do tempo.

Microscopia Eletrônica de Varredura

A avaliação qualitativa por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície do esmalte foi realizada em 30 dentes (cinco de cada produto teste) ao término dos 28 dias de experimento. As imagens dos espécimes foram realizadas com aumentos de 1500 e 5000 vezes.

Os padrões morfológicos das superfícies avaliadas foram determinados de acordo com o padrão de desmineralização do esmalte classificados por Silverstone et al. (1975). Nos grupos submetidos à exposição com leite achocolatado toddynho (controle negativo), papinha de maçã e suco de laranja (controle positivo), o padrão de desmineralização predominante foi tipo I, com destruição do centro dos prismas de esmalte e preservação da periferia (Figuras 5, 6 e 7). Em contrapartida, nos espécimes expostos ao iogurte de morango, petit suisse danoninho de morango e leite fermentado yakult, observou-se padrão tipo II, com remoção da periferia dos prismas de esmalte e preservação da porção central (Figuras 8, 9 e 10).

Leite Achocolatado Toddynho

Figura 5. Superfície de esmalte dental decíduo com desmineralização principalmente no centro dos prismas do esmalte semelhante ao padrão tipo I de Silverstone et al. (1975).

Papinha de maçã

Figura 6. Superfície de esmalte dental decíduo com desmineralização principalmente no centro dos prismas do esmalte semelhante ao padrão tipo I de Silverstone et al. (1975).

Suco de laranja

Figura 7. Superfície de esmalte dental decíduo com desmineralização principalmente no centro dos prismas do esmalte semelhante ao padrão tipo I de Silverstone et al. (1975).

logurte de morango

Figura 8. Superfície de esmalte dental decíduo com desmineralização principalmente na periferia dos prismas do esmalte semelhante ao padrão tipo II de Silverstone et al. (1975).

Leite Fermentado Yakult

Figura 9. Superfície de esmalte dental decíduo com desmineralização principalmente na periferia dos prismas do esmalte semelhante ao padrão tipo II de Silverstone et al. (1975).

Petit Suisse Danoninho de morango

Figura 10. Superfície de esmalte dental decíduo com desmineralização principalmente na periferia dos prismas do esmalte semelhante ao padrão tipo II de Silverstone et al. (1975).

DISCUSSÃO

Mudanças na dieta e estilo de vida têm ocorrido com a industrialização, urbanização, desenvolvimento econômico e globalização, causando impacto na saúde, principalmente nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (WHO, 2003). Embora exista praticidade, durabilidade e aceitação dos alimentos e bebidas industrializados (Aquino e Philippi, 2002), muitas vezes, o conteúdo ácido presente na dieta tem favorecido o surgimento de lesões de desgaste, como a erosão dental (Lussi e Jaeggi, 2006). Além da dieta ácida, a erosão também é ocasionada pelo contato frequente com o ácido clorídrico na cavidade bucal (Bartlett, 2006; Hove et al., 2006), sendo uma condição comum em pacientes pediátricos com refluxo gastroesofágico (Alfaro et al., 2008).

O ácido gástrico tem pH entre 0,9-1,5 porém, na cavidade bucal, o pH após vômitos raramente é inferior a 1,5, devido ao efeito tampão e diluição (Hove et al., 2006). Neste estudo, optou-se por simular um episódio de refluxo gastroesofágico. O protocolo proposto foi adaptado do modelo *in vitro* de Hove et al. (2006), no qual simularam três episódios de refluxo gastroesofágico utilizando ácido clorídrico a 0,01M e pH 2, por ser clinicamente mais relevante (Hove et al., 2006). Considerando-se que uma única exposição ao ácido seja suficiente para observar a perda parcial de minerais na superfície do dente (Shellis et al., 2011), a simulação de desafio erosivo intrínseco foi realizada uma única vez em 10 ml de ácido clorídrico, numa área de 2mm de diâmetro, por 2 minutos, na tentativa de provocar uma lesão inicial de erosão dental. O ácido clorídrico, mais apropriado para realização de modelos de erosão intrínseca (Young e Tenuta, 2011), é um ácido forte (West et al., 2001) e, na presença de água, dissocia-se completamente em íons hidrogênio e cloreto, dissolvendo e removendo a superfície mineral (Featherstone e Lussi, 2006). As exposições ácidas de curta duração provocam alterações superficiais antes de se observar perda de estrutura dentária (Young e Tenuta, 2011). Desejando-se imitar as condições bucais *in vivo*, os espécimes foram pré-tratados em saliva artificial antes das medidas iniciais de microdureza superficial do esmalte, como proposto por Shellis et al., 2011. Embora tenha existido padronização da metodologia aplicada na escolha do substrato (dentes decíduos), tamanho dos espécimes, medidas iniciais de microdureza (*baseline*), pré-tratamento com saliva artificial, volume e tempo de exposição ao ácido, neste estudo, houve diferença

estatística entre os grupos expostos ao ácido clorídrico, limitando a comparação de lanches dentro de cada tempo.

Supondo-se que a dieta poderia interferir no processo de desmineralização e remineralização da superfície do esmalte dental já causado pelo desafio erosivo intrínseco, foram utilizados alimentos e bebidas industrializados, comumente oferecidos às crianças como lanche. Todos os produtos selecionados, com exceção do leite achocolatado toddynho (pH 6,41), apresentam pH abaixo do pH crítico para dissolução da hidroxiapatita, que é em torno de 5,5 (Thystrup e Fejerskov, 2001). Embora Ferreira e Pozzobon (2009) afirmem que o pH de produtos à base de chocolate não teriam potencial para causar erosão dental, não existem trabalhos na literatura que testem especificamente seu efeito remineralizante. Produtos à base de leite podem ter efeito protetor e não causar desmineralização do esmalte, dependendo da quantidade de cálcio e fósforo (Rytömaa et al., 1988). O leite bovino mostrou-se capaz de provocar remineralização da superfície de esmalte dental bovino após desafio erosivo com água clorada (Vongsawan et al., 2010). O leite achocolatado toddynho possui cálcio em sua composição e foi escolhido como controle negativo na expectativa que remineralizasse a superfície dental previamente exposta ao ácido clorídrico. Os resultados deste experimento mostraram que, embora não tenha remineralizado a superfície do esmalte dental decíduo ao longo dos 28 dias de experimento, o leite achocolatado testado (toddynho) também não agravou o efeito erosivo do ácido clorídrico, mesmo contendo ácido fólico e vitamina C em sua composição.

O suco de laranja foi escolhido como controle positivo devido ao seu reconhecido potencial erosivo (Hunter et al., 2009), pela presença de ácido cítrico (Rugg-Gunn et al., 1998). No entanto, o potencial erosivo de uma bebida ácida é influenciado não só pelo tipo do ácido (Grenby, 1996; Lussi et al., 2004), mas também pela sua capacidade tampão, propriedade quelante, frequência e duração da ingestão (Lussi, 1996). O efeito erosivo do suco de laranja foi observado em estudos anteriores (Rytömaa et al., 1988; Larsen e Nyvad, 1999; Lussi et al., 2000; Lussi e Hellwig, 2001; Wongkhantee et al., 2006; Jitpukdeebodintr et al., 2010; Torres et al., 2010) por diferentes protocolos em relação ao volume, tempo de exposição, duração do desafio erosivo e interposição com saliva. No entanto, nenhum

trabalho avaliou o efeito do suco de laranja ou outros alimentos e bebidas após simulação de desafio erosivo endógeno em dentes decíduos, como no presente estudo. Embora Torres et al. (2010) tenham avaliado o efeito erosivo do suco de laranja sobre o esmalte dental decíduo e observado perda mineral na superfície após 45 dias, no presente estudo, a microdureza superficial do esmalte diminuiu após 14 dias e se manteve constante aos 21 e 28 dias de experimento. Talvez, a diminuição da microdureza do esmalte em menor tempo de exposição se justifique pelo fato do suco de laranja (pH 3,56) utilizado neste trabalho, ser puro, enquanto que o suco de laranja utilizado por Torres et al. (2010) seja à base de soja (pH 3,86). Outra possível explicação seria o efeito cumulativo do desafio erosivo prévio com ácido clorídrico, seguido de exposição ao suco de laranja, que apresenta ácido cítrico e, embora seja um ácido fraco, tem propriedade de quelar cálcio da hidroxiapatita (Amaechi et al., 1999) e promover dissolução dos cristais pela ligação de íons hidrogênio ao carbonato e/ou fosfato (Featherstone e Lussi, 2006).

Os lanches petit suisse danoninho de morango, iogurte de morango e papinha de maçã foram selecionados também por apresentarem acidulante ácido cítrico em suas composições. Apesar do fabricante não mencionar a presença de acidulante ácido cítrico ou outros ácidos, o leite fermentado (yakult) tem pH ácido, de 3,67, e foi capaz de provocar perda mineral superficial em esmalte dental bovino após um total de 20 minutos de exposição, intercalando-se com saliva artificial (Lodi et al., 2010). Neste estudo, ao final dos 28 dias de experimento e um total de 56 minutos de exposição, o leite fermentado yakult não potencializou a perda mineral causada pela simulação de desafio endógeno. Uma possível explicação, para esta diferença de resultados, estaria na realização de um desafio erosivo maior no trabalho de Lodi et al. (2010), que avaliaram desgaste da superfície de esmalte dental por perfilometria. Embora não existam trabalhos que tenham testado o potencial ou efeito erosivo da papinha de maçã, esperava-se diminuição da microdureza superficial do esmalte, não só pelo seu pH ácido, que é de 3,58, mas também pelos achados de Lussi e Jaeggi (2001) após expor dentes permanentes ao purê de maçã. Neste trabalho, mesmo após um total de 56 minutos de exposição, a papinha não agravou a perda mineral causada pelo desafio erosivo com ácido clorídrico. No entanto, deve-se considerar que foram realizadas duas exposições diárias à papinha de maçã por 1 minuto, intercaladas com saliva

por aproximadamente 24 horas, diferente do estudo de Lussi e Jaeggi (2001), com apenas uma exposição ao purê de maçã, por 10 ou 20 minutos, sem interposição salivar. Também não existem trabalhos avaliando o petit suisse danoninho de morango, impossibilitando comparações. Apesar do petit suisse danoninho ter aumentado a microdureza do esmalte no sétimo dia de desafio, não diferenciou do ácido clorídrico após 14 dias de exposição. Embora contenha dois ácidos (cítrico e tartárico) e pH abaixo de 7, o petit suisse danoninho apresenta cálcio e fósforo em sua composição. Estudos apontam que o iogurte apresenta alta concentração de cálcio e não teria potencial (Lussi et al., 2000; Caglar et al., 2006; Kargul et al., 2007) ou efeito (Lussi et al., 2004; Caglar et al., 2005; Wongkhantee et al., 2005; Waterhouse et al., 2008; Lussi et al., 2011) erosivo sobre o esmalte dental. Porém, em estudo recente (Jitpukdeebodintr et al., 2010), o iogurte reduziu a microdureza do esmalte dental permanente após desafios prévios com suco de laranja e interposição de saliva artificial. No presente modelo experimental, o iogurte de morango (pH 4,19) não reduziu a microdureza do esmalte dental decíduo. Além da diferença entre o tipo de ácido utilizado nos desafios prévios, também houve diferença no tipo de desafio. No experimento de Jitpukdeebodintr et al. (2010) o suco de laranja foi intercalado com iogurte por 60 dias, totalizando 120 minutos de exposição ao suco de laranja e 600 minutos em iogurte, enquanto neste protocolo adotado foi utilizada uma única exposição ao ácido clorídrico e várias exposições aos produtos testes, intercalados por saliva artificial.

Na tentativa de simular os períodos de lanche das crianças em escola, o protocolo proposto foi realizado expondo-se os espécimes, inicialmente ao ácido clorídrico por 2 minutos e umidade relativa à 37°C por 24 horas e aos produtos teste, 2x/dia por 1 minuto, intercalando-se com saliva artificial. A saliva utilizada foi descrita por McKnight-Hanes e Whitford (1992) e modificada por Amaechi et al. (1999), a qual possui cálcio, fosfato e magnésio em sua composição e efeito remineralizante semelhante à saliva humana fresca (Amaechi e Higham, 2001; Torres et al., 2010). Considerando-se o tempo de exposição, a opção por 2 minutos em ácido clorídrico e 1 minuto nos produtos teste foi baseada em reproduzir melhor as condições bucais, visto que não se deve ultrapassar 2 min (Young e Tenuta, 2011). As lesões iniciais de erosão podem ser provocadas tanto por modelos de curta exposição ao ácido (Young e Tenuta, 2011), como na simulação de desafio endógeno,

quanto por curtos ciclos de exposição ao ácido, seguida de imersão em saliva (Young e Tenuta, 2011), como nas exposições aos produtos teste por 1 minuto. A duração de ensaios, *in vitro*, pode variar entre 15 s e 40 min por ciclo (Wiegand e Attin, 2011), dependendo do estágio de lesão que se quer obter. A erosão do esmalte é inicialmente manifestada por desmineralização parcial da superfície devido ao elevado conteúdo mineral (Schlueter et al., 2011), assim, neste estudo, optou-se por realizar medidas de microdureza superficial do esmalte, por ser a técnica de avaliação mais utilizada para medir o amolecimento da superfície dental (Shellis et al., 2011). A microdureza superficial do esmalte é um método quantitativo simples, de baixo custo e facilmente realizado (Barbour e Rees, 2004) pela medição da resistência de um substrato à penetração de um indentador, que pode ser Vickers (tetra-piramidal) ou Knoop (romboidal) (Schlueter et al., 2011). A microdureza superficial Knoop foi escolhida, neste experimento, por ser considerada mais sensível às alterações da camada mais superficial de uma lesão erosiva (Schlueter et al., 2011).

Nos resultados obtidos pelas medidas de microdureza Knoop, observou-se que após simulação de desafio endógeno com ácido clorídrico, nenhum dos lanches utilizados foi capaz de recuperar a microdureza do esmalte dental decíduo ao longo do tempo final de exposição (28 dias), enquanto o suco de laranja foi o produto que resultou em maior perda mineral do esmalte. As alterações morfológicas do tecido dental também foram ilustradas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A MEV é uma técnica qualitativa (Schlueter et al., 2011), na qual se pode observar e classificar os padrões morfológicos das superfícies. No presente experimento, de acordo com o padrão de desmineralização do esmalte classificados por Silverstone et al. (1975), leite achocolatado toddynho (controle negativo), papinha de maçã e suco de laranja (controle positivo) revelaram padrão de desmineralização tipo I, com destruição do centro dos prismas de esmalte e preservação da periferia e, nos espécimes expostos ao iogurte de morango, petit suisse danoninho de morango e leite fermentado yakult, observou-se padrão de desmineralização tipo II, com remoção da periferia dos prismas de esmalte e preservação da porção central. No entanto, apesar dos padrões morfológicos verificados, o padrão de condicionamento ácido pode variar significativamente, em indivíduos diferentes, de dente para dente e entre diferentes

áreas do mesmo dente (Jørgensen, 1975). Assim, comparações entre os grupos são dificultadas, uma vez que, apenas porções simétricas de dentes contralaterais, no mesmo indivíduo, apresentam padrões de desmineralização semelhantes (Jørgensen, 1975).

Embora este modelo experimental tenha sido realizado na tentativa de simular uma condição bucal *in vivo*, sabe-se que estudos laboratoriais, importantes para contribuições científicas futuras, têm limitações e não devem ser conclusivos para as situações clínicas. São necessários mais estudos para fundamentar conclusões definitivas sobre o potencial e efeito erosivo do leite achocolatado toddynho, petit suisse danoninho de morango, iogurte de morango, papinha de maçã e leite fermentado yakult. Entretanto, principalmente em pacientes com refluxo gastroesofágico, cuidados com a dieta ácida devem ser tomados, visto que o pH ácido e o conteúdo de alimentos e bebidas, podem favorecer a instalação de lesões de erosão dental, como provocado pelo suco de laranja neste estudo.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados neste estudo, pode-se concluir que:

- O leite achocolatado toddynho, utilizado como controle negativo, não foi capaz de remineralizar a superfície do esmalte dental decíduo, após o desafio erosivo com ácido clorídrico.

- Os lanches iogurte, petit suisse danoninho de morango, leite fermentado yakult e papinha de maçã não induziram remineralização, nem desmineralização do esmalte dental decíduo exposto anteriormente ao ácido clorídrico.

- O suco de laranja, utilizado como controle positivo, potencializou o desgaste dental provocado pelo ácido clorídrico ao longo dos 28 dias de experimento.

- Leite achocolatado toddynho, papinha de maçã e suco de laranja apresentaram padrão de desmineralização tipo I de Silverstone, com destruição do centro dos prismas de esmalte e preservação da periferia.

- Iogurte de morango, petit suisse danoninho de morango e leite fermentado yakult apresentaram padrão de desmineralização tipo II de Silverstone, com remoção da periferia dos prismas de esmalte e preservação da porção central.

REFERÊNCIAS

1. Addy M, Shellis RP. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. Dental erosion: from diagnosis to therapy. Monographs in oral science 2006;20:9–16.
2. Alfaro EV, Aps JK, Martens LC. Oral implications in children with gastroesophageal reflux disease. Current Opinion in Pediatrics 2008, 20:576–583.
3. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Efficacy of sterilisation methods and their effect on enamel demineralisation. Caries Res 1998;32:441–46.
4. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. J Oral Rehabil 1999;26(8):624-30.
5. Amaechi BT, Higham SM. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. Journal of Dentistry 2001;29:371-76.
6. Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. Journal of Dentistry 2005; 33:243–52.
7. Aquino RC, Philippi ST. Consumo infantil de alimentos industrializados e renda familiar na cidade de São Paulo. Rev Saúde Pública 2002;36(6):655-60.
8. Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. Journal of Dentistry 2004;32:591–602.

-
9. Bartlett DW, Evans DF, Smith BGN. The relationship between gastro-oesophageal reflux disease and dental erosion. *Journal of Oral Rehabilitation* 1996; 23:289-97.
 10. Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci.* Basel, Karger, 2006, 20:119–39.
 11. Caglar E, Kargul B, Tanboga I, Lussi A. Dental erosion among children in an Istanbul Public School. *JDC* 2005; 721-26.
 12. Caglar E, Lussi A, Kargul B, Kabalay U. Fruit yogurt: any erosive potential regarding teeth?. *Quintessence Int* 2006;37:647-51.
 13. Davies AEM, Sandhu BK. Diagnosis and treatment of gastro-oesophageal reflux. *Archives of Disease in Childhood* 1995; 73: 82-86.
 14. Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:66-76.
 15. Ferreira FV, Pozzobon RT. Processed dairy beverages pH evaluation: consequences of temperature variation. *J Clin Pediatr Dent* 2009;33(4):319–24.
 16. Grenby TH. Lessening dental erosive potential by product modification. *Eur J Oral Sci* 1996; 104: 221-228.
 17. Haukioja A. Probiotics and Oral Health. *Eur J Dent* 2010;4:348-55.
 18. Hove LH, Holme B, Øgaard B, Willumsen T, Tveit AB. The protective effect of TiF_4 , SnF_2 and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured by white light interferometry. *Caries Res* 2006;40:440–43.

19. Hunter L, Patel S, Rees J. The *in vitro* erosive potential of a range of baby drinks. International Journal of Paediatric Dentistry 2009; 19:325-29.
20. Hurley KM, Black MM. Commercial baby food consumption and dietary variety in statewide sample in infants receiving benefits from the special supplemental nutrition program for women, infants, and children. J Am Diet Assoc 2010; 110:1537-41.
21. Imdad A, Yakoob MY, Bhutta ZA. Impact of maternal education about complementary feeding and provision of complementary foods on child growth in developing countries. Public Health 2011; 11(Suppl 3):S25.
22. Järvinen VK, Rytömaa II, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. J Dent Res 1991; 70(6):942-47.
23. Jitpukdeebodintra S, Chuenarrom C, Muttarak C, Khonsuphap P, Prasattakarn S. Effects of 1.23% acidulated phosphate fluoride gel and drinkable yogurt on human enamel erosion, in vitro. Quintessence Int 2010;41:595–604.
24. Jörgensen KD. Contralateral symmetry of acid etched enamel surfaces. Scand. J. Dent. Res. 1975; 83: 26-30.
25. Kargul B, Caglar E, Lussi A. Erosive and buffering capacities of yogurt. Quintessence Int 2007;38:381-85.
26. Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. Caries Res 1999;33:81–87.

-
27. Lodi CS, Sasaki KT, Fraiz FC, Delbem ACB, Martinhon CCR. Evaluation of some properties of fermented Milk beverages that affect the demineralization of dental enamel. *Braz Oral Res* 2010; 24(1):95-101.
 28. Lussi A. Dental erosion. Clinical diagnosis and case history taking. *Eur J Oral Sci* 1996; 104:191-98.
 29. Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci* 2000;108:110-14.
 30. Lussi A, Hellwig E. Erosive potential of oral care products. *Caries Res* 2001;35(suppl 1):52–56.
 31. Lussi A, Jaeggi T. The potencial of various oral care products compared to foodstuffs and beverages. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2001;111(3):274-81. [abstract]
 32. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res* 2004;38(suppl 1):34–44.
 33. Lussi A, Jaeggi T. Dental erosion in children. Dental erosion: from diagnosis to therapy. Monographs in oral science. ISSN 0077-0892; 20:2006.
 34. Lussi A, Schaffner M, Jaeggi T. Dental erosion – diagnosis and prevention in children and adults. *Int Dent J* 2007; 57:385-98.
 35. Lussi A, Jaeggi T. Erosion—diagnosis and risk factors. *Clin Oral Invest* 2008; 12 (Suppl 1):S5–S13.

36. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion – an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res* 2011;45(suppl1):2-12.
37. McKnight-Hanes C, Whitford GM. Fluoride release from three glass ionomer materials and the effects of varnishing with or without finishing. *Caries Res* 1992;26(5):345-50.
38. Messias DC, Martins ME, Serra MC, Tursi CP. Feasibility of using sodium bicarbonate solution as a damage-limiting strategy for erosion lesions. *Oral Health Prev Dent* 2008; 6(2):155-8.
39. Messias DC, Turssi CP, Hara AT, Serra MC. Sodium bicarbonate solution as an antierosive agent against simulated endogenous erosion. *Eur J Oral Sci* 2010; 118: 385–88.
40. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. 1984.
41. Moynihan P. The interrelationship between diet and oral health. *Proceedings of the Nutrition Society* 2005; 64:571-80.
42. Nunn JH. Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. *Eur J Oral Sci* 1996;104:156-61.
43. Pan American Health Organization/World Health Organization. Guiding principles for complementary feeding of the breastfed child. Division of health promotion and protection. Food and Nutrition Program. 2003; Washington/Geneva.

-
44. Rugg-Gunn AJ, Maguire A, Gordon PH, McCabe JF, Stephenson G. Comparison of erosion of dental enamel by four drinks using an intra-oral appliance. *Caries Res* 1998;32:337–343
 45. Rytömaa I, Meurman JH, Koskinen J, Laakso T, Gharazi L, Turunen R. In vitro erosion of bovine enamel caused by acids drinks and other foodstuffs. *Scand J Dent Res* 1988; 96: 324—33.
 46. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res* 2011;45(suppl 1):13–23.
 47. Serra MC, Messias DCF, Turssi CP. Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale. *Braz Oral Res* 2009;23(Spec Iss 1):49-55.
 48. Shaw L, Smith AJ. Dental erosion — the problem and some practical solutions. *British Dental Journal* 1998; 186:115-18.
 49. Silverstone LM, Saxton CA, Dogon IL, Fejerskov O. Variation in the pattern of acid etching of human dental enamel examined by scanning electron microscopy. *Caries Res* 1975;9(5):373-87.
 50. Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res* 2011; 45(suppl):69-77.
 51. Sociedade Brasileira de Pediatria – Departamento Científico de Nutrologia. Manual de orientação para alimentação do lactente, do pré-escolar, do escolar, do adolescente e na escola. 2006.

52. Thylstrup A, Fejerskov O. Diferentes conceitos da cárie dentária e suas implicações. In: cariologia clínica. São Paulo: Santos, v.2, p. 209-217. 2001.
53. Torres CP, Chinellati MA, Gomes-Silva JM, Rizóli FA, Oliveira MA, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Surface and subsurface erosion of primary enamel by acids beverage over time. Braz Dent J 2010; 21(4):337-45.
54. Vongsawan K, Surarit R, Rirattanapong P. The effect of high calcium milk and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel erosion caused by cholinated water. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 2010; 41(6):1494-99.
55. Wang X, Klocke A, Mihailova B, Tosheva L, Bismayer U. New insights into structural alteration of enamel apatite induced by citric acid and sodium fluoride solutions. J. Phys. Chem. B 2008;112, 8840–48.
56. Waterhouse PJ, Auad SM, Nunn JH, Steen IN, Moynihan PJ. Diet and dental erosion in young people in south-east Brazil. IJPD 2008;18:353-60.
57. West NX, Hughes JA, Addy M. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids *in vitro*. Journal of Oral Rehabilitation 2001; 28:860-64.
58. Wiegand A, Attin T. Design of erosion/abrasion studies – insights and rational concepts. Caries Res 2011;45(suppl 1):53–59.
59. Wongkhantee S, Patanapiradej V, Maneenut C, Tantbirojn. Effect of acid food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. Journal of Dentistry 2006;34:214-20.

60. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases 2003.
61. World Health Organization. Complementary feeding. Infant and young child feeding – Model Chapter for textbooks for medical students and allied health professionals 2009; 3:19-28.
62. Young A, Tenuta LMA. Initial Erosion Models. Caries Res 2011;45(suppl 1):33–42.

APÊNDICE

APÊNDICE A – ANOVA SPLIT PLOT

Number of obs = 612

R-squared = 0.7046

Root MSE = 39.0471

Adj R-squared = 0.6240

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	1745593.88	131	13325.1441	8.74	0.0000
tratamento	212939.036	5	42587.8073	6.26	0.0001
bloco	90884.8939	16	5680.30587	0.84	0.6426
tratamento*bloco	543956.035	80	6799.45044		
tempo	700433.504	5	140086.701	91.88	0.0000
tempo*tratamento	197380.413	25	7895.21654	5.18	0.0000
Residual	731844.506	480	1524.67606		
Total	2477438.39	611	4054.72732		

ANEXO A – Comitê de Ética **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Comitê de Ética em Pesquisa

Of.ATAc.CEP/51611/FORP-USP/19.12.2011

Ref. processo n.º 2011.1.1012.58.7

CAAE n.º 0053.0.138.000-11

Senhor(a) Pesquisador(a):

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 126ª Sessão, realizada em 15 de dezembro de 2011, aprovou o desenvolvimento do projeto de pesquisa envolvendo seres humanos, intitulado: *"Efeito dos alimentos e bebidas no esmalte dental decíduo após desafio erosivo com ácido clorídrico"*.

Na oportunidade, lembramos da necessidade de ser entregue, na secretaria do CEP, o **Relatório Final** em 15 de dezembro de 2012, com o respectivo formulário preenchido pelo pesquisador responsável.

Lembramos ainda que, quando da submissão do relatório a este Comitê, quaisquer inclusões ou modificações no projeto original deverão ser comunicadas e justificadas ao CEP, através do formulário supracitado.

GISELE ELLENE ANDRADE DA DALTI
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilmo(a). Sr(a).

PG. KÉSSIA SUÊNIA FIDELIS DE MESQUITA (Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto)

Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social
desta Faculdade

Ingredientes de acordo com as embalagens dos lanches:

ANEXO B - Papinha de Maçã

INGREDIENTES: ÁGUA, MACÃ, SUCO DE MACÃ, AMIDO, FARINHA DE ARROZ, VITAMINA C E ACIDULANTE ÁCIDO CÍTRICO. **NÃO CONTEM GLÚTEN. PRODUZIDO POR NESTLÉ BRASIL LTDA.** RUA HENRY NESTLÉ, S/Nº - SÃO JOSÉ DO RIO PARDO - SP - CNPJ/MF 60.409.075/0148-89. REGISTRO MS Nº 4.0076.1743 - SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A., VEVEY, SUÍÇA. PROPRIETÁRIA DAS MARCAS INDUSTRIA BRASILEIRA.

ANEXO C – Leite Achocolatado Toddynho

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL

Porção de 200 ml (1 unidade)

Quantidade por Porção % VD (*)

Valor Energético	185 kcal = 777 kJ	9
Carboidratos	32 g, dos quais:	11
Açúcares	29 g	**
Proteínas	3,9 g	5
Gorduras Totais	4,7 g	9
Gorduras Saturadas	2,1 g	10
Gorduras Trans	0 g	**
Fibra Alimentar	0 g	0
Sódio	130 mg	5
Cálcio***	107 mg	11
Ferro ***	1,8 mg	13
Vitamina A	135 mcg	23
Vitamina C	9,0 mg	20
Ácido Fólico	35 mcg	15

% de Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8.400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

** Valores diários não estabelecidos

*** Nutrientes naturalmente presentes

Ingredientes: Leite integral reconstituído, açúcar, soro de leite em pó, cacau, gordura vegetal hidrogenada, extrato de malte, vitaminas (C, A, e ácido fólico), sal, espessantes: goma guar e carragena, estabilizantes: mono e diglicerídeos de ácidos graxos, citrato de sódio e lectina de soja, aromatizante. **CONTÉM GLUTEN.**

ANEXO D – Petit Suisse Danoninho de Morango **Informação Nutricional**
Porção de 50g (1/2 pote)

Quantidade por porção		% VD*
Valor Energético	55kcal = 231kJ	3
Carboidratos, dos quais:	7,2g	2
Açúcares adicionados:	5,79g	
Proteínas	3,2g	4
Gorduras Totais	1,5g	3
Gorduras Saturadas	1,0g	5
Gorduras Trans	0g	**
Fibra alimentar	0g	0
Sódio:	18mg	1
Sódio adicionado:	0mg	
VITAMINA D	0,75mcg	15
Vitamina E	0,75mg	8
CÁLCIO	165mg	17
Ferro	1,1mg	8
Zinco	1,1mg	15
Fósforo	100mg	14

LEGENDA

* Valores diários de referência com base em uma dieta de 2.000kcal ou 8.400KJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

** Valores diários não estabelecidos.

Ingredientes: Leite Desnatado, Xarope de Açúcar, Preparado de Morango (Água, Frutose, Polpa de Morango, Cálcio, Fósforo, Açúcar, Amido Modificado, Zinco, Ferro, Vitaminas D e E, Estabilizantes Goma Xantana, Goma Carragena e Carboximetilcelulose, Acidulantes Ácido Tartárico e Ácido Cítrico, Aromatizante, Conservador Sorbato de Potássio e Corante Natural Carmim), Creme de Leite, Cálcio, Cloreto de Cálcio, Fermento Lácteo, Quimosina e Estabilizantes Goma Guar, Carboximetilcelulose, Goma Carragena e Goma Xantana. Contém Glúten. Pode conter traços de Castanha de Caju.

ANEXO E – Leite Fermentado Yakult **INGREDIENTES**

Leite desnatado e/ou leite desnatado reconstituído

Açúcar

Glicose

Fermento Lático

Aroma

NÃO CONTÉM GLÚTEN.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL

Porção 80g (1 unidade)

Quantidade por porção		%VD(*)
Valor energético	51kcal = 214kJ	3
Carboidratos	11g	4
Proteínas	1,6g	2
Cálcio	69mg	7
Sódio	30mg	1

Conservação: Manter sob refrigeração ideal de 5°C (mínimo de 1°C e máximo de 10°C).

"Não contém quantidades significativas de Gorduras totais, Gorduras Saturadas, Gorduras *trans* e Fibra Alimentar".

* % Valores Diários com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8.400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades.

ANEXO F - Suco de laranja **Néctar de Laranja Caseira**

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
Porção de 200ml (1 copo)		
Quantidade por porção		% VD (*)
Valor energético	108 kcal= 452 kJ	5
Carboidratos	26 g	9
Não contém quantidade significativa de proteínas, gorduras saturadas, gorduras trans e fibra alimentar e sódio.		
* % valores Diários de referência com base em uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores, dependendo de suas necessidades energéticas.		

INGREDIENTES: suco de laranja, água, açúcar, polpa de laranja, aroma natural, antioxidante ácido ascórbico e acidulante ácido cítrico.

ANEXO G - loqrte de Morango **Ingredientes:**

Leite desnatado, permeado de leite, açúcar, leiteiro, preparado de morango (polpa de morango, açúcar, água, amido, aroma artificial de morango, corante natural carmim de cochonilha, espessante e estabilizante carragena, acidulante ácido cítrico e conservante sorbato de potássio), amido modificado, soro de leite em pó desnatado e fermento lácteo. **AROMATIZADO ARTIFICIALMENTE. NÃO CONTÉM GLÚTEN.**

INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS

porção de 200ml (1 copo)

	Quantidade por porção	% VD (*)
Valor energético	151 Kcal = 634 kJ	8%
Carboidratos	33g	11%
Proteínas	4,4g	6%
Sódio	81mg	3%
Cálcio	170mg	17%
"Não contém quantidade significativa de Gorduras totais, Gorduras saturadas, Gorduras trans e Fibra alimentar".		

*% Valores Diários de referência com base em uma dietas de 200Kcal ou 8400kJ.
Seus valores podem ser maiores ou menos dependendo de suas necessidades energéticas de suas necessidades energéticas.