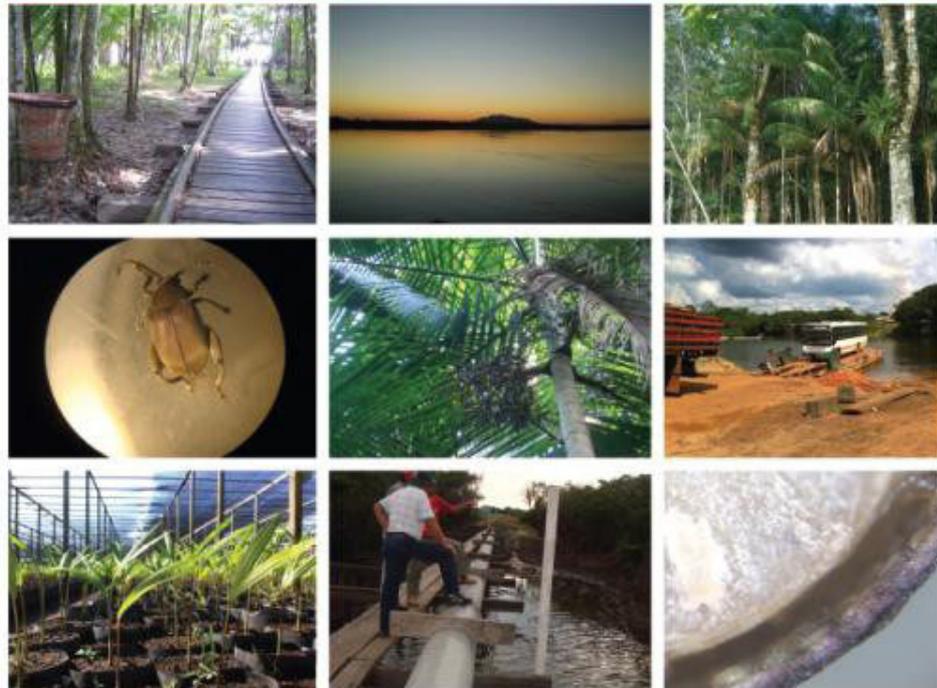


Lorem ipsum dolor sit amet, consectetur adipiscing elit. Integer ut turpis at augue molestie fringilla eu vel lectus. Aenean id urna est, vitae elementum libero. Nulla tristique diam ut dolor commodo cursus bibendum massa dictum. Integer a lacus eu nulla ornare blandit. Curabitur id quam velit. Sed sapien justo, posuere id ornare non, auctor eget purus. Nunc tincidunt mi est. Proin cursus quam non quam lobortis ac tristique nunc elementum. Aliquam quam neque, pellentesque id accumsan a, suscipit a eros. Mauris elementum gravida nisl et placerat. Morbi malesuada ante ut eros dapibus venenatis.

TECNOLOGIAS PARA INOVAÇÃO NAS CADEIAS EUTERPE



José Dalton Cruz Pessoa
Gustavo Henrique de Almeida Teixeira
Editores

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento*

TECNOLOGIAS PARA INOVAÇÃO NAS CADEIAS EUTERPE

Editores

José Dalton Cruz Pessoa

Gustavo Henrique de Almeida Teixeira

***Embrapa
Brasília, DF
2012***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação
Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
www.cnpdia.embrapa.br
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Instrumentação

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *João de Mendonça Naime*

Membros: *Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter*

Gouvea, Valéria de Fátima Cardoso.

Membro Suplente: *Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior*

Revisor editorial: *Valéria de Fátima Cardoso*

Normalização bibliográfica: *Valéria de Fátima Cardoso*

Tratamento de ilustrações: *Gráfica Suprema*

Capa: *José Dalton Cruz Pessoa*

Edição eletrônica: *Gráfica Suprema*

1ª edição

1ª impressão (2012): 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)

Embrapa Instrumentação

T255 Tecnologias para inovação nas cadeias euterge / José Dalton Cruz Pessoa, Gustavo Henrique de Almeida
Teixeira editores. -- Brasília, DF : Embrapa, 2012.
343 p. ; 16 cm x 23 cm.

ISBN: 978-85-7035-089-3

1. Açai. 2. Tecnologia de alimento. 3. Processamento. I. Pessoa, José Dalton Cruz. II. Teixeira, Gustavo Henrique de Almeida. III. Embrapa Instrumentação.

CDD 21 ED. 634.9745

664.8046

© Embrapa 2012

AUTORES

Ádina Lima de Santana

Engenharia de alimentos, graduação
Mestranda em Engenharia Química pela UFPA
adina_santana@hotmail.com

Alan Ribeiro dos Reis

Engenharia mecânica, mestrado
Docente do Centro Universitário Herminio Ometto de Araras, Araras - SP
alan_sz5@yahoo.com.br

Alessandra Ferraiolo Nogueira Domingues

Engenharia química, doutorado
Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA
ferraiolo@cpatu.embrapa.br

André Colson Schwob

Engenharia mecânica, bacharelado
Sócio diretor da NUfruits do Brasil, Belém - PA
andre.schwob@gmail.com

Antônio Cordeiro de Santana

Engenharia agrônômica, doutorado
Professor Associado IV da Universidade Federal Rural da Amazônia
acsantana@superig.com.br

Carlos Triveño Rios

Engenharia metalúrgica, doutorado
Professor Adjunto da Universidade Federal do ABC, Santo André - SP
carlos.triveno@ufabc.edu.br

Cristiane Sanchez Farinas

Engenharia química, doutorado
Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP
cristiane@cnpdia.embrapa.br

Danielle Tupinambá Emmi

Odontologia, mestrado

Membro da Comissão de Bioética da Universidade Federal do Pará, Belém - PA

dtemmi@yahoo.com.br

Dráulio Barros de Araújo

Física médica, doutorado

Professor Titular da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN

draulio@neuro.ufrn.br

Edson Noriyuki Ito

Engenharia de materiais, doutorado

Professor Adjunto II da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN

ito@ufrnet.br

Elias Hage Junior

Engenharia de materiais, doutorado

Professor Associado da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP

elias@ufscar.br

Fagner Sousa de Aguiar

Ciência e tecnologia de alimentos, mestrado

fagnersag@hotmail.com

Gisele Vieira Ribeiro

Ciências biológicas, mestrado

gvr.bio@gmail.com

Gustavo Henrique de Almeida Teixeira

Eng. Agrônoma, doutorado

Professor Doutor, MS 3, RDIDP da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP

gustavo@fcrp.usp.br

Herve Louis Ghislain Rogez

Ciências agrárias e engenharia biológica, doutorado

Professor Associado da Universidade Federal do Pará, Belém - PA

frutas@amazon.com.br

José Dalton Cruz Pessoa

Física, doutorado

Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP

dalton@cnpdia.embrapa.br

José Manoel Marconcini

Eng Materiais, doutorado

Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP

marconcini@cnpdia.embrapa.br

Karina Eder

Matemática, mestrado

karina.eder@yahoo.com.br

Kassio Michell Gomes de Lima

Química, doutorado

Professor Adjunto Nivel I da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN

kassio@ufrnet.br

Luis Carlos Trevelin

Computação, doutorado

Professor Associado da Universidade Federal de São Carlos

trevelin@dc.ufscar.br

Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Engenharia de materiais, doutorado

Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP

mattoso@cnpdia.embrapa.br

Luiz Ferreira de França

Engenharia de alimentos, doutorado

Professor Associado 2 da Universidade Federal do Pará, Belém - PA

franca@ufpa.br

Marcos Arduin

Ciências biológicas, doutorado

Professor Adjunto da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP

darduin@power.ufscar.br

Marcus Arthur Marçal de Vasconcelos

Engenharia de alimentos, mestrado
Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA
marcus.vasconcelos@embrapa.br

Maria Alice Martins

Engenharia de Materiais, doutorado
Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP
mariaalice@cnpdia.embrapa.br

Nádia Cristina Fernandes Corrêa

Engenharia de Alimentos, doutorado
Professor Adjunto IV da Universidade Federal do Pará
nadia@ufpa.br

Paulo de Souza Gonçalves

Agronomia, doutorado
Pesquisador da Embrapa lotado no Instituto Agronômico (IAC), Campinas - SP
paulog@iac.sp.gov.br

Rafaella de Andrade Mattietto

Tecnologia de alimentos, doutorado
Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA
rafaella@cpatu.embrapa.br

Regina Fátima Feio Barroso

Odontologia, doutorado
Professor Associado II da Universidade Federal do Pará, Belém - PA
rebar@ufpa.br

Renata Natsumi Haneda

Ciências biológicas, doutorado
Bolsista da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP
renatanathaneda@gmail.com

Rita Margarete Donato Machado

Ciência dos alimentos, doutorado
Bolsista da Universidade de São Paulo, São Carlos - SP
ridonato@hotmail.com

Rodrigo Rafael Mendonça dos Santos

Ciências biológicas, mestrado
rrmsantos@yahoo.com.br

Rosa Beatriz Barbosa Monteiro

Nutrição, bacharelado
rosabia2004@ig.com.br

Sandra Leandro Koizimi

Ciência da computação, mestrado
Professor II do Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, São Carlos - SP
sandra_koizimi@yahoo.com.br

Sergio Rodrigues Fontes

Física, doutorado
Professor Associado da Universidade de São Paulo, São Carlos - SP
srf@sc.usp.br

Tiago Arruda Sanchez

Física médica, doutorado
Professor Adjunto da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ
tiago@hucff.ufrj.br

Valquiria Garcia Lopes

Ciências agrárias, graduação
valquiria.lopes@yahoo.com.br

Victor Bertucci Neto

Engenharia Elétrica, doutorado
Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP
victor@cnpdia.embrapa.br

14. PIGMENTOS ANTOCIÂNICOS DO AÇAÍ (EUTERPE OLERACEA MART.) COMO EVIDENCIADORES DE BIOFILME DENTAL

Alessandra Ferraiolo Nogueira Domingues

Danielle Tupinambá Emmi

Regina Fátima Feio Barroso

Rafaella de Andrade Mattietto

INTRODUÇÃO

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma espécie frutífera, nativa da Amazônia, cujos frutos apresentam uma quantidade significativa de compostos bioativos, o que nos últimos anos despertou fortemente o interesse da indústria alimentícia, visando à obtenção de produtos com caráter funcional, potencializando assim a sua produção e comercialização, inclusive para o mercado internacional.

Como pigmento majoritário, o açaí apresenta em sua composição antocianinas, as quais são uma alternativa viável em substituição aos corantes sintéticos empregados na formulação de evidenciadores de biofilme dental. O biofilme é um agregado de microrganismos que se forma continuamente sobre as superfícies dentárias e que, muitas vezes, é imperceptível, principalmente em seus estágios iniciais, sendo um dos fatores etiológicos determinantes da cárie. A remoção deste biofilme através da escovação dentária é o método mais conhecido e acessível à população para prevenção e controle da cárie, mostrando-se eficaz, desde que seja utilizado com qualidade. Neste sentido, os evidenciadores são fundamentais, já que identificam as áreas envolvidas pelos depósitos microbianos, atuando, então, como agentes motivadores da higiene bucal e orientadores dos cirurgiões-dentistas no controle das doenças bucais. Tais fatores aliados ao aproveitamento da biodiversidade vegetal da Região Amazônica motivaram a formulação de soluções evidenciadoras contendo pigmentos antociânicos extraídos dos frutos do açaizeiro.

Dessa forma, por apresentar elevada concentração de antocianinas, possuir grande apelo mercadológico em função de seu valor energético e nutricional, ser encontrado em abundância na região Amazônica e, principalmente, fazer parte do cotidiano da população regional, o açaí pode se tornar um agente motivador à higiene bucal.

A Amazônia é constituída de importantes riquezas mundiais, como a maior bacia hídrica, formada pelo rio Amazonas e seus afluentes, e a maior floresta equatorial do planeta. O bioma compreendido pela floresta Amazônica apresenta uma variedade de sistemas naturais, resultando em muitas oportunidades ecológicas. A conseqüência dessa heterogeneidade e grandiosidade territorial é uma incrível biodiversidade, com potencial de utilização que se estende desde o uso de plantas e animais para fins ornamentais, até o uso dos componentes genéticos e químicos nas áreas de biotecnologia e farmacêutica.

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira típica da Região Amazônica, tendo como habitat natural áreas inundáveis. As mais densas populações são encontradas em solos hidromórficos, em áreas conhecidas como várzea alta, várzea baixa e igapó (NOGUEIRA et al., 2005). O Estado do Pará é o principal produtor e sua exploração se dá não só para o aproveitamento de seus frutos, como também para a extração de palmito, o que, com a atual valorização dos frutos, tornou-se uma prática menos intensa.

Dos frutos se extrai, com auxílio de água, um líquido viscoso, que em função da quantidade de água adicionada o caracteriza como açaí fino, médio e grosso. Esta forma de consumo é usual e bastante significativa em todas as regiões produtoras do fruto, chegando este consumo a 50% de tudo o que é produzido. Nos últimos anos, o açaí ganhou destaque em outros mercados, sendo bastante comercializado nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. Pelas suas características nutricionais e presença de compostos bioativos em quantidades significativas, o açaí igualmente chamou atenção do mercado internacional, onde já se encontram dezenas de diferentes produtos a base do fruto. Além da comercialização do açaí como alimento, outra alternativa de utilização do fruto é a extração dos pigmentos antocianínicos, visando o seu emprego em diversos segmentos industriais.

Estudos mostram que o fruto apresenta elevada concentração de antocianinas, principal pigmento presente (DE ROSSO et al., 2008; DOS SANTOS et al., 2008; PACHECO-PALENCIA et al., 2007; ROGEZ, 2000). As duas antocianinas encontradas em maior proporção são a cianidina-3-rutinosídeo e cianidina-3-glicosídeo (GALLORI et al., 2004; PACHECO-PALENCIA et al., 2007; ROGEZ, 2000).

A utilização das antocianinas do açaí na Odontologia, como compostos ativos de um evidenciador de biofilme dental, foi uma proposta inovadora que partiu de observação empírica da coloração arroxeada deixada nos dentes e lábios da população que consome o suco, sorvete ou o fruto *in natura*. Tal observação foi realizada por profissionais da Embrapa Amazônia Oriental e Universidade Federal do Pará (UFPA).

A hipótese de que este corante poderia se aderir ao biofilme dental recém formado, identificando-o e auxiliando no processo de higienização bucal, foi testado e ratificado cientificamente, sendo desenvolvida por Emmi e Rocha (2001) uma solução concentrada evidenciadora de biofilme dental.

Na maioria das vezes, a população não tem acesso a informações sobre os efeitos do biofilme dental acumulado e encontram dificuldade na sua visualização, principalmente em seu estágio inicial. O mérito comprovado dos evidenciadores de biofilme dental como agentes motivadores para realização da higiene bucal faz com que seu uso seja cada vez mais difundido para educação e orientação do paciente no que se refere à remoção eficaz dos depósitos microbianos, prevenindo assim, a instalação e progressão das doenças cárie e periodontal.

Durante muitos anos, a preocupação da Odontologia foi diagnosticar e tratar as lesões

de cárie já estabelecidas. Não se tinha conhecimento do controle da doença e o único tratamento possível era a remoção de tecido cariado para impedir a progressão da lesão, restaurando aquele elemento dentário. Atualmente, com a evolução dos conhecimentos, houve uma mudança desta idéia e a Odontologia voltou-se para a promoção de saúde, diagnosticando precocemente e orientando o paciente de forma que possa controlar a doença. Dessa forma, estudos epidemiológicos têm mostrado que houve uma diminuição nos percentuais de cárie e doenças gengivais.

A cárie ainda é a doença bucal mais prevalente no Brasil. De acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde Bucal (SB Brasil 2010), o índice de dentes cariados, perdidos e obturados (ICPO-D) baixou de 2,8 em 2003 para 2,1 em 2010. Entretanto, há fortes diferenças regionais para este índice, sendo as Regiões Norte e Nordeste as que apresentam maiores ICPO-D, com média de 3,2 e 2,7 respectivamente. Enquanto isso, a região Sudeste apresenta o menor ICPO-D, atingindo 1,7 dentes perdidos, cariados ou restaurados. A diferença entre o valor máximo de ICPO-D encontrado na Região Norte e a menor média, representada pela Região Sudeste, atinge quase 90% (BRASIL, 2011). Isso mostra a necessidade de se adequar políticas públicas às características e diferenças sócio-econômicas, culturais, demográficas e territoriais de cada macrorregião.

DOENÇAS BUCAIS PREVENIDAS PELO CONTROLE DO BIOFILME DENTAL

O biofilme dental é um agregado de microrganismos que se aderem à superfície dental apresentando complexas interações interespecies, estrutura heterogênea e uma matriz orgânica derivada de produtos extracelulares (CCAHUANA-VÁSQUEZ; CURY, 2010; HOJO et al., 2009; MARSH, 2003; SPOLIDORIO et al., 2003; ZIJNGE et al., 2010).

Para haver a formação do biofilme é necessário que as bactérias primárias colonizem a película, camada de glicoproteínas salivares, fosfoproteínas e lipídeos, que se forma sobre a superfície dental logo após a higienização bucal e que age como receptora para as bactérias.

A formação do biofilme dental ocorre em dois estágios, sendo o primeiro a adesão de bactérias à película e o segundo, a acumulação de *Streptococcus mutans* através de proliferação celular e produção de polissacarídeos extracelulares. A interferência em algum desses mecanismos pode prevenir a formação da cárie ou pelo menos retardar o processo cariioso (DAGLIA et al., 2002; MENEZES, 2006).

Os *Streptococcus* são os primeiros microrganismos que colonizam a película e os *Streptococcus mutans* correspondem de 60 a 80% do biofilme dental inicial (SOARES-GERALDO, 2009). São bactérias gram-positivas encontradas no ambiente bucal de aproximadamente 90% dos humanos (DANESHMEHR et al., 2008).

A microflora do biofilme dental é composta por uma grande variedade de gêneros e espécies de bactérias, onde muitas são capazes de produzir ácidos a partir de carboidratos. As mais comumente encontradas são os *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Lactobacillus*, mas é o *Streptococcus mutans* que desempenha papel primordial no processo de cárie.

A composição do biofilme varia em diferentes áreas da boca, em superfícies distintas, em locais sub ou supragengivais, além de ter potencial cariogênico diverso e formar-se continuamente.

Quando ocorre a ingestão de carboidratos, estes são degradados pelas bactérias orais presentes no biofilme dental, o que resulta na produção de vários ácidos orgânicos e, conseqüentemente, queda do pH. Esta atividade metabólica ocorre de forma constante e resulta em flutuações de

pH na interface dente-biofilme dental, o que gera, na presença de pH ácido, subsaturação de íons cálcio e fosfato na saliva e biofilme, ocasionando a saída desses íons dos tecidos duros do dente durante o tempo em que o pH permanecer baixo, provocando a desmineralização e dando início ao processo de cárie (MARTINS; FRANÇA, 2010).

O biofilme dental também se apresenta como agente etiológico extrínseco da doença periodontal, infecção oportunista induzida por bactérias anaeróbias gramnegativas que colonizam o biofilme quando maduro. De acordo com JUIZ et al. (2010), as principais espécies encontradas e responsáveis pelo processo inflamatório gengival são *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*.

HONKALA et al. (2011) relataram que a inflamação gengival é o estágio inicial para o desenvolvimento da destruição periodontal, onde o controle da inflamação através da remoção de biofilme levará à redução da prevalência e da progressão da doença periodontal.

As respostas inflamatórias do periodonto abrangem duas categorias distintas: a gengivite e a periodontite. A gengivite é manifestada clinicamente com o sangramento dos tecidos gengivais, sem evidência de perda tecidual. Já a periodontite ocorre quando a resposta inflamatória induzida pelo biofilme nos tecidos resulta na perda de inserção conjuntiva no dente, reabsorção do osso alveolar e eventual perda do elemento dentário (ARMITAGE, 2004).

O controle diário do biofilme é essencial para a manutenção das condições de saúde, pois essa ação evita ou retarda a colonização do meio gengival por espécies bacterianas (DITTERICH et al., 2007).

Medeiros (1991) considera que grande parte das pessoas afetadas pela doença periodontal o são única e simplesmente por conta do descuido destas com a higiene bucal, uma vez que não foram educadas e motivadas para tal.

Relacionar a higiene bucal de acordo com as necessidades observadas através da evidência de biofilme é a maneira mais eficaz de remoção dos acúmulos microbianos, pois o biofilme corado atua como fator motivacional.

UTILIZAÇÃO DOS EVIDENCIADORES DE BIOFILME DENTAL COMO MOTIVADORES DA HIGIENE BUCAL

O controle diário do biofilme é consagrado na literatura como o método mais simples e mais eficaz para a manutenção da saúde bucal do paciente. No entanto, a obtenção da colaboração do paciente para sua execução na higiene bucal de forma satisfatória pode ser trabalhosa devido à dificuldade do desenvolvimento de habilidades e à necessidade de alterações de hábitos de higiene já adquiridos.

A educação em saúde tem como principal objetivo causar uma mudança de atitude no paciente em relação aos hábitos com a saúde bucal, que é alcançada através da criação ou mudança de percepção por parte do paciente. Para que se alcancem estas mudanças, é de fundamental importância a motivação do paciente. A motivação humana é muito complexa e está baseada numa combinação de expectativas, ideias, crenças, sentimentos, esperanças, atitudes, valores que iniciam, mantêm e regulam o comportamento (DITTERICH et al., 2007).

A motivação é um requisito indispensável para o aprendizado, devendo ser trabalhada o mais precocemente possível, assim que se iniciar o desenvolvimento da capacidade de compreensão do indivíduo. É um processo pessoal, interno, que determina a direção e a intensidade do comportamento humano para promover a saúde bucal e melhorar a qualidade de vida.

Para o controle eficaz do biofilme dental, a escovação precisa ser orientada e supervisionada

pelo profissional, sendo a motivação do paciente fundamental para se conseguir melhores resultados. A eliminação dos depósitos microbianos exige métodos mecânicos de higiene bucal que têm a necessidade de serem ensinados e treinados com o paciente. Grande parte das pessoas sabe que para ter saúde bucal é preciso escovar os dentes diariamente. Mesmo assim, na maioria das vezes, a higiene bucal é deficiente. As técnicas de controle do biofilme requerem tempo e destreza e, conseqüentemente, o paciente só participa adequadamente quando bem motivado (VALARELLI et al., 2011).

A motivação do paciente é muito mais importante do que apenas o aprendizado de uma técnica de escovação, pois é preciso que o mesmo esteja consciente de que a higienização é importante para si (LASCALA; MOUSSALLI, 1997).

De acordo com Rodrigues et al. (2002) é importante oferecer aos pacientes “auto-suficiência odontológica”, no sentido de torná-los capazes de se auto-diagnosticarem e se cuidarem. Com isso, excelentes resultados têm sido obtidos após evidência do biofilme dental, pois, assim, o paciente reconhece as áreas que necessitam serem limpas e sente-se responsável por sua saúde bucal.

As soluções evidenciadoras devem fazer parte dos instrumentos de combate ao biofilme dental, pois são fundamentais na orientação da escovação, já que identificam as áreas envolvidas pelos depósitos microbianos, atuando então como agentes motivadores.

De acordo com Petry e Pretto (2003), os principais objetivos dos evidenciadores de biofilme dental são o estímulo visual de motivação e a identificação de áreas onde deve ser aprimorada a higiene bucal.

Pesquisa realizada por Almeida et al. (2003) com relação à promoção de saúde bucal através da orientação, motivação e controle de biofilme em 132 crianças em creches de Alfenas (MG) mostrou que elas, ao fazerem uso da solução evidenciadora, demonstravam grande expectativa e interesse em aprender a removê-la, havendo com isso significativa redução do índice de placa inicial, comprovando que a orientação e motivação da criança são essenciais para promoção da saúde bucal.

Silva et al. (2004) avaliaram a influência do emprego de diferentes formas de apresentação de agentes evidenciadores de biofilme dental com relação à redução do índice de placa em 62 estudantes de uma escola pública de Piracicaba (SP). Verificou-se que, independente da forma de aplicação do evidenciador (pastilhas ou dentifrício), houve uma redução significativa do índice de placa, o que demonstrou o efeito motivador do evidenciador na população estudada.

CORANTES

Segundo a Resolução CNNPA nº 44, de 1977 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1977), considera-se corante a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de um determinado produto. Os corantes podem ser orgânicos (natural e sintético) e inorgânicos. Mediante emprego de processo tecnológico adequado, os corantes orgânicos naturais são obtidos a partir de vegetais ou, eventualmente, de animais, e os corantes orgânicos sintéticos são obtidos por síntese orgânica. Os corantes orgânicos sintéticos são divididos em artificiais e orgânicos sintéticos idênticos ao natural. Denomina-se artificial o corante não encontrado em produtos naturais, e orgânico sintético idêntico ao natural o corante cuja estrutura química é semelhante à do princípio ativo isolado de corante orgânico natural. Os corantes

inorgânicos são obtidos a partir de substâncias minerais e submetidos a processos de elaboração e purificação adequados a seu emprego (BRASIL, 2010).

A maioria dos evidenciadores disponíveis no mercado apresenta em sua composição corantes orgânicos sintéticos, os quais têm sido comumente empregados em função de sua comprovada eficiência. Tal constatação fez com que o uso dos reveladores se tornasse um excelente recurso como fonte de motivação para estimular e auxiliar o paciente na realização de sua higiene dental, bem como conscientizá-lo quanto à presença e necessidade de remoção do biofilme (EMMI, 2006). Dentre as formas de aplicação dos evidenciadores, as mais utilizadas são pastilhas ou soluções.

Alguns corantes sintéticos utilizados na formulação de evidenciadores são descritos em patentes americanas. As patentes US. Pat. 3,309,274, US. Pat. 3,624,219, US. Pat. 3,997,658 e US. Pat. 4,064,229 são referentes à utilização do corante eritrosina.

As patentes US. Pat. 4,992,256 e US. Pat. 4,302,439 são referentes aos corantes vermelho 40 e acid red 33, respectivamente.

Na patente US. Pat. 3,309,274, Brilliant (1967) avaliou os corantes fluorescentes eritrosina, verde FD&C N° 8, vermelho FD&C N° 19, vermelho FD&C N° 22, vermelho FD&C N° 28, amarelo FD&C N° 7 e amarelo FD&C N° 8, os quais são visíveis apenas sob exposição a luz ultravioleta. Na patente US. Pat. 3,624,219, Perlitsh (1971) verificou que a eritrosina foi mais eficiente no evidenciamento do biofilme quando comparada aos corantes amaranço e azul brilhante, em virtude destes apresentarem elevada solubilidade em água e não colorirem satisfatoriamente as bactérias. Nas patentes US. Pat. 3,997,658 e US. Pat. 4,064,229, BLOCK; DERDIVANIS (1976; 1977) desenvolveram evidenciadores combinando os corantes eritrosina e azul FD&C N° 1, eritrosina e verde FD&C N° 3 e eritrosina e Hercules Green Shade 3. Os resultados da pesquisa mostraram que os reveladores coloriram distinta e seletivamente o biofilme de acordo com sua maturidade. Skaggs et al. (1991), na US. Pat. 4,992,256, desenvolveram um evidenciador contendo o corante vermelho 40 e o compararam a outros dois reveladores cujos corantes utilizados foram eritrosina e eosina. Neste trabalho, o vermelho permitiu uma melhor visualização do biofilme e sabor mais agradável quando comparado aos outros evidenciadores. Além disso, não coloriu demasiadamente a língua, gengiva e tecidos adjacentes e foi facilmente removido. Na patente US. Pat. 4,302,439, Selwyn (1981) mostrou que o corante acid red 33 foi facilmente removido dos lábios e gengivas dois minutos após a realização da higiene bucal. O mesmo comportamento não foi observado quando a eritrosina foi utilizada como corante.

Muitos corantes evidenciadores disponíveis no mercado e comumente utilizados por profissionais da área apresentam o inconveniente de causar possíveis efeitos colaterais locais e sistêmicos ao paciente (VIVO; ANAUATE NETO, 2001) e satisfazem apenas parte dos requisitos necessários para um evidenciador ideal, ou seja, ser atóxico, de fácil obtenção, aplicação, manipulação, remoção e armazenamento. Além disso, deve apresentar sabor agradável e coloração contrastante para facilitar a diferenciação com a gengiva marginal, não corar residualmente as mucosas labiais, jugal e gengival e as restaurações ou fissuras dentárias por demorado tempo, não provocar irritação tissular e ser eficaz no evidenciamento do biofilme (SKAGGS et al., 1991).

Corantes sintéticos são largamente utilizados para os mais diversos fins e dominam as aplicações em alimentos, tecidos e fármacos, principalmente por apresentarem alta estabilidade às variações de condições de uso. No entanto, em função das contínuas

restrições legais ao uso de corantes sintéticos, particularmente os que apresentam efeitos cancerígenos (NAZARÉ et al., 1996; PAULA, 2007), o interesse por corantes naturais é constante e muitos estudos sobre novas fontes, métodos de extração e técnicas de estabilidade vêm sendo realizados ao longo dos anos.

ANTOCIANINAS

Dentre os pigmentos naturais existentes na natureza, as antocianinas representam, juntamente com os carotenóides, a maior classe de substâncias coloridas do reino vegetal. Encontram-se amplamente distribuídas em flores, frutos e folhas (MACZ-POP et al., 2006). As antocianinas são uma alternativa viável para a substituição de corantes sintéticos em diversos segmentos, dentre os quais se destacam as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, devido à sua evidência em termos visuais e solubilidade em água, o que permite sua incorporação em uma grande variedade de produtos (MACZ-POP et al., 2006; POZO-INSFRAN et al., 2004; TERCI, 2004).

Além disso, os pigmentos antociânicos são consumidos pelo homem através de frutas e vegetais em geral há gerações, sem apresentar, aparentemente, qualquer efeito prejudicial à saúde. Essas substâncias fazem parte de um grupo muito importante de pigmentos naturais denominados flavonóides, cuja estrutura química básica é $-C_6-C_3-C_6-$, sendo que as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos. Diferentemente dos outros flavonóides, as antocianinas são capazes de absorver fortemente na região visível do espectro, conferindo uma infinidade de cores entre laranja, vermelho, púrpura e azul, dependendo do meio em que se encontram (STRINGHETA; BOBBIO, 2000). Quimicamente, são definidas como glicosídeos de antocianidinas. As antocianidinas ou agliconas têm como estrutura básica o cátion 2-fenilbenzopirilium, também denominado cátion flavilium (Figura 1) (CONSTANT, 2003).

As diversas formas antociânicas encontradas diferem entre si pelo número de grupos hidroxílicos presentes na aglicona e grau de metilação destes, pela natureza, número e sítio de ligação dos açúcares e pelo número e natureza de ácidos alifáticos e/ou aromáticos ligados à molécula de açúcar (STRINGHETA; BOBBIO, 2000).

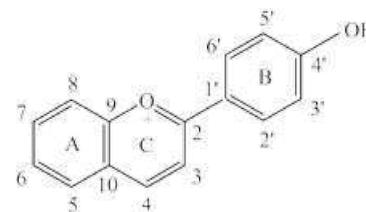


Figura 1. Cátion 2-fenilbenzopirilium ou flavilium (R1 = açúcar, R2 e R3 =H/OH/OCH3) (Adaptado de ALBARICI et al., 2006).

Assim como as antocianidinas, as antocianinas (Figura 2) possuem um grupo hidroxila nas posições C3, C5 e C7. No entanto, somente nas antocianinas, uma ou mais destas hidroxilas estão ligadas a açúcares que ocorrem como mono, di e/ou triglicosídeos. As

posições ocupadas pelos açúcares, em ordem de preferência, são: C3, C5, C7, C3', C4' e C5'. Quando há apenas uma substituição com glicosídeo, a posição C3 é preferencial. Quando dois açúcares estão presentes, geralmente um está na posição C3 e o outro pode estar em C3' como um dissacarídeo ou nas posições C5, C7, C3', C4' e C5' (FAVARO, 2008). Na Figura 2, o grupo R1 é sempre representado por açúcares, o que caracteriza as antocianinas. Quando este grupo é um hidrogênio, trata-se de uma molécula de antocianidina.

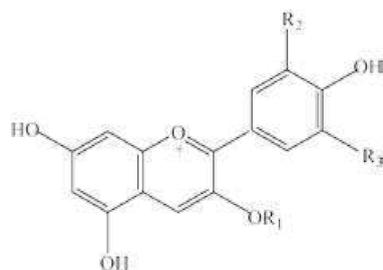


Figura 2. Estrutura química básica de uma antocianina (R1 = açúcar, R2 e R3 = H/OH/OCH3) (Adaptado de KONG et al., 2003).

A coloração e/ou estabilidade das antocianinas depende de muitos fatores como concentração, tipo de solvente, temperatura de extração e armazenamento, exposição à luz, variações de pH, estrutura química da molécula e presença de substâncias capazes de reagir reversível ou irreversivelmente com a antocianina (KIRCA et al., 2006; LOPES, 2002; MACZ-POP et al., 2006; REVILLA et al., 1998; TÜRKER; ERDOGDU, 2006).

O pH é certamente o fator mais importante, uma vez que, em soluções aquosas, as três estruturas que a água pode apresentar (H⁺, OH⁻ e H₂O) são altamente reativas com os pigmentos antocianínicos. Dependendo do grau de acidez ou alcalinidade, as antocianinas assumem diferentes estruturas químicas e, conseqüentemente, apresentam distintas colorações (CONSTANT, 2003). A Figura 3 mostra as diferentes estruturas químicas assumidas pelas antocianinas em função do pH.

A faixa de pH encontrada nos vacúolos celulares das plantas não é favorável termodinamicamente à presença do cátion flavilium, o que levou a natureza a empregar várias técnicas para estabilizar as espécies responsáveis pela coloração das antocianinas (FREITAS, 2005). Um dos casos mais ilustrativos é o da hortênsia (*Hydrangea macrophylla*), cujo pigmento encontrado tanto nas flores azuis como nas rosas é a delphinidina 3-glicosídeo (YOSHIDA et al., 2003). Nas plantas de floração azul, o pH dos vacúolos celulares é 4,1. Já nas hortênsias de pétalas rosa o pH vacuolar é 3,3. Os fatores que explicam a existência do cátion flavilium em pHs tão elevados e a diferença de cores para a mesma antocianina são a atuação de outros polifenóis como copigmentos e a concentração de íons Al³⁺ nos vacúolos (FREITAS, 2005). A copigmentação é um dos fatores mais importantes na variedade e estabilidade de cores no reino vegetal. O fenômeno é resultado da associação do cátion flavilium e da base quinonoidal com outros metabólitos presentes no meio

celular, denominados copigmentos. Os copigmentos são geralmente compostos fenólicos, flavonóides não antocianínicos e ácidos alifáticos (GONNET, 1998) que não absorvem na região visível, mas ao interagirem com a antocianina provocam um desvio da absorção para comprimentos de onda maiores e um aumento na intensidade da coloração da antocianina (FREITAS, 2005).

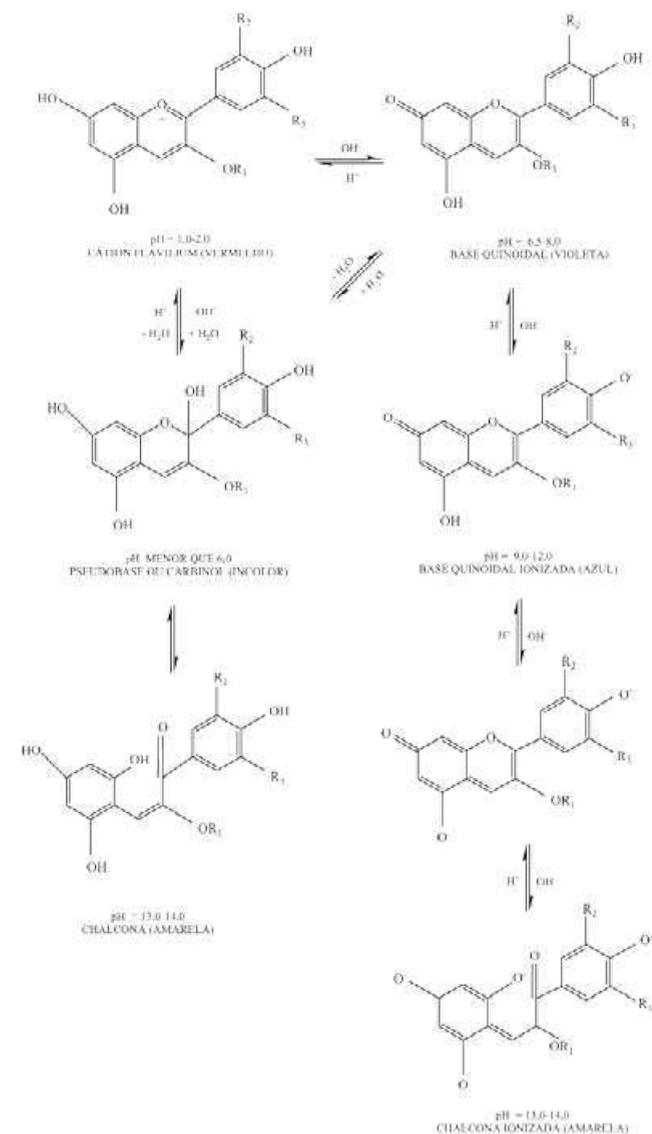


Figura 3. Transições das estruturas das antocianinas em função do pH (R1 = açúcar, R2 e R3 = H/OH/OCH3) (Adaptado de ALBARICI et al., 2006; CONSTANT, 2003; FAVARO, 2008; FREITAS, 2005).

A escolha do método de extração de antocianinas depende largamente do propósito da aplicação, bem como da natureza antocianina da matéria-prima (CONSTANT, 2003). No caso de aplicações industriais, é importante que o método seja simples, rápido, de baixo custo e que utilize solventes extratores de baixa toxicidade (FREITAS, 2005). Fatores como tempo de maceração, área e tempo de contato entre solvente e soluto, tipo de solvente ou tratamentos que provoquem a destruição das células da epiderme da casca aumentam o rendimento do processo (CONSTANT, 2003).

Por serem hidrossolúveis, as antocianinas são facilmente extraídas com solventes polares. Solventes alcoólicos, como metanol e etanol, são os mais comumente utilizados. Embora a extração com álcool metílico seja mais eficiente, o etanol é preferencialmente utilizado devido a sua menor toxicidade. Solventes extratores alcoólicos acidificados também têm sido empregados com o propósito de favorecer a extração, pois auxiliam a penetração do solvente nos tecidos das frutas e vegetais, além de aumentar a estabilidade dos extratos por dificultar o aparecimento de fungos que degradam as antocianinas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; CONSTANT, 2003; FAVARO, 2008).

No entanto, o uso de solventes ácidos no processo de extração deve ser cauteloso, pois o excesso de ácido pode levar à formação de antocianidinas e outros flavonóides por hidrólise. Neste caso, em estudos quantitativos, a hidrólise poderia gerar resultados superestimados da concentração total de antocianinas, principalmente se a espectrofotometria for o método de análise empregado na quantificação (REVILLA et al., 1998).

Outros solventes empregados em alguns métodos de extração são o dióxido de enxofre (SO₂), em meio aquoso ou alcoólico, e acetona. A extração com SO₂ geralmente apresenta maiores rendimentos em termos de concentração de corante, grau de pureza do extrato, intensidade de coloração e estabilidade do produto (CONSTANT, 2003). A principal vantagem da acetona como solvente extrator seria a maior facilidade de secagem dos extratos após o término do processo, por se tratar de um solvente mais volátil e, conseqüentemente, requerer temperatura de ebulição menor. Porém, a aplicação da acetona como solvente extrator em rotina industrial não é vantajosa devido à maior toxicidade e periculosidade, quando comparada com solventes aquosos e alcoólicos (FAVARO, 2008).

Por serem substâncias termicamente instáveis, temperaturas de extração superiores a 60°C podem provocar a degradação térmica das antocianinas e afetar a concentração das mesmas nos extratos e a estabilidade destes, por favorecer a extração conjunta de ácidos fenólicos e taninos, além da formação de complexos com proteínas (JING; GIUSTI, 2007). As antocianinas são comumente identificadas e quantificadas através do método do pH diferencial e de técnicas espectrofotométricas e cromatográficas. A ressonância magnética nuclear e a espectrometria de massas são utilizadas na identificação de pigmentos ainda desconhecidos e/ou com estrutura química complexa.

Embora inúmeras espécies vegetais sejam consideradas fontes potenciais de antocianinas, poucas são empregadas comercialmente em função de aspectos econômicos, técnicos e legais.

Uva, framboesa, amora, ameixa, cereja, jabuticaba, figo, amora e maçã são algumas frutas já extensivamente estudadas. Cereais, legumes, tubérculos (repolho roxo, rabanete, berinjela e feijão) e diversas flores e sementes (girassol e inflorescência do capim gordura) têm sido alvos de estudo e muitos dados já são disponíveis no que diz respeito à composição da fração antocianina (MALLACRIDA; MOTTA, 2006). Diante disso, esforços têm sido feitos

no sentido de encontrar outras fontes de antocianinas que, além de estáveis, sejam viáveis, não apenas em termos tecnológicos, como mercadológicos e econômicos.

Evidenciadores à base de corantes naturais são descritos nas patentes US. Pat. 4,431,628 (GAFFAR, 1984), US. Pat. 4,517,172 (SOUTHARD, 1985) e US. Pat. 7,182,935. De acordo com Emmi e Rocha (2001), o desenvolvimento de evidenciadores onde a população conheça seus componentes e estes sejam naturais e façam parte do seu cotidiano deve favorecer sua utilização como agente motivador à higiene bucal, podendo levar a uma opção de consumo mais saudável.

Na patente US. Pat. 4,431,628, os corantes betaxantinas (coloração amarela) e betacianinas (coloração vermelha), pertencentes à classe das betalainas, foram extraídos da beterraba e os evidenciadores apresentados na forma de comprimido, solução, gel e aerossol. A patente US. Pat. 4,517,172 descreve o emprego de extratos de sanguinarina obtidos das plantas *Sanguinaria canadensis*, *Macleaya Cordata*, *Corydalis sevcvozii*, *C. ledebouni*, *Chelidonium majus* e de uma mistura destas. No entanto, a visualização do biofilme só foi possível através da exposição deste a luz ultravioleta, o que inviabiliza o seu uso por pacientes em casa.

PROPOSTA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA: EVIDENCIADOR DE BIOFILME DENTAL UTILIZANDO PIGMENTOS ANTOCIÂNICOS DO AÇAÍ

A observação de que os dentes e lábios ficavam corados ao se ingerir o açaí despertou o interesse para testar se esta coloração apresentava seletividade e se fixava ao biofilme dental, o que poderia ser um excelente aliado dos profissionais da Odontologia, estimulando a higiene bucal. Esta hipótese propiciou o desenvolvimento de um produto com tecnologia inovadora, o que aconteceu em duas etapas, firmando uma parceria entre Embrapa Amazônia Oriental e UFPA. Os pigmentos antocianínicos foram extraídos no Laboratório de Corantes Naturais da Embrapa Amazônia Oriental, no qual foram realizados diversos estudos para identificação de vegetais da flora Amazônica produtores de corantes (NAZARÉ, 1996; NAZARÉ et al., 1996; NAZARÉ; MARTINS, 1996).

Emmi e Rocha (2001), após extração desses pigmentos, desenvolveram e testaram um produto que evidenciava seletivamente o biofilme dental. A elaboração do produto evidenciador, assim como os testes de verificação de eficácia foram realizados nas clínicas da Faculdade de Odontologia da UFPA. Foi necessária a elaboração de quatro composições evidenciadoras teste até se chegar a um produto final que conseguiu evidenciar o biofilme dental oferecendo um sabor agradável e um contraste de coloração com a superfície dental e demais tecidos moles bucais. Nesta etapa, o objetivo principal foi verificar a eficácia do produto desenvolvido com o corante à base de açaí na identificação de sítios nos dentes comprometidos pelo biofilme. Para isso, foi utilizado como parâmetro, o Índice de Placa Visível (IPV), adaptado por Axelsson e Lindhe (1974), que preconiza o registro quanto à presença ou ausência de biofilme em todas as superfícies de seis dentes-índices, antes e após a aplicação do produto corante. Estes testes foram realizados com 48 estudantes da Faculdade de Odontologia da UFPA. Os resultados desta etapa mostraram a eficácia do produto, ao registrar que quase dois dentes, onde não era observado biofilme através do método visual, se mostravam comprometidos pelos depósitos microbianos ao usar o evidenciador.

Estes resultados propiciaram o registro da patente US. Pat. 7,182,935, na qual foram

desenvolvidas soluções aquosa e alcoólica evidenciadoras de biofilmes dentais à base de corantes naturais extraídos dos frutos do açaí (NAZARÉ et al., 2007).

Para validar a eficácia do produto evidenciador, Emmi (2006) comparou a solução à base de antocianinas a dois evidenciadores com corantes sintéticos muito utilizados na prática clínica, Replak® (corante azul/vermelho alimentício) e Plakstesim® (fucsina). Nesta fase, os testes foram realizados em 42 alunos de graduação da Faculdade de Odontologia da UFPA, utilizando os mesmos parâmetros da primeira etapa: a presença ou ausência de biofilme em todas as superfícies dentárias de seis dentes-índices, antes e após a utilização dos corantes, com intervalo de sete dias entre as análises, utilizando para isso, o Índice de Placa Visível (IPV). Os resultados comprovaram que o revelador desenvolvido mostrou-se superior quanto à identificação do biofilme dental, quando comparado estatisticamente aos evidenciadores comerciais, com nível de significância menor que 0,01. Isso permite afirmar que o evidenciador desenvolvido é uma alternativa promissora para o mercado odontológico, levando em consideração que existe uma tendência, na atualidade, à maior utilização de corantes naturais, além do aproveitamento da biodiversidade amazônica, colaborando para a agregação de valor de fontes naturais regionais.

Referências

ALBARICI, T. R.; PESSOA, J. D. C.; FORIM, M. R. **Efeito das variações de pH sobre as antocianinas na polpa de açaí**: estudos espectrofotométricos e cromatográficos. Comunicado técnico. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2006. 5 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Comunicado Técnico, 78).

ALMEIDA, A. C. P.; ZANETTI, H. H. V.; PEIXOTO, A. D.; BARROS, C. D. R.; SEPTÍMIO, D. M.; BUENO, G. C. M. Promoção de saúde bucal através de orientação, motivação e controle de placa. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v. 60, n. 6, p. 387- 389, 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução CNNPA nº 44, de 1977. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 01 nov. 2011

ARMITAGE, G. C. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 34, p. 9-21, 2004.

AXELSSON, P.; LINDHE, J. The effect of a preventive program on dental plaque, gingivitis and caries in school children. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 1, p. 126-138, 1974.

BLOCK, P. L.; DERDIVANIS, J. P. **Dental plaque disclosing compositions**. U.S. n. 3,997,658. 14dez1976.

BLOCK, P. L.; DERDIVANIS, J. P. **Dental plaque disclosing agent**. US. Pat. 4,064,229. 20dez1977.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relatório do Levantamento Nacional de Saúde Bucal: SB Brasil 2010: Resultados Principais**. Brasília, 2011. 92 p.

BRILLIANT, H. **Use of fluorescent dyes in dental diagnostic methods**. U.S. n. 3,309,274. 14mar1967.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNANDEZ, M. L.; PAEZHERNANDEZ, M. E.; RODRIGUEZ, J. A.; GALAN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, London, v. 113, p. 859-871, 2009.

CCAHUANA-VÁSQUEZ, R. A.; CURY, J. A. S. mutans biofilm model to evaluate antimicrobial substances and enamel desmineralization. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 135-141, 2010.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (Euterpe oleracea M.)**. 2003. 183 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

DAGLIA, M.; TARSI, R.; PAPETTI, A.; GRISOLI, P.; DACARRO, C.; PRUZZO, C.; GAZZANI, G. Antiadhesive effect of green and roasted coffee on Streptococcus mutans adhesive properties on saliva-coated hydroxyapatite beads. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 1225-1229, 2002.

DANESHMEHR, L.; MARTIN, K.; NIKAIDO, T.; TAGAMI, J. Effects of root dentin surface coating with all-in-one adhesive materials on biofilm adherence. **Journal of Dentistry**, Bristol, v. 36, n. 1, p. 33-41, 2008.

DE ROSSO, V. V.; HLEBRAND, S.; MONTILLA, E. C.; BOBBIO, F. O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A. Z. Determination of anthocyanins from acerola (Malpighia emarginata DC) and açaí (Euterpe oleracea Mart.) by HPLC-PDAMS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, Sandiego, v. 21, p. 291-299, 2008.

DITTERICH, R. G.; PORTERO, P. P.; WAMBIER, D. S., PILATTI, G. L.; SANTOS, F. A. Higiene bucal e motivação no controle do biofilme dental. **Odontologia Clínico-Científica**, Recife, v. 6, n. 2, p. 123-128, 2007.

DOS SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M.; COSTA, J. M. C. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (Euterpe oleracea Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 58, n. 2, p. 189-192, 2008.

EMMI, D. T. **Análise comparativa da eficácia de evidenciadores de placa dental a base de corantes naturais x sintéticos**. 2006. 55 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2006.

EMMI, D. T.; ROCHA, P. O. **A Odontologia e a biodiversidade amazônica: elaboração de um evidenciador de placa bacteriana a partir de corantes naturais**. 2001. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Odontologia) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2001.

FAVARO, M. M. A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial como corantes**. 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

FREITAS, A. A. Reatividade química e fotoquímica de antocianinas em sistemas organizados. 2005. 182 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

GAFFAR, M. C. S. Natural dye indicator for dental plaque. U.S. n. 4,431,628. 14fev1984.

GALLORI, S.; BILIA, A.; BERGONZI, M.; BARBOSA, W.; VINCIERI, F. Polyphenolic constituents of fruit pulp of Euterpe oleracea Mart. (Açaí palm). **Chromatographia**, New York, v. 59, n. 11-12, p. 739-743, 2004.

GONNET, J. F. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited-1. A

colorimetric definition using the CIELAB scale. **Food Chemistry**, London, v. 63, n. 3, p. 409- 415, 1998.

HOJO, K.; NAGAOKA, S.; OHSHIMA, T.; MAEDA, N. Bacterial Interactions in Dental Biofilm Development. **J Dental Research**, [S. l.], v. 88, n. 11, p. 982-990, 2009.

HONKALA, S.; HONKALA, E.; NEWTON, T.; RIMPELÄ, A. Toothbrushing and smoking among adolescents: agregation of health damaging behaviours. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 38, p. 442-448, 2011.

JING, P.; GIUSTI, M. M. Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (Zea mays L.) color extract. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 7, p. C363-C368, 2007.

JUIZ, P. J. L.; ALVES, R. J. C.; BARROS, T. F. Uso de produtos naturais como coadjuvante no tratamento da doença periodontal. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 134-139, 2010.

KONG, J. M.; CHIA, J. S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, New York, v. 64, p. 923-933, 2003.

LASCALA, N. T.; MOUSSALLI, N. H. Higienização Bucal: Fisioterapia: Aspectos Preventivos em Odontologia. In: **PREVENÇÃO na Clínica Odontológica: Promoção de Saúde Bucal**. São Paulo: Artes Médicas, 1997. cap. 9. p. 119-143.

LOPES, T. J. **Adsorção de antocianinas do repolho roxo em argilas**. 2002. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

MACZ-POP, G. A.; RIVAS-GONZALO, J. C.; PÉREZ-ALONSO, J. J.; GONZALÉZPARAMÁS, A. M. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (Phaseolus vulgaris L.). **Food Chemistry**, London, v. 94, n. 3, p. 448-456, 2006.

MALLACRIDA, S. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MARSH, P. D. Are dental disease examples of ecological catastrophes? **Microbiology**, Reading, v. 149, n. 2, p. 279-294, 2003.

MARTINS, M. D.; FRANÇA, C. M. Histopatologia da cárie dentária. In: **REMOÇÃO química e mecânica do tecido cariado: Abordagem sobre o tratamento minimamente invasivo da doença cárie**. São Paulo: Gen Santos Editora, 2010. cap. 4. p. 31-39.

MEDEIROS, U. V. Aspectos gerais no controle da placa bacteriana: controle da placa em saúde pública. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 45, n.3, p. 479-483, 1991.

MENEZES, T. E. C. **Influência do extrato de araçá (*Psidium cattleianum*) e aroeira do sertão (*Myracrodruon urundeuva*) na prevenção à cárie em modelos animais.** 2006. 53 f. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2006.

NAZARÉ, R. F. R. Obtenção e aplicação de corantes naturais. In: BENEFICIAMENTO de produtos naturais. Universidade Federal do Pará. Belém: Daimler-Benz/POEMA, 1996.

NAZARÉ, R. F. R.; ALVES, S. M.; BARBOSA, W. C.; RODRIGUES, I. A.; FARIA, L. J. G.; KUSUHARA, K. Estudo para identificação de vegetais produtores de corantes ocorrentes na flora Amazônica. In: GERAÇÃO de tecnologia agroindustrial para o desenvolvimento do trópico úmido. Belém: EMBRAPA – CPATU/JICA, 1996. p. 173- 195.

NAZARÉ, R. F. R.; EMMI, D. T.; BARROSO, R. F. F.; ROCHA, P. O. **Bacterial plaque evidencing composition based on natural colorants.** U.S. n. 7,182,935. 2007.

NAZARÉ, R. F. R.; MARTINS, C. S. Avaliação dos conteúdos de norbixina e bixina de progênes de urucum, em função do tempo de demora para análise. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CORANTES NATURAIS E SIMPÓSIO BRASILEIRO DE URUCUM, 3., 1996, Porto Seguro. [S.l.: s. n.], 1996.

NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; MÜLLER, A. A. **Açaí.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 137 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Sistemas de Produção, 4).

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. **Food research international**, Barking, v. 40, p. 620-628, 2007.

PAULA, G. A. **Caracterização físico-química e estudo do escurecimento enzimático em produtos derivados de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.).** 2007. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

PERLITSH, M. J. **Plaque-disclosing composition and package system.** U.S. n. 3,624,219. 1971.

PETRY, P. C.; PRETTO, S. M. Educação e Motivação em Saúde Bucal. In: PROMOÇÃO de Saúde Bucal: Paradigma, ciência e humanização. 3. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2003. cap. 18. p. 371-386.

POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of açaí. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 1539-1545, 2004.

REVILLA, E.; RYAN, J. M.; MARTIN-ORTEGA, G. Comparison of several procedures

used for the extraction of anthocyanins from red grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 11, p. 4592-4597, 1998.

RODRIGUES, C. R. M. D.; RAMIRES-ROMITO, A. C. D.; ZARDETTO, C. G. D. Abordagem Educativa-Preventiva Em Odontopediatria. In: ODONTOLOGIA: Odontopediatria/Prevenção. 20º CIOSP: Arte, ciência e técnica. São Paulo: Artes Médicas, 2002. cap. 7. p. 113-136.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação.** Belém: UFPA, 2000.

SELWYN, S. L. **Method of disclosing dental plaque with D and C Red 33.** U.S. n. 4,302,439. 24nov1981.

SILVA, D. D.; GONÇALO, C. S.; SOUSA, M. L. R.; WADA, R. S. Aggregation of plaque disclosing agent in a dentifrice. **Journal of Applied Oral Science**, Bauru, v. 12, n. 2, p. 154-158, 2004.

SKAGGS, J. M.; DICKSON, R. E.; BOWERS, J. H.; TAVSS, E. A. **Plaque disclosing compositions.** U.S. n. 4,992,256. 12fev1991.

SOARES-GERALDO, D. **Aderência bacteriana à superfície de esmalte dental irradiado por lasers com parâmetros para prevenção de cárie.** 2009. 146 f. Dissertação (Mestrado em Dentística) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SOUTHARD, G. L. **Plaque disclosing agent.** U.S. n. 4,517,172. 14mai1985.

SPOLIDORIO, D. M. P.; ZUANON, A. C. C.; ZUANON, J. A. Biofilme dentário. **Revista Paulista de Odontologia**, São Paulo, v. 5, p. 27-29, 2003.

STRINGHETA, P. C.; BOBBIO, P. A. Copigmentação de antocianinas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, [S. l.], n. 14, p. 34-37, 2000.

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas.** 2004. 224 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

TÜRKER, N.; ERDOGDU, F. Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.). **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 76, n. 4, p. 579-583, 2006.

VALARELLI, F. P.; FRANCO, R. M.; SAMPAIO, C. C.; MAUAD, C.; PASSOS, V. A. B.; VITOR, L. L. R. Importância dos programas de educação e motivação para higiene bucal em escolas: