

**EDUARDO GRIGOLLO PATUSSI**

**Avaliação da dureza do esmalte de dentes  
decíduos, expostos a dois sucos de laranja  
industrializados: estudo *in vitro*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração Odontopediatria.

**ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Santos Almeida**

**Florianópolis – SC**

**2003**

**EDUARDO GRIGOLLO PATUSSI**

**Avaliação da dureza do esmalte de dentes decíduos, expostos  
a dois sucos de laranja industrializados: estudo in vitro.**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Odontopediatria, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 04 de dezembro de 2003.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Santos Almeida

– Professor Orientador –

Prof. Dr. Mauro Amaral Caldeira de Andrada

– Coordenador do Curso –

Apresentada perante a banca examinadora, composta pelos professores:

Prof. Dr. David Rivero Tames

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Santos Almeida

Prof. Dr. Ricardo de Sousa Vieira

*Pai e Mãe, a vocês, minha gratidão é, e sempre será, muito especial. Obrigado pelo constante incentivo, apoio, e, por muitas vezes, acreditarem em mim mais do que eu mesmo podia fazê-lo. Isso foi fundamental.*

*Ana Elisa que, mesmo longe, em todos os momentos soube estar ao meu lado, demonstrando seu imenso amor a cada dia.*

*... A vocês dedico este trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

Necessário se faz registrar minha sincera consideração àqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este projeto se transformasse em realidade.

Em especial, agradeço:

- ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Área de Concentração Odontopediatria, pela oportunidade de um estudo gratuito e de qualidade ímpar;
- à minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Izabel Cristina Santos Almeida, cuja sabedoria foi determinante para o êxito desta caminhada;
- aos Professores da Disciplina de Odontopediatria da Universidade Federal de Santa Catarina: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Izabel Cristina Santos Almeida, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Joeci Oliveira, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria José Carvalho Rocha, Prof. Dr. Ricardo de Sousa Vieira e Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vera Lúcia Bosco, minha gratidão e profundo orgulho por me transmitirem, de forma exemplar, seus valiosos conhecimentos;
- à Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, pelo incentivo a minha qualificação, em especial aos professores da Disciplina de Odontopediatria, a quem devo meus primeiros passos nesta caminhada: Berenice Perussolo, Bruno R. Patussi, Darci Franciosi (*in memoriam*) e Eloísa Helena Corrêa Brusco;
- aos colegas e amigos do Mestrado, nossa breve convivência foi, sem dúvida, um grande aprendizado. Agradeço, em especial à Cláudia, minha dupla de clínica, por me ensinar muito do que hoje sei, e à Catherine, cujo companheirismo e amizade foram decisivos nas várias etapas desta dissertação;
- à Carolina Covolo da Costa, pela inestimável ajuda nas diversas fases desta pesquisa, contribuindo de forma única para este trabalho;

- ao Laboratório de Química e Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, em particular à Prof. Dra. Roseane Fett, à Msc. Melissa Raymundo, às acadêmicas de Engenharia de Alimentos Denise Sayuri Miyamura e Elaine Virmond, que contribuíram para o início desta pesquisa;
- ao Laboratório de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina, por disponibilizar os equipamentos necessários para esta pesquisa, e em especial ao funcionário Lauro, que prestou muita ajuda durante as horas de laboratório;
- à psicóloga Rosamaria Areal, pela transmissão de suas valiosas experiências com crianças;
- aos demais professores que ministraram aulas no decorrer do Mestrado, muito obrigado por expandir meus conhecimentos a outras áreas;
- a todos os servidores da Universidade Federal de Santa Catarina, pela prontidão e pelo profissionalismo nos favores dispensados, em especial às secretárias da Odontopediatria, Ivalda Delorme dos Santos e Elizabete Caldeira de Andrada;
- a toda minha família, irmãs, cunhados e sobrinhos, pelo carinho sempre manifesto;
- a todos meus amigos, pela amizade e pelo companheirismo desfrutados ao longo destes anos.

## LISTA DE FIGURAS

1.	Marcas seleccionadas de suco de laranja: All Day e Yes.....	41
2.	a) Limpeza dos dentes com taça de borracha e água deionizada. b) Estereomicroscópio. c) Seleção de dentes livres de cárie e defeitos estruturais.....	41
3.	a) Dente com remanescente radicular. b) Remoção do remanescente radicular com lixa d'água. c) Assoalho do dente planificado.....	42
4.	a) Dente colado nos dispositivos para a máquina de corte. b) Corte do dente no sentido méso-distal. c) Separação da porção mesial da distal.....	42
5.	a) Fixação da porção de esmalte em fita dupla face. b) Posicionamento do molde (bucha) de PVC. c) Inclusão da resina de poliéster com o auxílio de uma seringa plástica.....	43
6.	a) Planificação da base com lixa 100. b) Lixamento da superfície do esmalte com lixas de 600 a 2000. c) Polimento da superfície do esmalte com feltro e pasta de alumina.....	44
7.	a) Espécime posicionado sobre cera nº 7 e base acrílica. b) Espécime posicionado na prensa. c) Espécime pronto para a leitura no microdurômetro.....	45
8.	a) Microdurômetro montado com ponta Knoop. b) Desenho esquemático da fatia de esmalte: posição inicial do cursor do microdurômetro e direção de deslocamento. c) Desenho esquemático em maior aumento: a partir da borda externa (limite com a resina), espaçamento de 100µm entre as indentações.....	46
9.	Imersão dos espécimes no suco de laranja.....	48
10.	Desenho esquemático das indentações finais, feitas 100µm abaixo das iniciais e espaçadas em 100µm uma da outra.....	49
11.	Dureza inicial dos espécimes, de acordo com o grupo.....	52
12.	Variação da dureza dos espécimes, antes (azul) e após os procedimentos experimentais (vermelho).....	53
13.	Dureza do esmalte decíduo antes (azul) e após os procedimentos experimentais (vermelho), de acordo com o grupo: Grupo 1 - Yes 5'; Grupo 2 - All Day 5'; Grupo 3 - 3 Yes 15'; Grupo 4 - All Day 15'; Grupo 5 - Saliva artificial.....	54

14. Variação ocorrida na dureza do esmalte decíduo após a imersão no suco de laranja, de acordo com o grupo: Grupo 1 - Yes 5'; Grupo 2 - All Day 5'; Grupo - 3 Yes 15'; Grupo 4 - All Day 15'. A redução percentual da dureza foi  $G3 > G4 > G1 = G2$ , com  $p < 0,05$ ..... 55

## LISTA DE QUADROS

1.	Grupos experimentais.....	47
2.	Composição da saliva artificial (g/l).....	47
3.	Valores do pH e grupos estatísticos, considerando $p < 0,05$ .....	74
4.	Valores da capacidade tampão e grupos estatísticos, considerando $p < 0,05$ .....	75



## LISTA DE TABELAS

1.	Valores do pH e da capacidade tampão das 32 marcas comerciais avaliadas.....	40
2.	Médias da dureza inicial dos espécimes de esmalte decíduo, de acordo com o grupo.....	51
3.	Variação da dureza dos espécimes de esmalte decíduo após os procedimentos experimentais.....	52

PATUSSI, E.G. **Avaliação da dureza do esmalte de dentes decíduos, expostos a dois sucos de laranja industrializados**: estudo *in vitro*. Florianópolis, 2003. 75p. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria). Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

---

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi o de investigar, *in vitro*, a ação de dois sucos de laranja, com pH semelhantes e capacidades tampão diferentes, sobre o esmalte de dente decíduo. Para isso, 175 espécimes de esmalte foram confeccionados e divididos aleatoriamente em 5 grupos: quatro experimentais e um controle. No grupo 1, os espécimes foram imersos no suco com a capacidade tampão mais elevada, durante 5 minutos, enquanto no grupo 2, utilizou-se o suco com capacidade tampão mais baixa, não variando o tempo. Já nos grupos 3 e 4, o tempo foi aumentado para 15 minutos, seguindo-se a mesma seqüência em relação ao tipo de suco. Os espécimes foram expostos aos sucos três vezes por dia, durante cinco dias, sendo que nos intervalos e à noite, eram mantidos em saliva artificial. A temperatura dos sucos foi controlada entre 1 e 10°C e, durante as exposições e os intervalos, os espécimes foram mantidos em estufa biológica a 37°C. Para se estimar a perda mineral ocorrida no esmalte decíduo, determinou-se a sua dureza antes e após a etapa experimental. A dureza inicial média observada foi de 334KHN (Knoop Hardness Number), não havendo diferença significativa entre os grupos. Ao final dos cinco dias, todos os espécimes apresentaram diminuição na sua dureza, sendo que a redução foi: grupo 3 (40%) > grupo 4 (30%) > grupo 1 (21%) = grupo 2 (17%), com  $p < 0,05$ . Portanto, ambos os sucos, independentemente do tempo e da capacidade tampão, foram capazes de desmineralizar o esmalte decíduo. Contudo, em cinco minutos, não se observou diferença estatisticamente significativa entre as duas bebidas. Essa variação somente foi observada no tempo de 15 minutos, sugerindo que um suco com uma capacidade tampão mais elevada possui um potencial erosivo mais severo sobre o esmalte dentário.

**Palavras-chave:**

- Erosão
- Suco de laranja
- pH
- Capacidade tampão
- Esmalte decíduo
- Dureza

PATUSSI, E.G. **Avaliação da dureza do esmalte de dentes decíduos, expostos a dois sucos de laranja industrializados**: estudo *in vitro*. Florianópolis, 2003. 75p. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria). Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

---

## ABSTRACT

The objective of this study was to investigate, *in vitro*, the action of two orange juices, with similar pH and different buffer capacity, on the primary tooth enamel. For this, 175 enamel specimens were prepared and randomly divided into 5 groups: four experimental and one control. In group 1, the specimens were immersed in the juice with higher buffer capacity, for 5 minutes, while in group 2, the juice utilized had lower buffer capacity, and the time was not changed, in groups 3 and 4, the time was increased to 15 minutes, following the same sequence about the type of juice. The specimens were exposed three times a day, for five days, so that at intervals and at night, they were maintained in artificial saliva. The temperature of the juices was controlled between 1 and 10°C, as well as during the expositions and at the intervals, the specimens were maintained in biologic heater at 37°C. To estimate the mineral loss occurred in the deciduous enamel, was determined its hardness before and after the experimental stage. The mean initial hardness was 334KHN (Knoop Hardness Number), and there was no statistically significant difference between the groups. At the end of five days, all specimens showed loss in hardness, so that reduction was: group 3 (40%) > group 4 (30%) > group 1 (21%) = group 2 (17%), with  $p < 0,05$ . Therefore, both juices, independent of time and buffer capacity, were able to demineralize the deciduous enamel. However, in five minutes, was not observed statistically significant difference between the two juices. This variation was just observed at fifteen minutes, suggesting that the juice with higher buffer capacity has a more severe erosive potential on the enamel tooth.

**Keywords:**

- Erosion
- Orange juice
- pH
- Buffer capacity
- Deciduous enamel
- Hardness

# SUMÁRIO

Lista de Figuras .....	vi
Lista de Quadros .....	viii
Lista de Tabelas .....	ix
Resumo .....	x
Abstract .....	xii
INTRODUÇÃO .....	15
1 REVISÃO DA LITERATURA .....	17
1.1 Estudos clínicos.....	17
1.2 Estudos <i>in vitro</i> .....	22
1.3 Modificações do potencial erosivo dos alimentos .....	34
2 PROPOSIÇÃO .....	37
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	38
3.1 Procedimentos prévios .....	38
3.1.1 Seleção dos sucos de laranja .....	38
3.1.2 Confecção dos espécimes de esmalte de dente decíduo .....	41
3.1.3 Determinação da dureza inicial dos espécimes de esmalte de dente decíduo .....	45
3.2 Etapa experimental .....	46
3.2.1 Formação dos grupos .....	46
3.2.2 Exposição dos espécimes de acordo com seu grupo experimental .....	47
3.2.3 Determinação da dureza final .....	49
3.3 Análise estatística .....	49
4 RESULTADOS .....	51
5 DISCUSSÃO .....	57
CONCLUSÃO .....	67
REFERÊNCIAS .....	68
APÊNDICE A – Tratamento estatístico dos valores de pH e capacidade tampão dos sucos de laranja .....	73

## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, em alguns grupos populacionais, a doença cárie tem mostrado redução em sua prevalência, ao contrário das lesões erosivas, que têm sido observadas em indivíduos de todas as faixas etárias, inclusive nos de pouca idade. Isso tem acontecido, entre outros fatores, pelas mudanças nos hábitos alimentares da população mundial, que passou a consumir mais produtos industrializados, entre eles, refrigerantes e sucos de frutas, muitas vezes, já no primeiro ano de vida (NUNN, 2003).

A erosão dentária representa a perda mineral de dentes quando a superfície é atacada por ácidos ou quelantes, de forma patológica, crônica, indolor, e sem o envolvimento bacteriano (IMFELD, 1996a).

O esmalte erosionado mostra-se sem brilho, fosco, com degraus e concavidades. As cúspides encontram-se arredondadas e algumas concavidades alcançam a dentina, bem como, em dentes restaurados, os limites do material restaurador estão acima da superfície dentária subjacente (LUSSI, JAEGGI E JAEGGI-SCHÄRER, 1995).

Os estudos epidemiológicos têm evidenciado que a maioria dos casos de erosão dental está vinculada ao consumo excessivo de refrigerantes e de alimentos ácidos, principalmente aqueles formulados a partir de frutas cítricas, entre eles, o suco de laranja (LUSSI et al, 1991).

Quando um suco de laranja, ou outra bebida ácida é ingerida, ocorre uma queda no pH bucal, normalmente neutro, e quando esse atinge valores entre 5.5 e 4.5, ocorre uma subsaturação dos fluidos bucais em relação à hidroxiapatita e supersaturação em relação à fluorapatita, de modo que somente a hidroxiapatita é dissolvida e a fluorapatita se deposita sobre a superfície do esmalte, resultando em uma lesão subsuperficial do tipo cárie. Por outro lado, abaixo de 4.5, o fluido bucal torna-se subsaturado em relação a ambas apatitas, as quais se dissolvem simultaneamente, camada por camada, resultando em lesão erosiva. Conforme o pH se neutraliza, ou se eleva a valores superiores a 6.0, os fluidos bucais apresentam-se supersaturados novamente, ocorrendo o processo inverso, voltando o esmalte a incorporar os íons perdidos. Assim, quanto maior for o tempo e quanto

mais ácido for o pH bucal, maior será a quantidade de apatita dissolvida (LARSEN, 1990 e 1991; THYLSTRUP e FEJERSKOV, 1995).

Dentre os sucos de frutas que são produzidos industrialmente, o suco de laranja é um dos sabores mais consumidos em todo o mundo, inclusive por crianças de idade muito baixa, sendo, em algumas vezes, disponibilizado em mamadeiras e durante o período noturno, o que determina um aumento do risco de causar erosão nos dentes.

Além disso, os estudos sobre seus constituintes e seus efeitos sobre os dentes reforçam a idéia de que o suco de laranja representa uma das bebidas com mais fatores de risco para o desenvolvimento de erosão dentária. Isso decorre pelo fato de que seu principal constituinte é o ácido cítrico, considerado um dos ácidos mais erosivos aos dentes; devido ao seu efeito quelante (MILLWARD et al, 1994); por possuir um pH médio que varia em torno de 4.0, abaixo do crítico para a desmineralização dentária (AMAECHI, HIGHAM e EDGAR 1999b); como também por apresentar uma das maiores capacidade tampão, dentre vários sucos de fruta (GOUVEIA, 1999). Em consequência, o ambiente bucal permanece ácido por mais tempo, proporcionando lesões mais profundas, correspondente àquelas produzidas por uma bebida com um ponto a menos no pH (LARSEN e NYVAD, 1999).

Desse modo, este estudo tem por objetivo contribuir para a avaliação, *in vitro*, da ação que dois sucos de laranja, com pH semelhantes e capacidades tampão diferentes, exercem sobre o esmalte dentário decíduo, considerando-se a variação observada em sua dureza em dois períodos de exposição.



# 1 REVISÃO DA LITERATURA

A erosão dentária representa a dissolução química dos tecidos duros dos dentes, expostos a um ambiente ácido, sem que haja o envolvimento bacteriano. A acidez presente no meio bucal pode ser proveniente tanto de fontes externas como do próprio organismo.

Nesse sentido, compilaram-se alguns estudos, seguindo a norma 10520 da ABNT de 2002, com o intuito de esclarecer as variáveis e os fatores que influenciam no processo erosivo, sobretudo os relacionados ao suco de laranja e à população infantil. E, com a finalidade de favorecer a compreensão desta revisão, eles foram agrupados, de acordo com a linha de pesquisa, em estudos clínicos, estudos *in vitro* e modificações do potencial erosivo dos alimentos.

## 1.1 Estudos clínicos

Järvinen, Rytöma e Heinonen (1991) realizaram um estudo de caso-controle, investigando os fatores que têm influência na erosão dental. Esse projeto envolveu 106 indivíduos com erosão dentária e 100 indivíduos da mesma população, como controle, sendo igualmente divididos quanto ao sexo. Todos os indivíduos foram questionados quanto à história médica e alimentar e, posteriormente, coletaram-lhes a saliva, estimulada e não-estimulada, para verificação do fluxo, do pH, da capacidade tampão, da quantidade de cálcio, fosfato e flúor. Observaram que o nível de cálcio e fosfato presentes na saliva dos indivíduos com erosão era menor do que os do grupo-controle, ainda que sem comprovação estatística da associação entre essa quantidade iônica e a erosão. Entretanto, uma pessoa com baixo fluxo salivar, menor que 0,1ml/l, possui cinco vezes mais risco de erosão dentária do que uma com fluxo normal. Como também houve um considerável risco de erosão quando frutas cítricas eram comidas mais que duas vezes por dia.

Millward, Shaw e Smith (1994) realizaram um estudo com 178 crianças de quatro anos de idade, no qual avaliaram a correlação entre a prevalência de erosão dentária com fatores socioeconômicos. Observaram que, aproximadamente, 50% das crianças apresentavam lesões erosivas, sobretudo na superfície palatina dos

incisivos superiores, sendo 30% delas com exposição dentinária. Com relação ao nível socioeconômico, as crianças pertencentes a um padrão mais elevado apresentaram um maior número de lesões erosivas, das quais 25% envolviam a dentina. Essa variação foi atribuída aos diferentes padrões de alimentação, visto que possuíam um maior acesso a refrigerantes e a sucos de frutas. Entretanto, observaram que essas mesmas crianças apresentavam melhores padrões de higiene bucal, fato que pode ter acelerado o desgaste.

Millward et al (1994) examinaram 101 crianças, para verificar a correlação entre hábitos alimentares com desgastes dentários. Observaram que 80% dos incisivos superiores e 30% dos primeiros molares apresentaram, pelo menos, alguma evidência de desgaste, sendo que, em 21 casos, a erosão era suave, em 45 moderada e, em 35 severa. Ainda, comprovaram haver, entre esses três grupos, uma alta diferença estatística em relação à quantidade de bebidas ácidas ingeridas semanalmente. Além disso, quando consumidas durante a noite e em mamadeiras, 14% apresentavam erosão leve, 32%, erosão moderada e 60%, erosão severa. Concluíram que é importante identificar as crianças que apresentam evidências clínicas de erosão dentária e aconselhá-las sobre o consumo adequado de bebidas ácidas.

Em um levantamento epidemiológico sobre a saúde bucal de 17.061 crianças inglesas em 1993, Downer (1995) observou um declínio dos níveis de cárie dentária em relação a estudos anteriores. Por outro lado, constatou um aumento da prevalência de erosão dentária, especialmente nos dentes decíduos, sendo que, mais da metade das crianças, entre os 5 e 6 anos de idade, apresentavam alguma lesão erosiva com, pelo menos, 25% envolvendo a dentina. Por sua vez, 25% das crianças com mais de 11 anos, também mostravam lesões erosivas na dentadura mista, sendo 2% com envolvimento dentinário.

Do mesmo modo, Jones e Nunn (1995) investigaram as patologias que afetavam os tecidos duros de dentes decíduos em 135 crianças de 3 anos de idade, no distrito de East Cumbria, Reino Unido. Observaram uma redução na prevalência de cárie e um aumento na prevalência de lesões erosivas, de modo que 28,9% das crianças avaliadas apresentavam lesões erosivas que afetavam principalmente a superfície palatina dos dentes anteriores superiores.

Bashir e Lagerlöf (1996) avaliaram se o tempo de eliminação do ácido cítrico pela saliva influenciava no grau de saturação salivar de hidroxiapatita. Dez

indivíduos bochecharam 10ml de uma solução de ácido cítrico a 2% (pH 2.1), por 5 segundos. Eles coletaram a saliva antes do bochecho e após 1, 2, 5, 10 e 15 minutos, e verificaram o pH e a quantidade de cálcio e fosfato. Observaram que o pH salivar caiu de  $7.21 \pm 0.40$  inicial para um mínimo de  $6.46 \pm 0.88$  em 1 minuto, e, após 5 minutos, estava próximo ao inicial, valor que foi alcançado somente após 15 minutos. Revelaram que a saliva se apresentava, em média, supersaturada em todos os indivíduos e, após o bochecho, ela se tornou subsaturada, restabelecendo sua quantidade de cálcio e de fosfato após 5 minutos. Observaram uma grande variação individual, visto que, em três pessoas, a saliva apresentava-se subsaturada em 10 minutos e, em uma delas, em 15 minutos. A correlação entre a eliminação do ácido cítrico em 1 minuto e o mínimo grau de saturação em 1, 2, 5 minutos após o bochecho foi significativa, o que os levou a concluir que o bochecho com ácido cítrico causa uma queda na saturação de hidroxiapatita, presente na saliva.

Millward et al (1997) investigaram o potencial do ácido cítrico a 1% em estimular o fluxo salivar da glândula parótida e provocar quedas de pH nas superfícies palatais de incisivos e primeiros molares superiores de voluntários. Verificaram que o pH inicial, em torno de 6.0, baixou, após 1 minuto, para 2.0 a 3.0, levando 2 minutos para se elevar acima de 5.5 na região dos incisivos e 4 a 5 minutos, na região de molares. O aumento máximo do fluxo salivar ocorreu 1 minuto após a ingestão, retornando aos níveis normais dentro de 6 minutos. Sendo assim, os autores concluíram que o fluxo salivar estimulado promove a remoção e a neutralização do ácido na superfície dentária, em períodos de tempo relativamente curtos.

West et al (1998) realizaram um estudo cruzado, controlado com placebo e cego, cujo objetivo foi mensurar a erosão causada *in situ* por suco de laranja. Selecionaram dez indivíduos saudáveis que utilizaram aparelhos intrabucais contendo amostras de esmalte, e ingeriram suco de laranja ou água (controle negativo), quatro vezes por dia, num período de 15 dias. O tempo de cada ingestão foi de 10 minutos, e o volume, 250ml, sendo que, durante a noite, e entre as refeições, os aparelhos eram mantidos em solução salina isotônica. Diariamente, mediam a variação mineral de acordo com a profundidade da lesão e, ao final dos 15 dias, verificaram a microdureza Vickers das amostras de esmalte nas áreas expostas e não-expostas. Realizaram a mesma investigação num experimento *in vitro*, expondo dez amostras de esmalte, por 10 minutos, em 250ml de suco, quatro

vezes por dia, durante 15 dias, sendo que, nos intervalos e no período noturno, eram mantidas em solução salina isotônica. Tanto no experimento *in situ* quanto no *in vitro*, observaram que a água não promoveu alterações no esmalte, em oposição à progressiva perda do seu conteúdo mineral, quando exposto ao suco de laranja. Entretanto, os experimentos distinguiram-se estatisticamente quanto aos resultados, sendo que um maior grau de erosão foi observado *in vitro* tanto na análise da profundidade quanto da dureza. Os autores concluíram que isso ocorreu devido à ausência da película salivar, que funcionava tamponando o suco de laranja, e remineralizando as estruturas dentárias, fato ocorrido no estudo *in situ*, além do que as amostras permaneceram em contato direto, por 10 minutos, com a bebida, fato que normalmente não ocorre na cavidade bucal.

Hunter et al (2000a) verificaram, *in situ*, a diferença de susceptibilidade de dentes decíduos e permanentes sofrerem erosão quando expostos ao suco de laranja. Confeccionaram aparelhos removíveis superiores, contendo quatro espécimes dentários (dois de dentes permanentes e dois de dentes decíduos), os quais foram utilizados por 16 pessoas que ingeriram, durante 10 minutos, 250ml de suco, quatro vezes por dia, num período de 15 dias. Após duas ingestões, dois espécimes, um de permanente e um de decíduo, foram removidos e colocados em solução isotônica. O esmalte e a dentina que compunham a amostra foram analisados, e os autores observaram que a erosão foi progressiva conforme o aumento da frequência de ingestão do suco tanto no esmalte quanto na dentina. Entretanto, o esmalte decíduo mostrou-se mais susceptível à erosão que o permanente, embora essa diferença tenha sido significativa somente para aqueles espécimes expostos quatro vezes por dia. Concluíram que, com o aumento da frequência de ingestão do suco de laranja, existiu uma diferença entre a susceptibilidade de dentes decíduos e permanentes à erosão.

O'Sullivan e Curzon (2000a) compararam, através de um estudo de caso-controle, a alimentação de crianças com erosão dentária, com cárie-ativa e livres de doenças bucais. Para isso, solicitaram o diário alimentar de 103 crianças conforme o grupo, verificando o tipo, a frequência e o tempo em que mantinham alimentos e bebidas ácidas na boca. Os autores observaram que as crianças com erosão dentária consumiam significativamente mais alimentos ácidos do que as outras, principalmente refrigerantes e sucos de fruta. Além disso, 43% delas tinham o hábito de manter as bebidas ácidas por prolongados períodos no meio bucal.

Em outro estudo de caso-controle, O'Sullivan e Curzon (2000b) mediram o fluxo salivar, a capacidade tampão e a quantidade de estreptococos mutans em 103 crianças com suspeita de erosão, com idade entre 3 e 16 anos, e compararam-nos com dois grupos-controle: um, livre de cárie e outro, cárie ativo, a fim de estabelecer quais fatores eram importantes na erosão dentária. Os resultados mostraram diferenças significativas para a contagem dos estreptococos mutans: grupo erosão > grupo cárie ativo > grupo livre de cárie. Quando consideraram o pH da saliva estimulada e não-estimulada: grupo livre de cárie > grupo cárie ativo > grupo erosão. Para a capacidade tampão: 47% das crianças do grupo erosão apresentaram baixa capacidade tampão. Esses resultados sugerem que, embora os indivíduos com erosão tenham experiência de cárie similar ao grupo de indivíduos livre de cárie, suas características salivares são mais parecidas com as daqueles que apresentam atividade cáriesa, além de que o pH da saliva não-estimulada abaixo de 6.5 e a baixa capacidade tampão aumentam o risco de erosão dentária, em cinco e em duas vezes, respectivamente.

Para Anderson, Hector e Rampersad (2001), a concentração de cálcio e fosfato na saliva possui significativa influência nos processos de perda mineral dentária, entre eles, a erosão dental. Uma baixa concentração de cálcio diminui as forças termodinâmicas nos processos de remineralização, e as aumenta nos casos de desmineralização, como também eleva o pH crítico para a dissolução de hidroxiapatita. Para comprovar, os autores realizaram um experimento, *in vivo*, analisando a saliva de 15 crianças e de 15 adultos, através do cálculo do fluxo salivar, da concentração de cálcio e fosfato, do pH crítico para a desmineralização do esmalte, e do grau de saturação iônica da saliva em relação à hidroxiapatita nos valores de pH 4.0 e 7.0. Eles observaram que as crianças apresentaram menores concentrações de cálcio que os adultos, contudo, a quantidade de fosfato não diferiu significativamente. O pH crítico foi maior nas crianças do que nos adultos, sendo que, abaixo de 6.0, verificaram que começava a ocorrer desmineralização. Comprovaram, além disso, que elas apresentaram maiores índices de desmineralização num baixo pH (4.0), como também menores padrões de remineralização num pH neutro (7.0). Concluíram, dessa forma, que as crianças apresentam um risco à erosão dentária consideravelmente maior que os adultos.

Nunn et al (2003) investigaram, através de uma revisão sistemática, as mudanças da prevalência de erosão dentária em crianças e em adolescentes, como

também procuraram relacioná-la com seus fatores etiológicos. Para comparação, utilizaram dados estatísticos de 1993, com crianças inglesas de até cinco anos, e de 1996/7, com aquelas de idade entre quatro e 18 anos. Observaram que houve um aumento da incidência de lesões erosivas em todas as faixas etárias, porém com mais expressividade em crianças de três e quatro anos, cujo consumo de refrigerantes e sucos de frutas cítricas era acentuado, principalmente no período noturno.

## 1.2 Estudos *in vitro*

Larsen (1975) avaliou o pH e a concentração de cálcio, fosfato e flúor em refrigerantes e sucos de frutas, entre eles, o suco de laranja. No estudo, salientou que todas as bebidas apresentaram acidez abaixo do crítico para desmineralização dentária e concentração iônica abaixo da concentração das apatitas, fatos que explicam o condicionamento ácido da superfície dentária, provocado por estas bebidas.

Fuller e Johnson (1977) observaram que o ácido cítrico, presente no suco de laranja, proporciona uma desmineralização duas vezes mais acentuada que os ácidos hidrolórico e nítrico. Atribuíram essa ação a sua alta concentração do íon hidrogênio e do tipo de reação que ocorre quando ele entra em contato com a superfície dentária, uma vez que tem afinidade por cálcio, dissolvendo-o e formando um sal de citrato de cálcio.

Smith e Shaw (1987) conduziram um estudo *in vitro*, para verificar os efeitos de sucos de frutas sobre esmalte decíduo. Para isso, mediram o pH de sucos, puro e diluído (1:10), dos sabores maçã e pêra, com pH 3.22 (puro) e 3.64 (diluído), e maçã e laranja, com pH 3.65 (puro) e 4.12 (diluído). Quatro dentes decíduos foram cobertos com esmalte de unha, exceto em uma janela de 4x4mm, e expostos ao suco puro por 15 horas consecutivas e à temperatura ambiente. As superfícies desprotegidas mostraram-se esbranquiçadas, opacas e irregulares, em relação ao esmalte adjacente íntegro, sendo também observada uma zona translúcida abaixo da superfície erosionada. Além do experimento laboratorial, os autores descreveram um caso clínico de uma criança de 2 anos e 11 meses, com lesões erosivas em todos os dentes, mais pronunciadas na superfície palatina dos dentes anteriores

superiores, supostamente vinculadas ao excessivo consumo de sucos de fruta, que eram oferecidos em mamadeiras e à noite. Concluíram que, devido à menor espessura do esmalte, as lesões erosivas são mais danosas aos dentes decíduos do que aos permanentes, e mesmo que sejam feitas diluições nas bebidas, o efeito quelante dos ácidos orgânicos deve ser considerado. Por tal razão, salientaram a importância da instrução dos responsáveis quanto ao controle do consumo desses sucos, principalmente no período noturno e em mamadeiras.

Grenby et al (1989) examinaram, *in vitro*, a composição e as propriedades erosivas de oito bebidas diferentes, freqüentemente consumidas pela população inglesa, entre elas, o suco de laranja. Para tanto, inicialmente verificaram o pH e a acidez titulável e, posteriormente, pulverizaram 0,01g de hidroxiapatita em 10ml de cada bebida, e após 2, 4, 6 ou 24 horas, verificaram a quantidade de cálcio e fósforo dissolvidos. Os sucos de frutas cítricas mostraram as piores ações erosivas sobre os dentes, e a acidez titulável foi tida como o melhor guia para se chegar a esse resultado.

Meurman et al (1990) verificaram, *in vitro*, a ação de bebidas, contendo ácido cítrico ou malêico em sua composição, sobre o esmalte dentário bovino. Inicialmente, estabeleceram os valores iniciais do pH, cujo valor foi de, aproximadamente, 3.0 para o ácido cítrico e 5.9 para o málico, e determinaram a erosão, através da variação na dureza dos espécimes e pela análise em microscopia eletrônica. Concluíram que o pH mais baixo, observado no ácido cítrico, foi significativo na diminuição da dureza do esmalte e na dissolução de hidroxiapatitas.

Para Arends e Ten Bosch (1992), dentre as técnicas propostas para mensurar os efeitos dos alimentos sobre os tecidos dentários, a durometria vem sendo muito utilizada no decorrer dos anos. Essa técnica consiste em verificar a dureza do espécime dentário, através de indentações com pontas Knoop ou Vickers, antes e após a exposição ao alimento que se está testando. A dureza do dente é capaz de prever, qualitativamente, o quanto de mineral há em sua composição, visto que não informam a quantidade exata de perda ou de ganho mineral. Mesmo não fornecendo esses valores, existe uma correlação linear entre os dados fornecidos pelos testes de dureza e o conteúdo mineral do esmalte determinado através de microrradiografias (FEATHERSTONE, 1983), além de que, para Ten Cate (1994), a dureza do esmalte depende diretamente do conteúdo mineral presente na amostra, bem como do arranjo cristalino de seus prismas. De acordo com Meredith et al

(1996), a dureza normal do esmalte dentário permanente varia num intervalo entre 272 e 440 KHN (Knoop Hardness Number), valor que, segundo Maupomé et al (1999), não difere significativamente da dureza dos dentes decíduos.

Lussi, Jäeggi e Schärer (1993) analisaram o potencial erosivo de bebidas e alimentos através de dois métodos, a permeabilidade iônica e a microdureza superficial. Para caracterizar a bebida ou o alimento, determinaram o conteúdo de fosfato, cálcio e fluoreto, o pH, a acidez titulável em pH 5.5 e 7.0 e a capacidade tampão para elevar o pH até 5.5. Avaliaram 12 produtos, entre eles: sucos de fruta (uva, maçã e laranja), dois tipos de bebidas esportivas, refrigerantes (Coca-Cola e Sprite Ligth), leite, iogurte, lactato, vinho branco e molho para salada. Dez blocos de esmalte foram imersos em 5ml de cada produto por 20min, sob constante agitação. A permeabilidade iônica e a microdureza superficial (indentação Knoop, com carga de 50g) foram verificadas antes e após os tratamentos. A microdureza inicial dos blocos de esmalte variou entre  $43.57 \pm 0,34 \mu\text{m}$  e  $45,33 \pm 0,61 \mu\text{m}$ . Os resultados mostraram que a maior queda na microdureza foi observada no Sprite Light ( $16,86 \pm 5,56 \mu\text{m}$ ), seguidas do suco de uva, maçã e molho de salada e, no caso da permeabilidade iônica, o maior aumento foi observado no suco de uva, seguido do suco de maçã. A análise de regressão múltipla mostrou que a capacidade erosiva das diferentes bebidas, dos sucos e dos alimentos está associada à sua acidez, à capacidade tampão, ao conteúdo de fosfato e fluoretos, bem como ao valor inicial da microdureza e à permeabilidade iônica.

O objetivo do estudo de Lussi, Jaeggi e Jaeggi-Schärer (1995) foi o de investigar se o potencial erosivo de bebidas poderia ser predito através de sua composição, verificando o seu pH, a sua capacidade tampão, a quantidade de flúor e de fosfato. Blocos de esmalte de pré-molares foram preparados e imersos em 15ml de bebida, por 20min. A microdureza superficial inicial e final foram verificadas com indentações Knoop, com uma carga de 50g, e espaçadas em  $50\mu\text{m}$  uma da outra. Os valores médios da microdureza variaram entre  $44,3 \pm 0,3 \mu\text{m}$  e  $46,1 \pm 0,9 \mu\text{m}$ . Mais uma vez, esses autores não observaram os piores resultados com o suco de laranja, visto que, neste caso, o suco de maçã mostrou o maior decréscimo na dureza superficial ( $15,4 \pm 2,6 \mu\text{m}$ ). O suco de laranja foi a bebida que apresentou a maior capacidade tampão dentre as avaliadas, tendo um pH inicial de 3.77. O desvio médio entre a erosão predita e a erosão real foi de 7,1%, sugerindo que,



através da análise de quatro parâmetros químicos na bebida, pode-se prever o potencial erosivo, com uma acuidade de 93%. Para os autores, isso pode ser útil às indústrias no preparo de bebidas com um mínimo potencial erosivo, como também aos dentistas nas recomendações aos seus pacientes.

Maia e Modesto (1996) analisaram as possíveis alterações ocorridas na superfície de esmalte bovino, hígido ou desmineralizado, expostos à Coca-Cola, ao suco de limão diluído 1:5 e ao suco de laranja (Parmalat). Confeccionaram 40 blocos de esmalte bovino: 20, permaneceram hígidos e 20, foram artificialmente desmineralizados. Os blocos foram expostos a 50ml da bebida, por 40 minutos e à temperatura ambiente. Verificaram o pH das bebidas antes e após as imersões, e observaram que o valor não se alterou (Coca-Cola: 2.45; suco de limão: 2.32; e suco de laranja: 3.35) e demonstraram que as três bebidas são capazes de erosionar o esmalte dentário em 40 minutos, sendo que o suco de limão foi o responsável por lesões mais acentuadas, seguido pela Coca-Cola e, por último, pelo suco de laranja tanto no esmalte hígido quanto no desmineralizado, ainda que, nesse último, com uma intensidade maior.

Amaechi, Higham e Edgar (1998a) verificaram a influência da saliva artificial e do suco de laranja na erosão do esmalte de incisivos bovinos, através de microrradiografia. Os espécimes foram divididos em dois grupos, com cinco metades para cada um. Cada porção de dente foi imersa em 20ml de suco de laranja (pH 3.85), por 5 minutos, seis vezes por dia em intervalos regulares, durante 24 dias, resultando em um total de 12h de exposição ao suco. Entre os procedimentos e no período noturno (12h), os espécimes de um grupo foram mantidos em saliva artificial (pH 6.75) e os do outro, em água deionizada (pH 6.80). Todas as imersões foram feitas sob constante agitação e à temperatura ambiente (aproximadamente, 20°C). Em cada ocasião, antes e após a imersão, no suco de laranja, os dentes foram mergulhados em água deionizada. Através das microrradiografias, os autores observaram que os espécimes mantidos em água deionizada tiveram uma maior perda mineral e lesões mais profundas, quando comparados àqueles mantidos em saliva artificial. Os resultados sugerem que a saliva artificial, saturada em relação ao cálcio e ao fosfato, reduziu o grau de erosão e remineralizou a perda de mineral associada à lesão.

Johansson et al (1998) investigaram as variações da dureza de dentes decíduos e permanentes, incubados, em ácido cítrico 2%, por 30 minutos. Os

valores médios obtidos para esmalte decíduo, verificados em duas regiões-padrão, foram de 299 VHN e 317 VHN e, para os permanentes 363 VHN. Esses valores baixaram para 99, 89 e 116, respectivamente. Os autores sugerem que os dentes decíduos são mais vulneráveis às lesões erosivas do que os permanentes.

Segundo Maupomé et al (1998), os estudos estimando o potencial erosivo de refrigerantes têm empregado tempos de imersão que não descrevem corretamente o impacto da freqüência do consumo destas bebidas sobre o esmalte dentário. Nesse sentido, procuraram reproduzir três regimes de freqüências de ingestão de bebida tipo cola (pH 2.6), verificando, *in vitro*, seu efeito sobre o esmalte dentário. O estudo foi constituído por seis grupos, e os espécimes imersos (5 min por vez), com ou sem agitação, e sob três freqüências diárias de ingestão: baixa (1 imersão por dia), média (5 por dia) e alta (10 por dia), entre as imersões, nas 12 horas noturnas e no grupo-controle, os blocos ficaram armazenados em água deionizada. A verificação da superfície erosionada foi feita, ao final de um período de oito dias de imersões, usando testes de microdureza superficial. Os resultados mostraram uma leve queda da microdureza inicial ( $352,1 \pm 32,5$  VHN – Vickers Hardness Number) no primeiro dia ( $269,3 \pm 41,0$  VHN), seguida de uma constante redução, embora menos marcante, até atingir  $204,5 \pm 45,4$  VHN, no oitavo dia. O valor da microdureza caiu, independentemente da freqüência, exceto no oitavo, no qual os blocos do grupo com baixa ingestão estavam mais duros ( $233,2 \pm 25,0$  VHN) do que os do grupo de alta ingestão ( $169,8 \pm 49,5$  VHN). Os resultados da análise estatística indicaram que o papel da agitação foi significativo, mostrando valores da microdureza mais baixos para os grupos sob agitação, enquanto o nível de ingestão teve uma significância duvidosa. Ao agruparem, porém, os dois fatores, consideraram haver uma importante interação.

Tucker et al (1998) procuraram identificar, *in vitro*, a influência da composição do esmalte e da sua variação estrutural, nos processos de dissolução dentária. Utilizaram 24 dentes, incluindo superiores e inferiores, incisivos, caninos, primeiros pré-molares e terceiros molares: doze para estudos da superfície lingual/palatal e doze, para a vestibular. A superfície dentária foi recoberta com uma cera ácido-resistente, exceto em um círculo de 5mm de diâmetro. Os dentes foram expostos a ácido cítrico 1%, através de bombeamento controlado ( $100\mu\text{l}/\text{min}$ , a  $37^\circ\text{C}$ , a uma distância de 1 a 2mm), durante 5 minutos, por 4 vezes (perfazendo 20 minutos de

exposição total). Os resultados mostraram que a superfície lingual/palatina de todos os dentes foi mais susceptível à dissolução ácida, sendo que a palatina dos superiores parece ser a mais vulnerável ao ácido do que os correspondentes inferiores. A superfície palatina dos dentes superiores mostrou menor variação quanto à susceptibilidade ao ácido em relação à lingual dos inferiores e às vestibulares de ambas as arcadas, de modo que parecem ser a melhor escolha para os experimentos. Além disso, salientaram que é essencial se realizar uma cuidadosa seleção dos dentes para os estudos *in vitro*, optando-se por dentes de um mesmo grupo, minimizando, assim, as variações entre os espécimes.

Fatores como a temperatura, o tempo de exposição à bebida ácida e o tipo de esmalte, no desenvolvimento e progressão da erosão dentária, foram estudados por Amaechi, Higham e Edgar (1999a). Realizaram três experimentos, verificando a erosão causada por suco de laranja: com diferentes temperaturas do suco, com diferentes tempos de exposição e em diferentes tipos de esmalte dentário. No primeiro, blocos de esmalte bovino foram imersos em suco de laranja com temperaturas diferentes: 4°C, 20°C e 37°C, sendo expostos por 5min, 20ml por espécime, 6 vezes por dia, durante 24 dias, e entre as imersões e no período noturno (12h) eram colocados em saliva artificial, à temperatura ambiente e sob contínua agitação. No segundo experimento, a temperatura do suco foi mantida a 20°C, e a variação ocorreu na quantidade de dias do experimento, sendo 12, 16, 20 e 24 dias, totalizando 6, 8, 10 e 12 horas de exposição. E, no último experimento, a temperatura de 20°C e o período de 24 dias foram mantidos, e a variação aconteceu no tipo de esmalte, os quais foram obtidos a partir de dentes bovinos, humanos permanentes e decíduos. Os resultados observados mostraram não haver diferença estatística no pH dos sucos de laranja a diferentes temperaturas (pH  $3.85 \pm 0,05$ ), contudo, quanto mais baixa a temperatura, menor a desmineralização que ele provoca. A perda mineral e a profundidade das lesões foram diretamente proporcionais ao tempo de exposição ao suco, bem como lesões mais expressivas foram observadas em esmalte bovino, seguido do humano decíduo e do permanente, como uma variação de 2:1,5:1 em relação à perda mineral e de 1,7:1,3:1, no caso da profundidade das lesões. Desse modo, concluíram que o potencial erosivo do suco de laranja fora menos pronunciado quando as bebidas apresentavam temperaturas mais baixas, e mais elevado com o tempo de exposição. O progresso da lesão erosiva foi duas vezes mais rápido em dentes

bovinos do que em permanentes humanos e 1,5 vez mais rápida nos humanos decíduos do que a observada nos permanentes.

A pesquisa de Amaechi, Higham e Edgar (1999b) teve dois objetivos. Primeiro, demonstrar uma técnica para a produção de lesões erosivas *in vitro*, simulando condições *in vivo* e, posteriormente, verificar a influência de parâmetros salivares no grau de erosão *in vitro*. Dez dentes bovinos foram seccionados no sentido sagital em três porções iguais, e cada parte foi distribuída aleatoriamente em três grupos experimentais (A, B e C). As lesões foram produzidas através da ciclagem dos dentes entre suco de laranja e saliva artificial (A) ou água (B), ou através da imersão contínua (30 minutos por dia) no suco (C). As imersões ocorreram em um tipo de suco de laranja industrializado ( $\text{pH } 3.85 \pm 0,05$ ), sendo seis imersões de 5 minutos, em intervalos regulares, e durante 12 horas. Após um período de 24 dias, foram preparadas secções em cada espécime, e a perda mineral foi quantificada através de microrradiografia, observando-se valores significativamente menores no grupo A quando comparados com o B e o C, e maior, no B, quando comparado ao C. Concluíram que essa técnica reproduziu as condições *in vivo*, com a saliva reduzindo os níveis de erosão e possivelmente remineralizando as lesões.

Edwards et al (1999) verificaram o pH e a capacidade tampão de diversos grupos de bebidas, como bebidas carbonadas com e sem frutas, água mineral e sucos de frutas, entre eles, o de laranja. O pH mais baixo foi encontrado naquelas bebidas carbonadas sem frutas, e a maior capacidade tampão foi observada nos sucos de fruta, os quais foram considerados como os que apresentam o maior potencial erosivo sobre os dentes, uma vez que tendem, devido a sua alta capacidade tampão, a manter, por mais tempo, o meio bucal ácido.

Gouveia (1999) verificou o pH, a capacidade tampão e a concentração de flúor em sucos de frutas industrializados, dos sabores laranja, goiaba, abacaxi, pêsego, manga, damasco e maçã. Todos eles apresentaram pH abaixo do crítico para desmineralização dentária (5.5) e o teor de flúor não ultrapassou 0,527 ppm. O suco de laranja apresentou um pH de 3.46 e a maior capacidade tampão. A partir desses dados, a autora estudou, *in vitro*, o potencial erosivo do suco de laranja e a interferência da saliva artificial no mecanismo de erosão, utilizando, para isso, análise morfológica em microscopia eletrônica de varredura, testes de microdureza superficial e espectroscopia de dispersão de energia para identificação de elementos

químicos. Foram preparados 30 dentes decíduos anteriores e divididos em quatro grupos: (1) controle negativo das análises morfológicas, no qual foram utilizados cinco espécimes de esmalte sadio (polidos); (2) controle positivo das análises morfológicas, onde cinco espécimes foram incubados em suco de laranja por 50 minutos; (3) teste ciclado, submetendo dez espécimes a banhos alternados em suco (5 minutos) e em saliva artificial (15 minutos), totalizando 10 ciclos e (4) teste corrido, expondo dez espécimes ao suco, por 50 minutos consecutivos, seguido de imersão em saliva artificial por 2h30min. O teste de microdureza Vickers foi feito antes e após a etapa experimental, com uma carga de 50g, por 5s. A dureza média inicial encontrada foi de 370 VHN (Vickers Hardness Number), e o contato intermitente com a saliva (grupo 3) resultou numa erosão menos intensa em relação à exposição corrida no suco (grupo 4), apresentando uma redução de 52% (175 VHN) e 64,53% (131 VHN), respectivamente. Ressaltou que a saliva artificial não foi capaz de devolver a normalidade morfológica nem a microdureza inicial, contudo, observou a formação de uma camada de fosfato de cálcio sobre a superfície erosionada, que considerou sugestiva de ação remineralizante.

De acordo com Larsen e Nyvad (1999), a capacidade de um refrigerante ou de um suco provocar erosão no esmalte dentário depende não somente do seu pH, mas também da sua capacidade tampão, que é a habilidade da bebida em resistir a mudanças no pH. Para comprovar a afirmação, realizaram um estudo observando o pH, o efeito tampão (através da titulação com NaOH), a quantidade de cálcio, fosfato e fluoreto, em 18 bebidas dinamarquesas, como refrigerantes, sucos de fruta e águas minerais. Dentes humanos (n=54, sendo pré-molares e molares permanentes), foram expostos a 1,5 litro da bebida por 24 horas ou por 7 dias, sob constante agitação. A profundidade das lesões erosivas foi verificada através de secções longitudinais, variando de 3mm, no caso das bebidas mais ácidas e do suco de laranja fresco, a uma superfície levemente afetada, considerando-se as águas minerais. A dissolução do esmalte foi inversamente proporcional ao pH da bebida e diretamente proporcional em relação à solubilidade da apatita. O suco de laranja adicionado com 40 mmol/l de cálcio e 30 mmol/l de fosfato não provocou erosão no esmalte, uma vez que esses íons saturaram a bebida em relação à apatita. O efeito tampão do suco de laranja foi o mais alto de todas as bebidas, necessitando de mais NaOH para elevá-lo à neutralidade. Os valores de pH e da capacidade tampão foram, respectivamente: 3.84 e 107 mmol/l para o suco de laranja normal e 4.03 e

109 mmol/l para o suco de laranja adicionado de cálcio e de fosfato. Para todas as bebidas, a baixa concentração de flúor não proporcionou efeito algum. Concluíram os autores que as bebidas, com pH acima de 4.2, tiveram um efeito erosivo limitado; que o cálcio e o fosfato, adicionados ao suco de laranja, tiveram um forte efeito preventivo na erosão; que a alta capacidade tampão observada nos sucos de laranja proporcionaram lesões mais profundas, correspondendo àquelas produzidas por uma bebida com um ponto a menos no pH, sendo que parte desse potencial erosivo pode ser atribuído ao seu conteúdo de ácidos orgânicos, os quais formam complexos organo-cálcicos, que aumentam a solubilidade das apatitas. Deduziram também que, fora os sucos de laranja, nenhum efeito erosivo mensurável pode ser atribuído nem à capacidade tampão, nem ao conteúdo de cálcio, fosfato e fluoreto, e sim, ao pH da bebida. Para os sucos de laranja, a alta capacidade tampão e o alto conteúdo de cálcio e fosfato afetam a erosão significativamente.

Maupomé et al (1999) verificaram, *in vitro*, o efeito de uma bebida tipo cola sobre os esmalte dentário, decíduo e permanente, coberto com película salivar, de acordo com: o tipo de saliva – clarificada ou pura; a frequência diária de exposição à bebida – baixa (uma vez por dia), média (cinco vezes por dia) e alta (dez vezes por dia); a agitação constante dos espécimes; o tempo de incubação na saliva para a formação da película adquirida: 20min, 6 ou 24h. O experimento teve um período de oito dias, sendo que o tempo de imersão na bebida foi de 5 minutos por vez e entre elas, nas 12 horas noturnas e no grupo-controle, os blocos ficaram armazenados em água deionizada. A cada dia foram feitas duas indentações Vickers, com carga de 100g, por 15s, espaçadas em 100  $\mu$ m uma da outra. Os resultados mostraram não haver diferença na microdureza inicial entre todos os blocos, inclusive entre decíduos ( $344,2 \pm 32,4$  VHN – Vickers Hardness Number) e permanentes ( $350,8 \pm 42,4$  VHN). A microdureza do esmalte decíduo caiu para  $268,9 \pm 36,8$  VHN ao final do primeiro dia, e para  $155,2 \pm 68,6$  VHN, após o oitavo dia. No caso do permanente, ela caiu para  $315,9 \pm 39,2$  VHN ao final do primeiro dia, e para  $149,8 \pm 85,2$  VHN, após o oitavo dia. As microdurezas foram afetadas pela agitação (a agitação aumentou a desmineralização), pela frequência de incubação no refrigerante (quanto mais vezes imersos em um dia, maior foi a redução da microdureza) e pelo tipo de saliva (a saliva pura parece evitar maiores perdas

minerais que a saliva clarificada), porém não foram afetados pelo tempo de formação da película salivar, nem pelo tipo de esmalte utilizado no experimento.

Hughes et al (2000) verificaram, *in vitro*, a ação de diferentes ácidos, contidos em alimentos, sobre o esmalte dentário, como o cítrico, o málico, o lático e o cítrico adicionado de cálcio. Através da análise de espécimes expostos a esses ácidos, os autores observaram uma maior perda mineral frente às soluções mais ácidas, de modo que o ácido lático se mostrou mais erosivo que o málico e o cítrico, os quais tiveram potencial erosivo equivalentes. Em relação à adição de cálcio no ácido cítrico, observaram um decréscimo na erosão, evidenciando uma tendência desse íon diminuir a reação entre o ácido e o esmalte dentário, provavelmente por quelar o ácido antes que ocorresse a dissolução mineral. Concluíram que a erosão dentária é influenciada pelo pH, pela concentração e pelo tipo do ácido, bem como pela presença de cálcio na bebida ingerida.

Com o intuito de verificar se havia diferença entre a perda mineral de dentes decíduos e permanentes, expostos a suco de laranja, Hunter et al (2000b) realizaram um experimento, *in vitro*, com espécimes confeccionados a partir de: esmalte decíduo, dentina decídua, esmalte permanente e dentina permanente. Para cada grupo, fizeram 32 amostras; metade representando uma freqüência de duas vezes por dia e outra, de quatro vezes, sendo que o tempo de mergulho dos espécimes, no suco, foi de 10 minutos e à temperatura de 37°C, durante 15 dias. Entre as imersões e, no período noturno, as amostras eram colocadas em solução isotônica à temperatura ambiente. Nos quatro tecidos dentários, a erosão foi progressiva em função do tempo, sendo mais linear no esmalte do que na dentina. Na maioria das vezes, a erosão em esmalte foi maior nos dentes decíduos, devido ao aumento da porosidade, enquanto em dentina foi mais acentuada nos permanentes. O aumento da freqüência de exposição resultou na elevação, estatisticamente significativa e não-proporcional, da perda tecidual. Os autores concluíram que houve diferença entre dentes permanentes e decíduos quanto à suscetibilidade à erosão por suco de laranja, entretanto, sem expressividade estatística.

O objetivo do estudo de Lussi et al (2000) foi o de comparar, *in vitro*, o potencial erosivo de diferentes bebidas a alimentos sobre dentes decíduos e permanentes, através da variação da dureza Knoop. Para isso, verificaram a dureza inicial de 120 dentes, sendo 60 decíduos e 60 permanentes. Posteriormente,

imersam a amostra, por 3 minutos, a uma temperatura de 37°C, no produto a ser testado, entre eles refrigerantes, sucos de frutas, iogurtes, energético e vitamina C. Uma menor dureza foi observada nos dentes decíduos ( $322,0 \pm 17,5$  KHN – Knoop Hardness Number) em comparação aos permanentes ( $354,4 \pm 8,7$  KHN). Em ambos os grupos, o refrigerante Sprite mostrou a maior diminuição na dureza, proporcionando um decréscimo de  $27,2 \pm 17,5$  KHN para os decíduos e de  $25,9 \pm 15,6$  KHN para os permanentes. Desse modo, os autores concluíram que os dentes decíduos não são mais susceptíveis à erosão do que os permanentes.

Sobral et al (2000) verificaram o pH de frutas naturais, entre elas, limão, maracujá, acerola, morango, caju, uva, laranja, goiaba, abacaxi e manga. Um exemplar maduro de cada fruta foi transformado em suco, e o suco de caju empregado foi o industrializado da marca Parmalat. Verificaram também o pH de outras bebidas, entre elas, refrigerantes, iogurtes e vitamina C (Cebion). Fizeram três medidas consecutivas do pH de cada suco de fruta puro e, posteriormente, diluído em água potável na proporção de 1:2. Essas medidas foram feitas imediatamente após o preparo e depois de 30 minutos. No caso das demais bebidas, mediram o pH no momento da abertura da embalagem e após 30 minutos. As bebidas e os sucos analisados mostraram valores abaixo do pH crítico de dissolução da estrutura dental, sugerindo a possibilidade de favorecerem a desmineralização. O pH mais baixo foi verificado no suco de limão (pH 2.16) e o mais alto, no suco de manga (4.65). Já o suco de laranja apresentou pH 3.63. Entre as outras bebidas, o valor mais baixo foi observado na Coca-Cola (pH 2.36) e o mais alto na vitamina C (pH 4.49). A diluição desses sucos e a espera de 30 minutos não produziram grandes alterações nos valores de pH das bebidas analisadas.

West, Hughes e Addy (2000) determinaram, *in vitro*, a influência de variáveis como a temperatura, o tipo de ácido, a concentração e o tempo de exposição, no desenvolvimento do processo erosivo em espécimes de esmalte e dentina, obtidos a partir de terceiros molares não irrompidos. Em relação à temperatura, testaram o efeito do ácido cítrico a 5°C, a 35°C e a 60°C, por 10 minutos. No caso do tipo do ácido, foram testados o cítrico, o láctico, o málico e o fosfórico. Quanto à concentração, cada ácido foi testado sob duas concentrações. E, quanto ao tempo, os espécimes foram imersos, em três vezes, de 10 minutos. Os autores observaram, na perda mineral, uma intensificação da erosão nos casos de aumento



da temperatura, da concentração do ácido e do tempo de exposição. O ácido que mais causou perda mineral foi o fosfórico, provavelmente por apresentar um pH mais baixo que os demais. Sendo assim, concluíram que todas as variáveis influenciam o processo erosivo, devendo ser controladas nos estudos e nas pesquisas de natureza semelhante a essa.

Johansson et al (2001) estudaram 16 crianças sauditas, com média etária de seis anos e meio e portadoras de erosão dental, quanto à etiologia das lesões. Observaram que as lesões estão vinculadas a uma alta frequência de ingestão de bebidas e frutas ácidas. Além disso, os autores determinaram, *in vitro*, a progressão da erosão em esmalte decíduo e permanente. Para isso, imergiram os dentes em ácido cítrico a 2% (pH 2.1), num período de cinco a 30 minutos, observando que as lesões erosivas não diferiram morfológicamente entre os dois grupos dentários, entretanto, os dentes decíduos apresentaram uma perda mineral mais acentuada que os permanentes. Quando compararam as características clínicas com as laboratoriais, encontraram padrões de erosão diferentes, uma vez que a saliva protegeu o esmalte do ataque ácido. Também sugerem que os dentes decíduos são mais susceptíveis à erosão dentária que os permanentes, devido às suas características teciduais e às condições salivares das crianças, que apresentam um fluxo e uma capacidade tampão reduzidos em relação aos adultos.

Amaechi e Higham (2001) avaliaram, *in vitro*, a ação da saliva em remineralizar o esmalte com erosão, utilizando 20 incisivos bovinos, previamente desmineralizados em suco de laranja (pH 3.85), durante uma hora. Os dentes foram preparados e distribuídos aleatoriamente nos agentes remineralizantes: saliva natural clarificada, saliva artificial e solução remineralizante. Os espécimes foram mantidos nessas soluções e, ao final do período de 28 dias, os autores observaram, através de microrradiografias, que uma quantidade mineral foi adquirida pelos espécimes expostos às três soluções, porém com uma menor intensidade naqueles imersos em saliva artificial. Concluíram que as três soluções são capazes de remineralizar erosões iniciais em esmalte, nas áreas subsuperficiais, pois a superfície permaneceu imutável, devido à destruição cristalina dos prismas, necessária para que ocorresse a precipitação mineral.

Eisenburger et al (2001) avaliaram, *in vitro*, a ação da saliva artificial em remineralizar o esmalte dentário, previamente desmineralizado por ácido cítrico (pH 3.2), durante 2 horas. Os espécimes dentários foram divididos em sete grupos e

colocados em saliva artificial por 1, 2, 4, 6, 9, ou 24 horas, e em solução isotônica (controle) por 24 horas. Os autores observaram um reendurecimento parcial do esmalte após 1, 2 e 4 horas, e após 6, 9 e 24 horas, a superfície apresentava uma pequena perda mineral, sugerindo que a remineralização do esmalte foi obtida após seis horas de imersão em saliva artificial.

West, Hughes e Addy (2001) realizaram um experimento *in vitro*, cujo objetivo foi o de determinar a perda mineral em espécimes de esmalte e dentina, proporcionada pelos ácidos cítrico e fosfórico, preparados em diferentes valores de pH. E os resultados mostraram que o ácido cítrico desenvolveu maiores perdas em esmalte e dentina, devido ao seu elevado efeito quelante, independentemente dos valores do pH.

### **1.3 Modificações do potencial erosivo dos alimentos**

O potencial erosivo dos alimentos pode ser modificado, de acordo com Grenby (1996b) e Imfeld (1996b), por uma série de medidas, sendo que as mais comuns envolvem a sua suplementação com cálcio e fosfato, citrato, flúor, bicarbonatos, certos constituintes à base de leite, entre outros.

Sorvari, Kiviranta e Luoma (1998) analisaram, *in vitro*, as conseqüências da adição de flúor e ou de magnésio a uma bebida à base de ácido cítrico (pH 3.2). A suplementação foi de 15ppm de flúor, 38,5ppm de magnésio, ou a adição simultânea de ambos, à bebida cítrica, fornecida como alimento para ratos, durante um período de 42 dias. Posteriormente, os animais foram sacrificados e seus molares analisados em estereomicroscópio, tendo os autores observado que nos grupos em que o flúor foi acrescentado à bebida, a erosão foi menos severa, o que não ocorreu quando somente o magnésio foi acrescentado. Eles recomendaram, dessa forma, que as bebidas sejam suplementadas com flúor, uma vez que sua eficácia no controle das lesões erosivas foi comprovada.

Para Rath (1995) e Imfeld (1996b), a adição de baixas concentrações de flúor às bebidas ácidas ou a aplicação de agentes fluoretados de alta concentração aos dentes podem reduzir o processo erosivo, uma vez que o condicionamento do esmalte aumenta a superfície reativa, fazendo com que o fluoreto se acumule nas lesões desmineralizadas. Dessa forma, sugerem que o flúor evita a progressão da

lesão erosiva e reduz a solubilidade da superfície dentária, sendo preferíveis, nestes casos, aqueles agentes com uma concentração mais elevada.

Amaechi, Higham e Edgar (1998b) estudaram o fato de as modificações na composição do suco de laranja poderem reduzir o seu efeito erosivo sobre o esmalte dentário. Para tanto, incorporaram xilitol, flúor, ou ambos, à composição do suco de laranja, e expuseram espécimes de esmalte dentário bovino a cada formulação, seis vezes por dia, durante 5 minutos, num período de 24 dias. Entre as exposições e nas 12 horas noturnas, os espécimes eram mantidos em saliva artificial. Após o período determinado, quantificaram a perda mineral, observando que ela só foi menor no suco adicionado de xilitol e flúor juntos, quando comparado com o suco em sua formulação original. Concluíram que o xilitol e o flúor têm ação conjunta na redução do potencial erosivo do suco de laranja, uma vez que o flúor tem efeito protetor contra a desmineralização e o xilitol, efeito anti-erosivo.

Larsen e Nyvad (1999) observaram que a suplementação de cálcio ao suco de laranja reduziu o seu potencial erosivo, fato também constatado por Hughes et al (2000). Contudo, Ten Cate (2001) questionou a capacidade do fluoreto em prevenir a perda mineral nos processos erosivos, uma vez que, em tese, o flúor não tem efeito quando as superfícies dentárias estão em contato com uma solução ácida com pH abaixo de 4.0.

Para Larsen (2001), o flúor tem sido empregado como medida preventiva nos casos de erosão dentária tanto em aplicação tópica quanto dissolvido em bebidas. Com o objetivo de verificar a eficácia dessa medida, o autor realizou um experimento, *in vitro*, no qual foram dissolvidos 0,5g de fluoreto de cálcio em 500ml de diversos produtos, entre eles, três diferentes sucos de laranja, durante 72 horas, resultando em uma concentração que variou de 3 a 25ppm de flúor, conforme a bebida. Após isso, dentes hígidos foram imersos nas bebidas com e sem a presença de flúor, por três dias e analisados em microscópio de luz polarizada. Ele observou uma eficácia limitada do flúor em reduzir o efeito erosivo das bebidas, mesmo em altas concentrações, sugerindo que a alta acidez não só é capaz de dissolver o fluoreto de cálcio acessível aos dentes, bem como capaz de remover os compostos formados pela aplicação tópica de flúor.

Larsen e Richards (2002) compararam, *in vitro*, a capacidade erosiva de bebidas, entre elas o suco de laranja, com ou sem a adição de fluoreto de cálcio, sobre o esmalte dentário. A saturação com fluoreto de cálcio (6 a 15ppm) reduziu

em 28% o desenvolvimento da erosão nas bebidas, cujo pH se encontrava acima de 3.0. Já naquelas com pH mais baixo, a erosão não foi alterada, mesmo em concentrações de flúor de até 20ppm. Em particular, o suco de laranja (pH 3.84) obteve uma concentração de 7,4ppm de flúor, fato que reduziu a profundidade da lesão erosiva em 46%. Os autores concluem que as bebidas à base de frutas possuem uma alta quantidade de ácido titulável (capacidade tampão), um baixo pH, e são capazes de dissolver rapidamente o fluoreto de cálcio, induzindo a erosão de acordo com o seu pH e o seu conteúdo ácido. Também sugerem que o flúor não apresentou eficácia na prevenção contra a erosão tanto na forma de fluoreto de cálcio adsorvido ao esmalte dentário como parte integrante da bebida.

Crains et al (2002) investigaram, *in vitro*, os efeitos da diluição de sucos nas propriedades erosivas das bebidas e nas conseqüências sobre os dentes. O pH e a acidez titulável foram verificados em quatro bebidas britânicas, entre elas, dois sucos de laranja; um deles, sem a adição de açúcar, em várias diluições, refletindo a concentração na qual a bebida deve ser consumida. Constataram que todas as bebidas tiveram um alto grau de resistência em aumentar o pH, indicando uma alta capacidade tampão. O valor do pH variou muito pouco com o aumento da diluição, em contraste com a acidez titulável que reduziu, minimizando, assim, o potencial erosivo. Os autores sugerem que se adicionando água, o potencial erosivo de sucos diminui substancialmente, entretanto, salientam que esse procedimento deve ser realizado de uma maneira segura, evitando-se alterações excessivas quanto ao sabor e à aparência do produto.

## 2 PROPOSIÇÃO

Determinar, *in vitro*, a ação de dois sucos de laranja industrializados, com pH semelhantes e capacidades tampão significativamente diferentes, sobre o esmalte dentário de dentes decíduos. Para tanto, será considerada a variação da sua dureza após cinco dias, durante os quais foram realizadas três imersões diárias, de 5 ou 15 minutos, no suco de laranja.

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo experimental avaliou, *in vitro*, o comportamento da dureza de 175 espécimes de esmalte de dentes decíduos, expostos a dois sucos de laranja industrializados.

### 3.1 Procedimentos prévios

As etapas preparatórias para o experimento foram três: a seleção das duas marcas de suco de laranja; a confecção dos espécimes de esmalte de dente decíduo e a verificação da dureza inicial de cada espécime.

#### 3.1.1 Seleção dos sucos de laranja

A escolha do sabor laranja foi feita levando-se em consideração os seguintes fatores: o seu amplo consumo, desde tenras idades (SMITH e SHAW, 1987); apresentar um pH ácido, abaixo do crítico para a desmineralização dentária (pH 5.5) (MAIA e MODESTO, 1996; AMAECHI, HIGHAM e EDGAR, 1998, 1999a e 1999b; SOBRAL et al, 2000; CAIRNS et al, 2002); apresentar uma elevada capacidade tampão, quando comparado a outras bebidas também ácidas (LUSSI, JAEGGI, JAEGGI-SCHÄRER, 1995; LARSEN e NYVAD, 1999; GOUVEIA, 1999); e devido à maioria das lesões erosivas estarem vinculadas ao consumo em excesso de frutas e bebidas cítricas, como o suco de laranja (LUSSI et al, 1991; JÄRVINEN, RYTÖMAA e HEINONEN, 1991; MILLWARD et al, 1994; WEST et al, 1998).

A seleção das duas marcas comerciais de suco de laranja foi feita através de dois critérios: que ambos possuíssem um pH ácido e semelhante entre si, e uma capacidade tampão com valores significativamente diferentes. Assim, foram determinados o pH e a capacidade tampão de 32 marcas comerciais de sucos de laranja, todos industrializados, produzidos no mercado brasileiro e prontos para o consumo.

A análise do pH (a) e da capacidade tampão (b) de cada suco foi desenvolvida no Laboratório de Química e Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), por uma única pessoa, devidamente qualificada para a função, e as medidas feitas em triplicatas e em três lotes diferentes de cada produto, de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), descritas a seguir:

a) Determinação do pH:

- Pipetaram-se 10ml de cada amostra em um vidro-relógio;
- Transferiu-se o conteúdo para um béquer de 250ml;
- Adicionaram-se 100ml de água destilada a 25°C ( $\pm 0,05$ );
- As amostras foram homogeneizadas com o auxílio de um bastão até que as partículas ficassem uniformemente suspensas;
- Esperou-se que as amostras decantassem e determinou-se, imediatamente, o pH, através de um pHmetro (Metler Toledo MP 220).

b) Determinação da capacidade tampão:

- Pipetaram-se 5ml de cada amostra em um béquer de 100ml;
- Adicionou-se água destilada até completar 100ml;
- Transferiu-se 10ml do conteúdo para um frasco erlenmeyer de 250ml;
- Titulou-se o conteúdo com uma solução de NaOH 0,1N, mediante a adição de alíquotas de 0,1ml, com o auxílio de uma pipeta volumétrica (Gilson P200), até o valor do pH atingir 7.00, verificado com um pHmetro (Metler Toledo MP 220).

As duas marcas comerciais selecionadas foram a **All Day** – pH 3.89 e capacidade tampão 27,66, e a **Yes** – pH 3.90 e capacidade tampão 117,01, porque ambas apresentaram um pH ácido, com valores semelhantes, sem diferença estatisticamente significativa e abaixo do crítico para a desmineralização do esmalte dentário, e o valor da capacidade tampão foi extremamente divergente (**figura 1 e tabela 1**).

A descrição e os resultados completos da análise estatística encontram-se no **Apêndice A**.

Tabela 1. Valores do pH e da capacidade tampão das 32 marcas comerciais de suco de laranja avaliadas.

Marca comercial	pH	Capacidade tampão*
Ades	4.01	24,99
Ades Light	4.39	45,15
<b>All Day</b>	<b>3.89</b>	<b>27,66</b>
Big	4.19	100,29
CBS com açúcar	3.41	83,55
CBS sem açúcar	3.99	95,64
Da Fruta	3.60	86,84
Danone	3.93	76,97
Dellis	3.65	73,39
Del Valle	3.76	88,53
Doce Mel	3.73	81,52
Fruilly Ice	3.55	88,35
Glug's	3.60	80,87
Kapo	3.42	70,12
Leco	4.00	90,39
Macro Vita	3.66	110,50
Maguary	3.75	60,43
Mais	3.95	104,20
Maraú	3.98	103,13
Native	3.93	100,76
Nestlé	4.11	106,66
Oi	3.71	82,39
Petry	3.96	102,33
Santal	3.77	86,20
Santal Light	3.79	89,46
Soy Fruit	4.02	50,40
Soy Fruit Light	3.90	56,45
Su Fresh	3.82	61,30
Suvalan	3.62	91,21
Suvalan sem açúcar	3.96	102,16
Top Fruit	4.15	105,65
<b>Yes</b>	<b>3.90</b>	<b>117,01</b>

\* Capacidade tampão: valor expresso em mililitro de solução de NaOH 0,1N para neutralizar 100ml de suco de laranja.





Figura 1. Marcas de suco de laranja selecionadas: All Day e Yes.

### 3.1.2 Confeção dos espécimes de esmalte de dente decíduo

#### a) Seleção e preparo dos dentes

Após a aprovação desta pesquisa pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina, primeiros e segundos molares decíduos, extraídos por motivos alheios a este estudo, foram limpos com taça de borracha e água deionizada, e analisados em um estereomicroscópio (MZS 200; Dimex), selecionando-se aqueles livres de cárie, trincas e defeitos estruturais no esmalte (**figura 2**), os quais foram, posteriormente, estocados em formol tamponado 10% (pH 7.0).



Figura 2. a) Limpeza dos dentes com taça de borracha e água deionizada. b) Estereomicroscópio. c) Seleção de dentes livres de cárie e defeitos estruturais.

Os remanescentes radiculares dos dentes foram removidos com o auxílio de uma lixa d'água de granulação 100 em uma politriz (Panambra DP-10; Struers) até a planificação do seu assoalho (**figura 3**). Uma vez planificados, foram fixados em dispositivos específicos para a adaptação na máquina de corte (Isomet 1000; Buehler) (**figura 4a**).



Figura 3. a) Dente com remanescente radicular. b) Remoção do remanescente radicular com lixa d'água. c) Assoalho do dente planificado.

Os dentes foram cortados no sentido méso-distal, com um disco diamantado (Diamond Wafering Blade Low Speed Saw), posicionado de forma paralela ao longo eixo do dente, a uma velocidade de 300rpm e com um peso de 50g, e sob constante refrigeração (**figura 4b**). Os cortes foram espaçados um dos outros em 2,5mm, resultando em fatias dentárias de 2mm de espessura, sendo obtidas, no máximo, três fatias por dente. Em seguida, as fatias foram seccionadas, separando-se a porção mesial da distal, com o uso de um disco de carborundum em baixa rotação e sob refrigeração contínua (**figura 4c**).

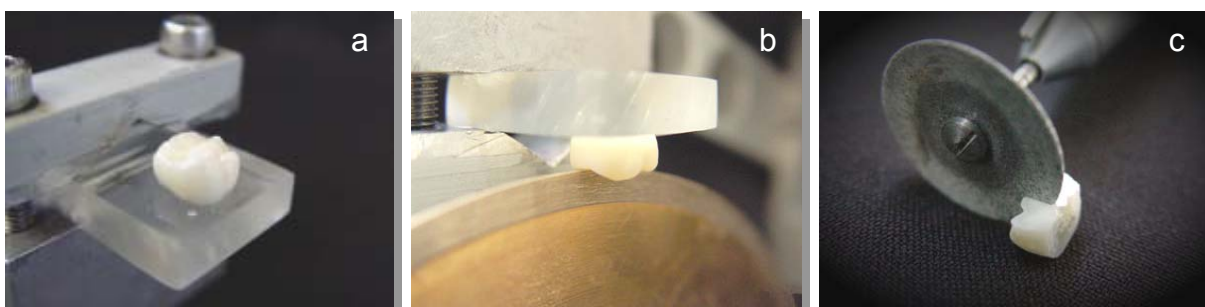


Figura 4. a) Dente colado nos dispositivos para a máquina de corte. b) Corte do dente no sentido méso-distal. c) Separação da porção mesial da distal.

## b) Inclusão das porções de esmalte em resina

As fatias de esmalte foram incluídas em resina de poliéster (Central do Fiberglass – Florianópolis/SC – Brasil), preparada com a adição de pigmentação de cor preta, com o intuito de facilitar a visualização dos limites do esmalte, de acordo com as normas de preparo do fabricante.

Inicialmente, as fatias foram fixadas em uma fita dupla face (3M) (**figura 5a**). Como molde foram utilizadas buchas de PVC, de diâmetro de 19 mm (Tubos e Conexões Tigre S/A), com o interior vaselinado (**figura 5b**), e a resina foi incluída com o auxílio de seringa plástica (20ml; BD Platipak), com a finalidade de evitar a formação de bolhas (**figura 5c**).



Figura 5. a) Fixação da porção de esmalte em fita dupla face. b) Posicionamento do molde (bucha) de PVC. c) Inclusão da resina de poliéster com o auxílio de uma seringa plástica.

Após a reação química de polimerização, que ocorreu em 24h, à temperatura ambiente (aproximadamente 20°C), os cilindros de resina foram retirados dos moldes de PVC por pressão digital e mergulhados em água quente (aproximadamente 75°C) por cinco minutos e imediatamente em água fria (aproximadamente 5°C). Esse procedimento teve como objetivo finalizar a polimerização da porção externa da resina, que estava em contato com a vaselina.

## c) Lixamento e polimento dos espécimes de esmalte

Inicialmente todos os espécimes foram sonicados no aparelho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner 1440D; Odontobrás), com água deionizada, por 5 minutos, com a finalidade de remover eventuais resíduos sobre o esmalte.

Em seguida, a base dos cilindros de resina foi planificada com uma lixa d'água de granulação 100, na politriz a uma velocidade de 600 rpm (**figura 6a**).

A superfície, contendo os espécimes dentários, foi lixada na politriz, com lixas d'água de granulação 600, 800, 1000, 1200, 1500 e 2000, a uma velocidade de 600rpm e sob constante refrigeração (**figura 6b**). Esse aumento progressivo da granulação visou à obtenção de uma superfície de esmalte totalmente lisa e livre de riscos, facilitando a visualização no microdurômetro.

Após o uso da lixa 2000, os espécimes foram polidos com um feltro (textura supra; Arotec) montado na politriz, com o uso de uma pasta abrasiva de alumina (granulação 1 $\mu$ m; Arotec), a uma velocidade de 300 rpm (**figura 6c**).



Figura 6. a) Planificação da base com lixa 100. b) Lixamento da superfície do esmalte com lixas de 600 a 2000. c) Polimento da superfície do esmalte com feltro e pasta de alumina.

A cada granulação, os espécimes foram orientados em sentidos diferentes durante o lixamento, de modo a não repetir o último sentido executado. Por exemplo, na lixa 600, os espécimes foram mantidos com seu eixo vertical no mesmo sentido de rotação (anti-horário) do prato da politriz; já na 800, estava posicionado perpendicularmente ao sentido de rotação, para se obter, ao final, uma superfície lisa e sem riscos.

Ao final de cada lixa, os blocos foram sonicados, com água deionizada, no ultra-som durante 5 minutos, e por 20 minutos ao término do polimento, visando à remoção dos grânulos das lixas que ficaram impregnados na superfície dentária após o lixamento.

Depois de prontos, os espécimes foram armazenados em geladeira, cobertos com lenços umedecidos com água deionizada, evitando, dessa forma, seu ressecamento e sua desmineralização, uma vez que a água mantém a umidade do esmalte e não apresenta propriedades erosivas (MAUPOMÉ et al, 1998 e 1999).

### **3.1.3 Determinação da dureza inicial dos espécimes de esmalte de dente decíduo**

Com a finalidade de escolher os espécimes que fariam parte da amostra, a dureza de todos foi verificada por um único examinador, selecionando-se aqueles com valores entre 272 e 440 KHN (Knoop Hardness Number), normal para o esmalte dentário permanente (MEREDITH et al, 1996), e que, segundo Maupomé et al (1999), não difere significativamente da dureza dos decíduos.

Inicialmente, cada espécime foi prensado com cera nº 7 (três folhas fundidas umas sobre as outras, resultando em uma espessura de 3mm; Epoxiglass) em bases acrílicas (**figuras 7a e 7b**), com a finalidade de deixar a superfície, que contém o esmalte decíduo, totalmente paralela à base do microdurômetro (HMV Micro Hardness Tester; Shimadzu) (**figura 7c**).

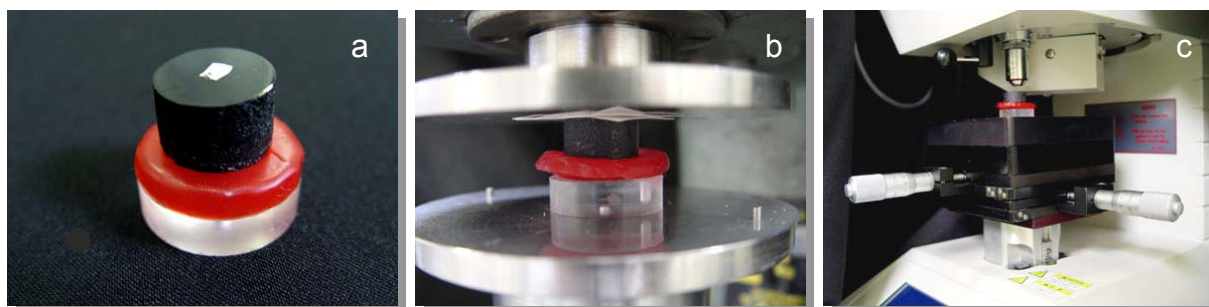


Figura 7. a) Espécime posicionado sobre cera nº 7 e base acrílica. b) Espécime posicionado na prensa. c) Espécime pronto para a leitura no microdurômetro.

Em seguida, preparou-se o microdurômetro com uma ponta indentadora Knoop, calibrando-o para realizar as indentações com uma carga de 50g, aplicada por 5 segundos e, para visualização da amostra, utilizou-se uma objetiva de 40X (LUSSI, JÄGGI, SCHÄRER, 1993) (**figura 8a**). Os espécimes foram posicionados na base do microdurômetro de modo que a diagonal maior da indentação ficasse perpendicular ao longo eixo vertical do dente. A posição da indentação inicial foi padronizada a 1,5mm abaixo da porção mais alta do esmalte e a 100 $\mu$ m da borda externa (**figura 8b**). Foram feitas três indentações, na mesma altura, espaçadas em 100 $\mu$ m uma da outra (**figura 8c**).



A leitura das indentações e o cálculo da dureza foram realizados através do software Newage Testing Instruments C.A.M.S. Testing System, instalado em um computador, conectado ao microdurômetro através de um sistema ótico de transferência digital de imagem (Genwac High Resolution).

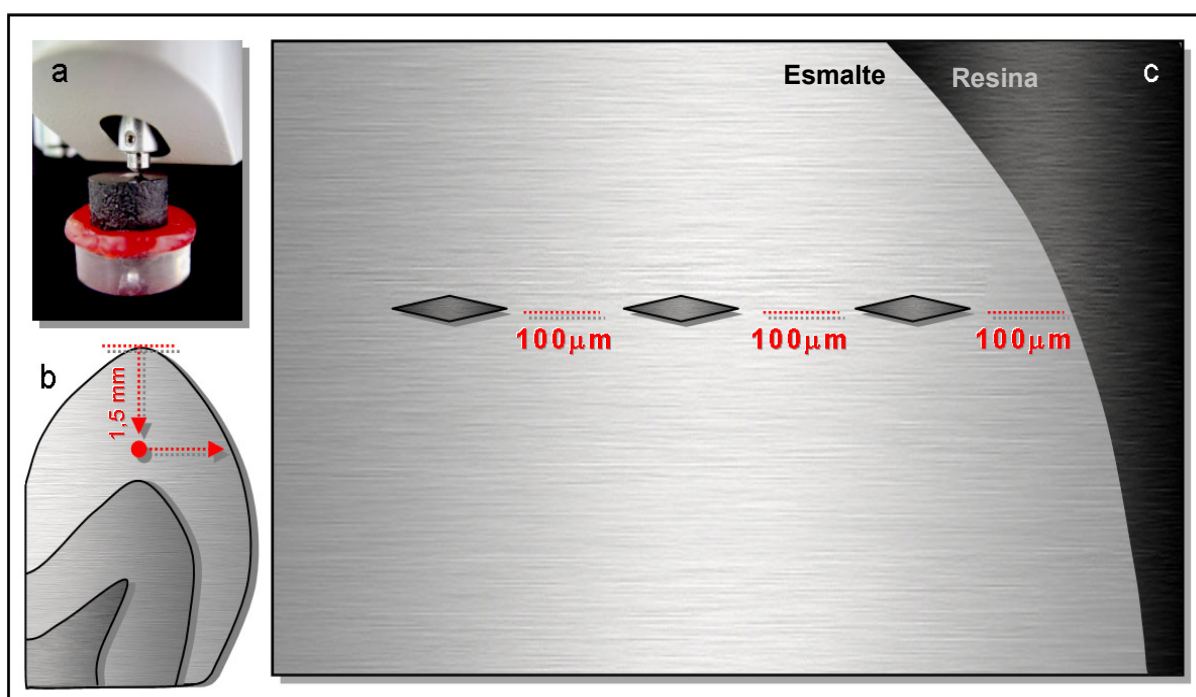


Figura 8. a) Microdurômetro montado com ponta Knoop. b) Desenho esquemático da fatia de esmalte: posição inicial do cursor do microdurômetro e direção de deslocamento. c) Desenho esquemático em maior aumento: a partir da borda externa (limite com a resina), espaçamento de  $100\mu\text{m}$  entre as indentações.

## 4.2 Etapa experimental

Considerou-se etapa experimental aquela na qual os espécimes foram divididos de acordo com os grupos, expostos aos sucos de laranja, e avaliados quanto à dureza final.

### 3.2.1 Formação dos grupos

O modelo experimental consistiu em cinco grupos (quatro experimentais e um controle), igualmente formados por 35 espécimes de esmalte decíduo,

aleatoriamente distribuídos, cuja dureza média inicial dos 175 espécimes foi 334,6 KHN (Knoop Hardness Number), sem diferença estatística entre os grupos.

Os grupos experimentais variaram entre si, de acordo com a marca do suco de laranja e o tempo em que os espécimes ficaram imersos nele, sendo que os espécimes do grupo-controle foram mantidos em saliva artificial (**quadro 1**).

Quadro 1. Grupos experimentais.

	Suco de laranja (marca comercial)	Tempo de exposição	Variáveis comuns
Grupo 1	Yes	5 minutos	Três exposições diárias Cinco dias de exposição 15ml de suco para cada espécime Temperatura dos sucos entre 1 e 10°C Temperatura do experimento 37°C
Grupo 2	All Day	5 minutos	
Grupo 3	Yes	15 minutos	
Grupo 4	All Day	15 minutos	
Grupo 5	Controle – mantido em saliva artificial		

A saliva artificial utilizada foi manipulada na farmácia Dermus (Florianópolis / SC), com formulação similar à descrita por McKnight-Hanes e Whitford (1992), e com pH ajustado em 6.75 (**quadro 2**).

Quadro 2. Composição da saliva artificial (g/l).

Saliva artificial	
Cloreto de potássio	3,125g
Cloreto de sódio	4,325g
Cloreto de magnésio	0,229g
Cloreto de cálcio	0,831g
Fosfato de potássio	4,017g
Fosfato ácido de potássio	1,630g
Sorbitol 70%	213,7
Fluoreto de sódio	0,021g
Benzoato de sódio	5,0g
Água destilada qsq	1000ml

### 3.2.2 Exposição dos espécimes aos sucos de laranja

A metodologia para os procedimentos de cada grupo foi idêntica, exceto para o grupo-controle, variando apenas a marca do suco e o tempo de exposição a ele.

Os espécimes foram imersos simultaneamente em 500ml de cada bebida, o que resultou em um volume de, aproximadamente, 15ml para cada fatia. Para isso, construíram-se dispositivos, confeccionados, a partir de duas placas de borracha (placa de borracha EVA Rabner; Rabanal Ltda), sobrepostas e coladas, com orifícios de 18mm, feitos com perfurador de borracha, nos quais foram introduzidas as 35 bases de resina (**figura 9**).



Figura 9. Imersão dos espécimes no suco de laranja.

Os espécimes foram mantidos por 5 ou 15 minutos imersos no suco de laranja, de acordo com o grupo ao qual pertenciam. No período em que não estavam imersos, permaneciam mergulhados em saliva artificial, com o mesmo volume por unidade.

Antes e após as amostras serem submersas nas bebidas, elas eram lavadas em água deionizada corrente, com a finalidade de remover a saliva ou o suco impregnado nos espécimes. Além disso, os sucos faziam parte de um só lote, tendo sido abertos somente no momento das imersões e sua temperatura foi controlada entre 1°C e 10°C. Uma vez mergulhados nos sucos, os espécimes eram levados à estufa biológica a 37°C, por 5 ou 15 minutos, simulando o que acontece aos dentes na cavidade bucal, visto que, de maneira geral, os sucos são ingeridos gelados. No grupo-controle e nos intervalos entre as exposições, também eram mantidos na estufa biológica.

As três exposições diárias, de cada grupo, foram espaçadas em 6 horas, de modo que o experimento resultou num período de 12h, intercaladas entre o suco e a



saliva, e de um período de 12h, no qual os espécimes permaneceram continuamente na saliva. Os sucros e a saliva eram trocados após cada imersão.

### 3.2.3 Determinação da dureza final

Uma vez concluídos os períodos de imersão, verificou-se a dureza final dos espécimes. Para isso, três novas indentações foram feitas, 100 $\mu$ m abaixo das anteriores, com o mesmo aparelho, com as mesmas configurações e pelo mesmo examinador.

O intervalo entre as indentações finais também manteve o espaçamento de 100 $\mu$ m conforme pode ser visto na **figura 10**.

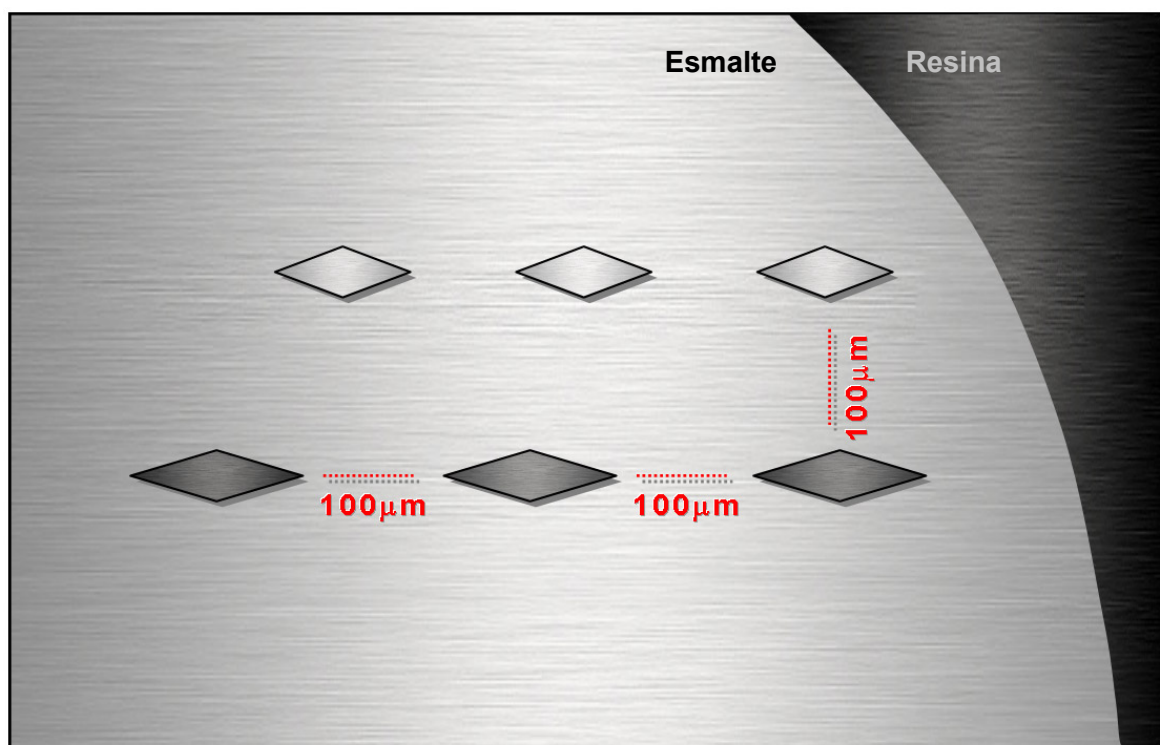


Figura 10. Desenho esquemático das indentações finais, feitas 100 $\mu$ m abaixo das iniciais e espaçadas em 100 $\mu$ m uma da outra.

## 3.3 Análise estatística

Para a análise da dureza superficial tanto antes quanto após as exposições aos sucros, foram utilizados modelos mistos com o software SAS 8.02 (SAS Institute Inc.; Cary, NC, USA).

Levou-se em consideração a interdependência entre as observações, ou seja, as três indentações feitas em um espécime de esmalte dentário exerceram um efeito aleatório que foi controlado por esse tipo de modelo, aumentando o seu poder estatístico.

Para a análise da dureza dos espécimes, antes e após as exposições aos sucros, foi construído um modelo misto, no qual a variável dependente foi a dureza inicial e final, respectivamente. Os efeitos fixos (variáveis explicativas) foram as variáveis grupo e o número da indentação, e o efeito aleatório foi o número do espécime. Após as exposições, a dureza inicial entrou como um efeito fixo, dando mais força e ajuste ao modelo estatístico.

A estrutura de covariância utilizada foi a Componentes de Variância e o método de estimação de diferenças entre os grupos e indentações foi o Tukey-Kramer.

## 4 RESULTADOS

A hipótese a ser verificada nesta pesquisa consistia em que o suco com menor capacidade tampão provocaria menos desmineralização dentária, visto que, em tese, neutraliza-se mais rapidamente, dissolvendo menos mineral.

Nesse sentido, criou-se um experimento, em que espécimes de esmalte de dentes decíduos foram expostos a duas marcas comerciais de suco de laranja, Yes e All Day, ambas com pH semelhante (3.90 e 3.89, respectivamente) e com uma diferença de, aproximadamente, quatro vezes na capacidade tampão (117 e 26, respectivamente). As modificações que ocorreram no esmalte foram avaliadas através de medidas da dureza, comparando-se o valor inicial com o obtido, após os espécimes serem expostos aos sucos.

O valor médio da dureza inicial dos 175 espécimes foi de 334,6 KHN (Knoop Hardness Number), e após distribuí-los aleatoriamente em cinco grupos, verificou-se não haver diferença estatística significativa entre a dureza média de cada grupo ( $p=0,7357$ , considerando 95% de intervalo de confiança), de acordo com a **tabela 2** e a **figura 11**.

Tabela 2. Médias da dureza inicial dos espécimes de esmalte decíduo, de acordo com o grupo.

Grupo	Dureza média (KHN)	Limite inferior	Limite superior
1 – Yes 5'	334,04	320,69	347,39
2 – All Day 5'	328,01	314,66	341,36
3 – Yes 15'	332,95	319,60	346,30
4 – All Day 15'	340,47	327,12	353,82
5 - Controle	337,86	324,51	351,21

Os espécimes correspondentes aos grupos 1 e 3 foram imersos no suco de laranja da marca Yes, cuja capacidade tampão é mais elevada, enquanto os pertencentes aos grupos 2 e 4 foram colocados no suco All Day. O tempo de imersão foi de 5 (grupos 1 e 2) ou 15 minutos (grupos 3 e 4), sendo que, no grupo-controle (grupo 5) e nos intervalos entre as exposições e à noite, eles foram mantidos em saliva artificial.

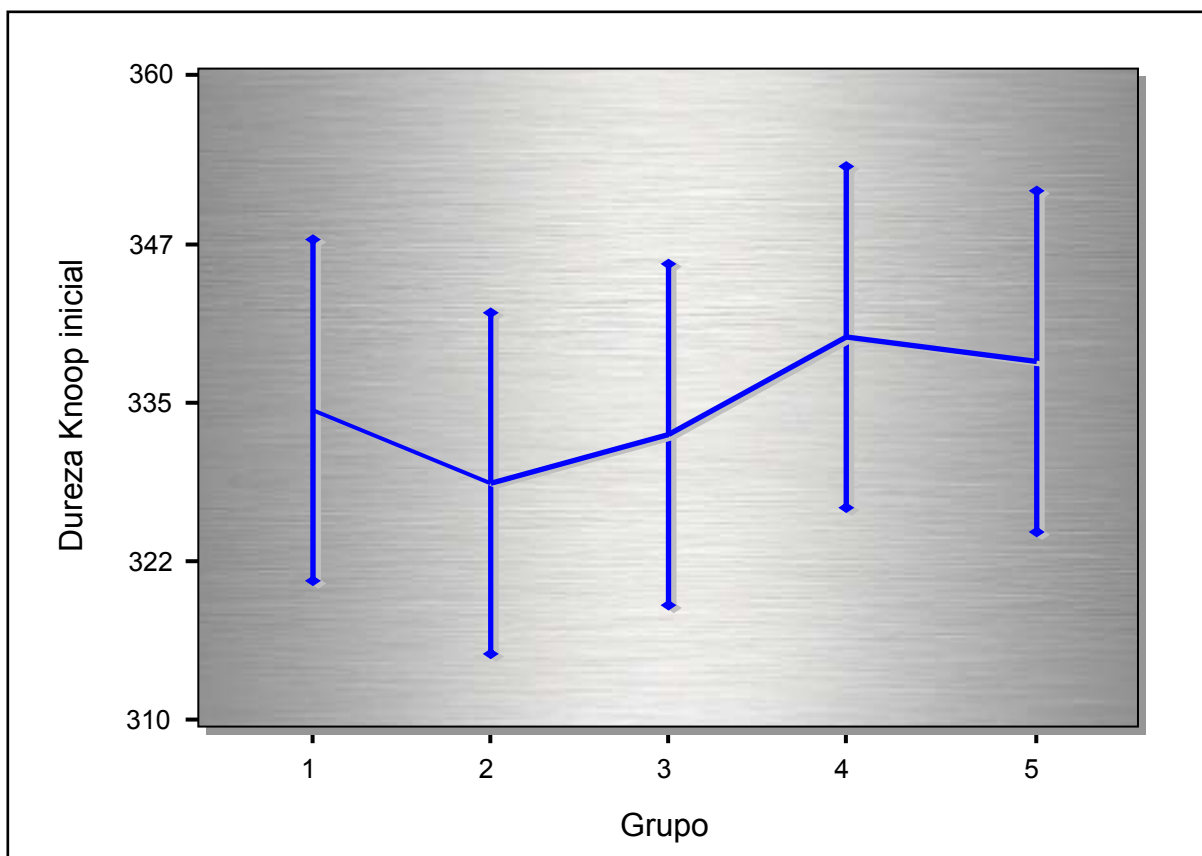


Figura 11. Dureza inicial dos espécimes, de acordo com o grupo.

Após a exposição aos sucos, verificou-se que houve redução significativa da dureza do esmalte em todos os grupos, entretanto, cada um apresentou uma determinada variação, sugerindo que a perda mineral foi decorrente do tempo e do tipo de bebida à qual estiveram expostos ( $p < 0,001$ , com intervalo de confiança de 95%) (tabela 3).

Tabela 3. Variação da dureza dos espécimes de esmalte decíduo após os procedimentos experimentais.

Grupo	Dureza inicial	Dureza final	Redução da dureza	Desvio padrão	Erro padrão	Limite inferior	Limite superior
1 – Yes 5'	334,04	233,04	101,11 (30,2%)	50,39	4,92	91,36	110,87
2 – All Day 5'	328,01	242,35	86,87 (26,1%)	66,94	6,53	73,92	99,83
3 – Yes 15'	332,95	169,14	164,13 (49,1%)	57,01	5,56	153,10	175,16
4 – All Day 15'	340,47	206,64	132,72 (39,4%)	69,97	6,83	119,22	146,31
5 – Controle	337,86	308,17	29,10 (8,8%)	55,95	5,46	18,28	39,93

Observou-se que os espécimes imersos no suco de laranja da marca Yes, cuja capacidade tampão é mais elevada que o da marca All Day, apresentaram uma redução mais expressiva na sua dureza tanto para o período de 5 minutos para o de 15 minutos, tempo no qual ocorreu a desmineralização mais acentuada de, aproximadamente, 50% do valor inicial (**figura 12 e 13**). Nos espécimes pertencentes ao grupo-controle, também foi observada uma redução no valor da dureza (8,8%), provavelmente devido à saliva utilizada estar subsaturada em relação à hidroxiapatita do esmalte, sendo que o valor final, de 308 KHN, ainda é considerado normal para a dureza de esmalte dentário. Assim, esse valor foi descontado dos percentuais de redução da dureza provocada pelos sucos, objetivando, dessa forma, expressar apenas o percentual de desmineralização pertinente ao suco de laranja.

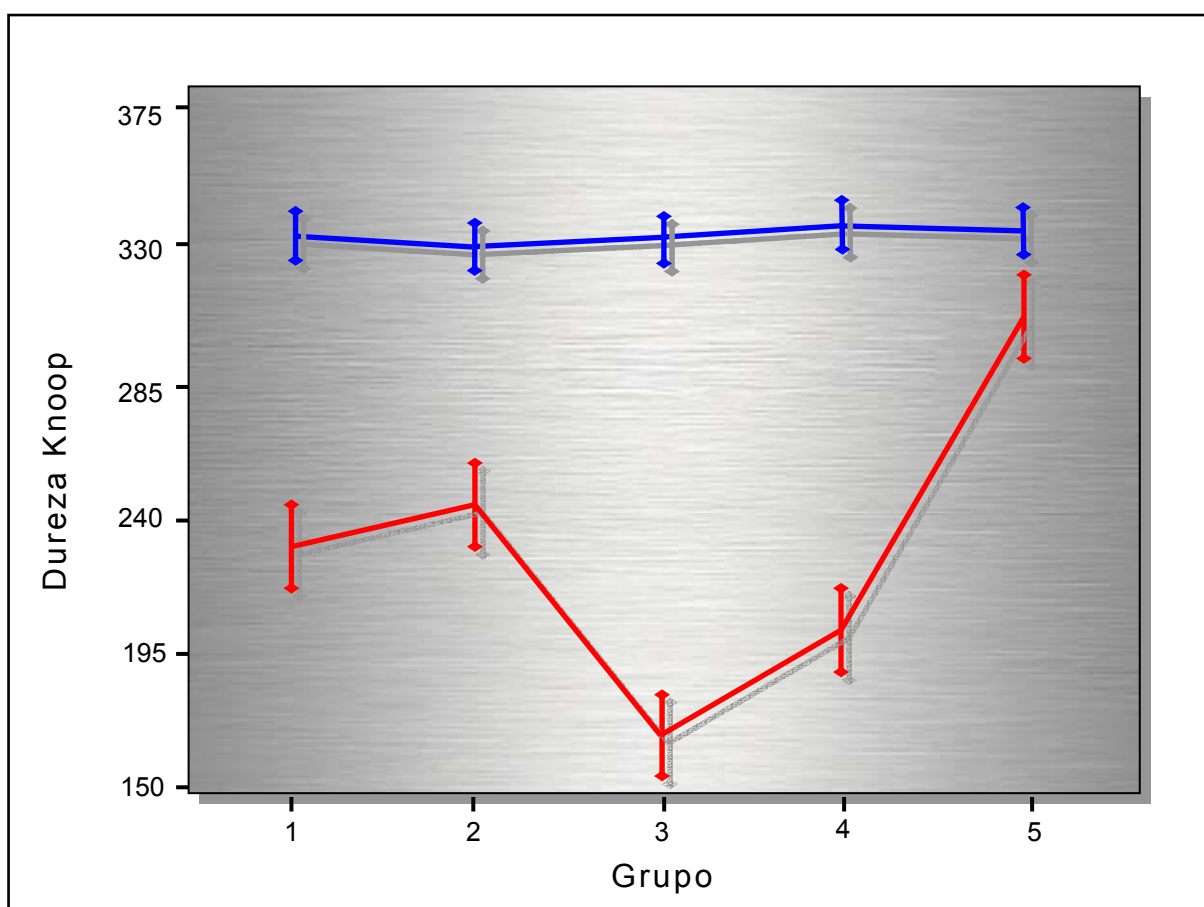


Figura 12. Variação da dureza dos espécimes, antes (azul) e após os procedimentos experimentais (vermelho).

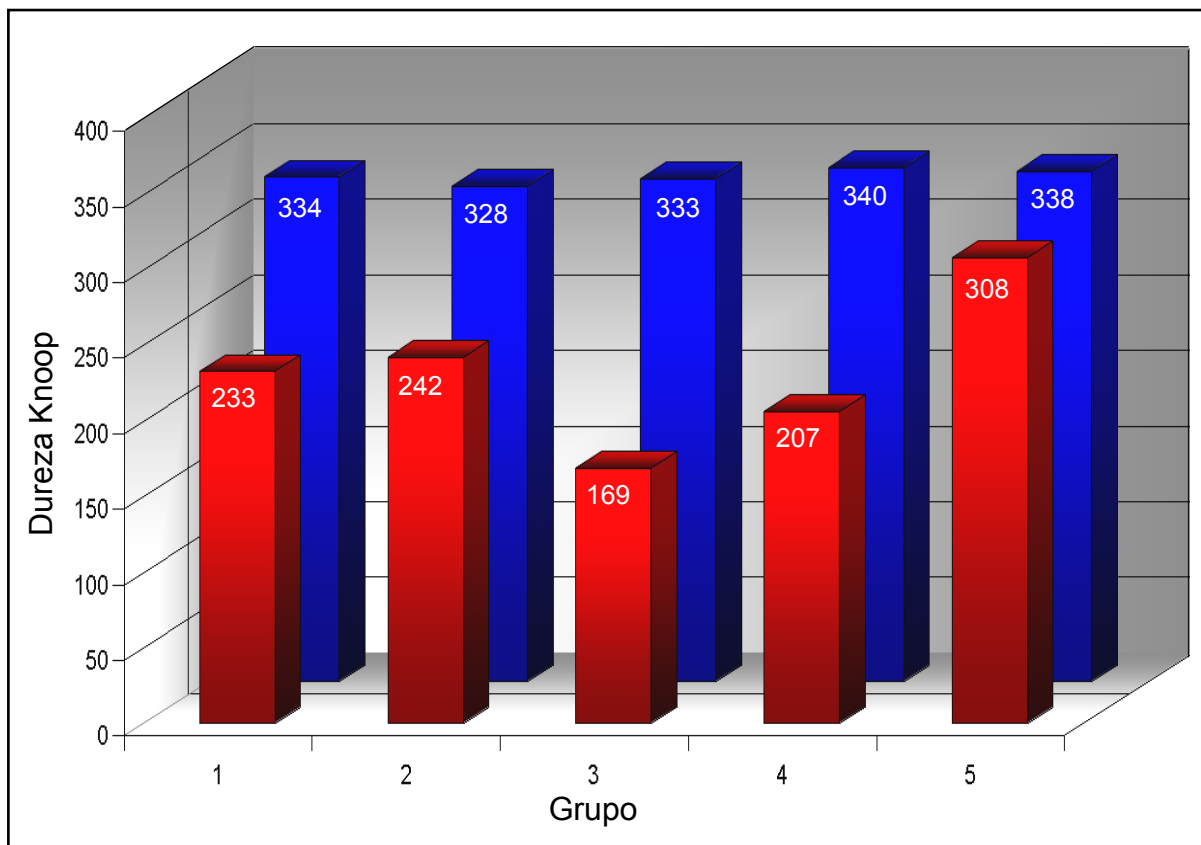


Figura 13. Dureza do esmalte decíduo antes (azul) e após os procedimentos experimentais (vermelho), de acordo o grupo: Grupo 1 - Yes 5'; Grupo 2 - All Day 5'; Grupo - 3 Yes 15'; Grupo 4 - All Day 15'; Grupo 5 - Saliva artificial.

Devido a essas variações, fez-se necessário que os fatores determinantes nos procedimentos experimentais, ou seja, o tempo de exposição (5 ou 15 minutos) e a capacidade tampão dos sucos (Yes – alta; e All Day – baixa), fossem corretamente identificados e isolados, verificando, assim, a ação desempenhada por cada um.

Sendo assim, quando se compararam as duas marcas em função do tempo de imersão – 5 ou 15 minutos – os resultados evidenciaram uma diferença significativa entre os dois intervalos ( $p < 0,001$ ). Por se considerar que a dureza inicial foi semelhante a todos os espécimes (média de 334 KHN), os expostos ao suco Yes (grupos 1 e 3) tiveram esse valor reduzido para 233,04 em 5 minutos, e para 169,01 após 15 minutos, e em relação ao suco All Day (grupos 2 e 4), o valor caiu para 242,35 e 206,64, respectivamente. Portanto, o tempo em que os espécimes permaneceram em contato com o suco de laranja influenciou diretamente

o valor da sua dureza, de modo que, quanto maior o tempo de exposição, maior a perda mineral, independentemente da capacidade tampão do suco.

Considerando que ambos os sucos apresentam um pH semelhante e que o tempo de imersão dos espécimes em cada um foi o mesmo, 5 ou 15 minutos, supõe-se que as variações das durezas, num mesmo regime de exposição, tenham sido decorrentes dos diferentes valores da capacidade tampão. Em 5 minutos, não houve diferença significativa ( $p=0,8388$ ) entre a perda mineral proporcionada pelo suco com a capacidade tampão mais alta (grupo 1: suco Yes) para aquele com a mais baixa (grupo 2: suco All Day). Contudo, quando o tempo foi elevado para 15 minutos, a capacidade tampão teve influência significativa ( $p=0,0005$ ) no processo erosivo, visto que o suco All Day proporcionou uma perda mineral menos acentuada que o Yes, confirmando a hipótese inicial, de que quanto menor for a capacidade tampão da bebida, menor é a dissolução de esmalte.

A **figura 14** representa os percentuais de desmineralização ocorridos em cada um dos grupos, do qual foi subtraído o desgaste ocasionado pela saliva artificial (8,8%). Sob essa ótica, torna-se evidente que ambos os sucos retiram mineral do esmalte, porém com uma intensidade diferente, variando conforme a sua capacidade tampão e o tempo de imersão no mesmo. Sendo assim, é inegável que a desmineralização é mais intensa não somente quando o suco permanece por mais tempo em contato com os dentes, como também quando a capacidade tampão dos sucos for mais elevada, visto que permanecem por mais tempo com um pH ácido.

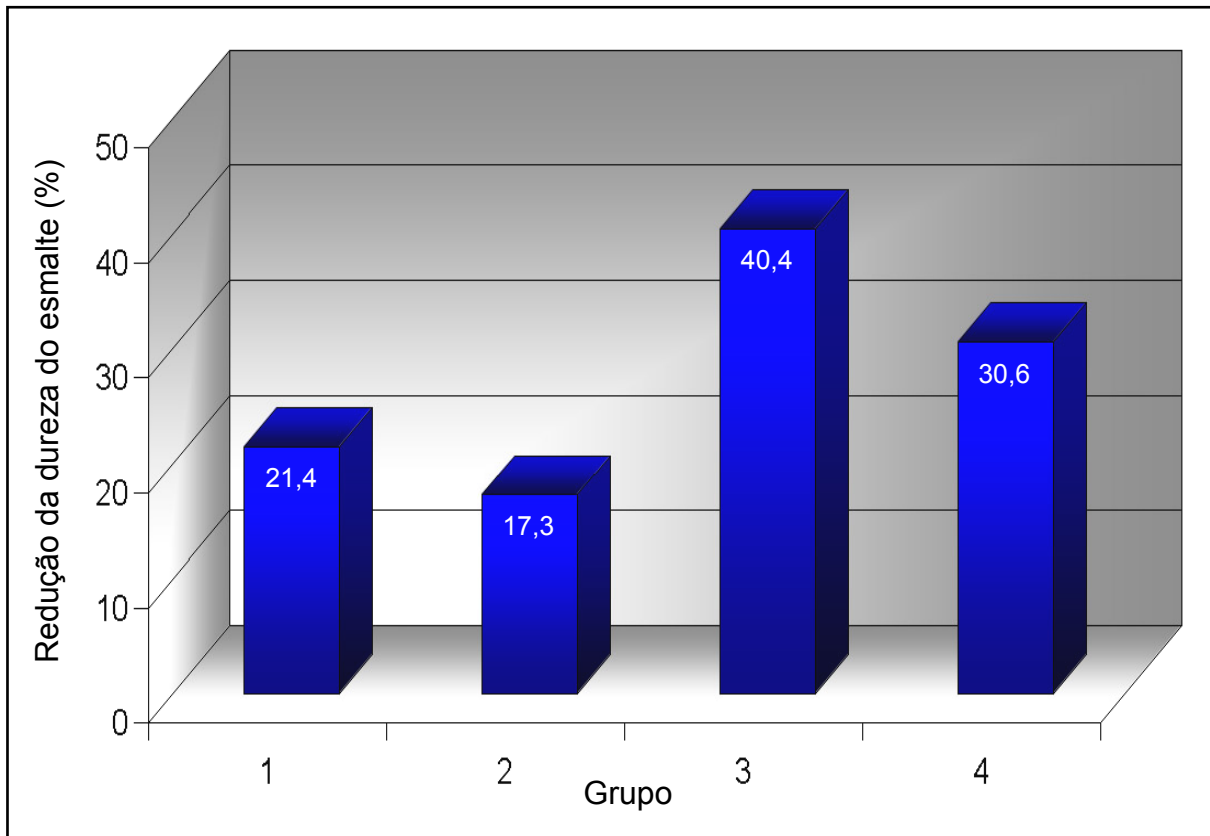


Figura 14. Variação ocorrida na dureza do esmalte decíduo após a imersão no suco de laranja, de acordo com o grupo: Grupo 1 - Yes 5'; Grupo 2 - All Day 5'; Grupo - 3 Yes 15'; Grupo 4 - All Day 15'. A redução percentual da dureza foi  $G3 > G4 > G1 = G2$ , com  $p < 0,05$ .



## 5 DISCUSSÃO

Os hábitos alimentares da população mundial têm-se modificado gradualmente ao longo dos anos, de modo que a alimentação vem sendo guiada pela comodidade e pelas formas de apresentação dos produtos, tendo pouca importância seu valor nutricional. É no público infantil que a indústria alimentícia descarrega seus mais variados apelos visuais, ligando personagens infantis a muitos alimentos e bebidas. Essa postura vem trazendo consequências em todo o organismo, inclusive no meio bucal, onde têm sido observado, cada vez mais, casos de erosão dentária, fato comprovado por estudos epidemiológicos, evidenciando que, enquanto a doença cárie apresenta uma tendência de redução em alguns grupos populacionais, a erosão revela-se cada vez mais presente (DOWNER, 1995; JONES e NUNN, 1995; NUNN, 2003).

Além disso, a erosão dentária tem atingido a população infantil de maneira expressiva. Para Jones e Nunn (1995), alcançam uma prevalência de, quase, 30% em crianças de três anos de idade; para Millward, Shaw e Smith (1994), 50% das crianças de quatro anos apresentavam lesões erosivas, porcentagem também apontada por Downer (1995) que, em seu estudo, avaliou crianças na faixa etária entre cinco e seis anos, como também jovens acima de onze anos, os quais apresentaram uma prevalência de 25%. Tais levantamentos sugerem que entre 30 e 50% das crianças com a dentição decídua, apresentam, pelo menos, uma lesão erosiva.

A erosão dentária acontece em virtude de um ataque ácido freqüente e prolongado aos dentes, sem o envolvimento bacteriano (IMFELD, 1996a). Esses ácidos são provenientes, na maioria das vezes, de alimentos cítricos, como o suco de laranja, que se constitui num dos sucos de fruta mais consumidos mundialmente, inclusive pelas crianças, haja vista a quantidade de indústrias que o produz.

Nesta pesquisa, foram avaliadas 32 marcas comerciais deste sabor de suco, e todas apresentaram um pH ácido, com variações de, no máximo, um ponto, compreendendo valores entre 3.4 e 4.4. Os dois sucos utilizados nos procedimentos experimentais apresentaram um pH na faixa de 3.9, valores que estão em consonância com os apontados por outros autores, que observaram uma variação do pH do suco de laranja entre 3 e 4.5: Lussi, Jaeggi e Jaeggi-Schärer (1995)

indicam um pH de 3.77; Maia e Modesto (1996), de 3.35; para Amaechi, Higham e Edgar (1998a, 1999a e 1999b), o pH foi de 3.85; Gouveia (1999) encontrou um valor de 3.46; Larsen e Nyvad (1999) observaram um pH de 3.84 (suco puro) e de 4.03 (suco suplementado de cálcio); Sobral et al (2000) verificaram um pH de 3.63 para o suco de laranja natural; Amaechi e Higham (2001) apontam um pH de 3.85 e Larsen e Richards utilizaram um suco de laranja com pH 3.84. Esses valores parecem não se alterar com a temperatura de armazenamento do suco, como verificado por Amaechi, Higham e Edgar (1999b), nem com a diluição, como observado por Smith e Shaw (1987), Sobral et al (2000) e Crains et al (2002).

Quando um suco de laranja, ou outra bebida ácida, é ingerido, ocorre uma queda da saturação de cálcio e de fosfato na saliva, sendo que o equilíbrio desses íons é restaurado pela reposição de minerais oriundos dos dentes. Essas trocas iônicas são regidas pelo pH salivar, o qual, segundo Anderson, Hector e Rampersad (2001), quando está abaixo de 4.5 em adultos, e 6.0 em crianças, provocam a perda mineral dos dentes para o meio bucal. Desse modo, considera-se que uma bebida com pH abaixo desses valores é capaz de causar uma erosão no esmalte dentário (O'SULLIVAN e CURZON, 2000b).

Os indivíduos com erosão dentária apresentam características clínicas peculiares, como, por exemplo, a subsaturação salivar em relação à hidroxiapatita, possuindo menores quantidades de cálcio e de fosfato, íons que, de acordo com Anderson, Hector e Rampersad (2001), elevam o pH crítico das crianças para 6.0, aumentando, dessa forma, a possibilidade de ocorrer os processos de desmineralização dentária. Além disso, O'Sullivan e Curzon (2000b) observaram uma menor capacidade tampão em crianças e em adolescentes com diagnóstico de erosão dentária, sugerindo que um pH salivar abaixo de 6.5 e a baixa capacidade tampão aumentam o risco de erosão dentária, em cinco e duas vezes, respectivamente. Para Järvinen, Rytöma e Heinonen (1991), um baixo fluxo salivar determina um risco de erosão dentária cinco vezes maior do que aqueles com fluxo normal e, segundo Johansson et al (2001), as crianças apresentam um fluxo e uma capacidade tampão salivar reduzidos em relação aos adultos, sugerindo um risco maior à erosão dental.

Para Järvinen, Rytöma e Heinonen (1991), quando frutas cítricas são ingeridas mais que duas vezes por dia, o risco de se ter erosão dentária é duplicado. O'Sullivan e Curzon (2000a) observaram que crianças com erosão dentária

consumiam significativamente mais alimentos ácidos do que outras crianças, além de que 43% delas tinham o hábito de manter as bebidas ácidas por prolongados períodos no meio bucal. Do mesmo modo, Johansson et al (2001) observaram que crianças de seis anos, diagnosticadas com erosão dentária, relatavam uma alta frequência de ingestão de bebidas ácidas. Segundo Nunn (2003), crianças e jovens com erosão dentária apresentam um consumo acentuado de refrigerantes e sucos de frutas cítricas, principalmente, no período noturno. Millward et al (1994) apontam que 60% dos casos de erosão severa estão relacionadas ao consumo de bebidas ácidas durante a noite, sobretudo quando disponibilizadas em mamadeiras.

Sabe-se que, quando um suco de laranja é ingerido, pouco permanece em contato com os dentes, mesmo assim, a porção que permanece é capaz de provocar mudanças no pH bucal e, conseqüentemente, no equilíbrio iônico (WEST et al, 1998). Para Bashir e Lagerlöf (1996), o pH caiu de 7.2 para 6.4 num período de um minuto após a ingestão, e para Millward et al (1997) a queda foi mais expressiva, de 6.0 para 2.0 a 3.0, mas os autores confirmam que o organismo restabelece seus padrões iniciais, na maioria dos casos, em até 5 minutos, salientando que o nível de saturação de cálcio e de fosfato leva, aproximadamente, 15 minutos para voltar ao normal. Os dados dessas duas pesquisas são provenientes de adultos, contudo, segundo Anderson, Hector e Rampersad (2001), em crianças, esses índices provavelmente levariam mais tempo para serem restaurados, sugerindo, de acordo com Hunter et al (2000a) que, conforme há um aumento na frequência de consumo destes alimentos, o risco de erosão em crianças torna-se maior que nos adultos.

O tempo que o organismo leva para restabelecer seus padrões de normalidade é influenciado, entre outros fatores, pela habilidade que a bebida possui de manter o seu pH inalterado, ou seja, ácido. E essa habilidade é expressa pela capacidade tampão, a qual é determinada a partir da quantidade de base necessária para elevar o pH até 7.0. Se o pH das 32 marcas apresentou pouca variação, o mesmo não ocorreu com a capacidade tampão, visto que os sucos apresentaram diferenças de mais de 400% entre si, com valores que variaram entre 25 e 117ml de NaOH, necessários para neutralizar 100ml de suco.

Desse modo, segundo Grenby et al (1989), a capacidade tampão é o melhor guia para a determinação do potencial erosivo de um alimento ácido, visto que apura o tempo em que permanece ácido e não somente a sua acidez inicial. E o suco de laranja, dentre refrigerantes e outros sabores de sucos, foi considerado por Lussi,

Jaeggi e Jaeggi-Shärer (1995), Gouveia (1999), Larsen e Nyvad (1999) como o que apresenta a maior capacidade tampão. Pode-se dizer que um suco com uma capacidade tampão mais elevada necessita de mais mineral para neutralizá-lo, mantendo o meio bucal ácido por um período maior de tempo e desempenhando um maior efeito erosivo aos dentes (GROBLER e VAN DER HORST, 1982; EDWARDS, 1999). Além de que, para Larsen e Nyvad (1999), a alta capacidade tampão, observada nos sucos de laranja, proporciona lesões mais profundas nos dentes, correspondendo àsquelas produzidas por uma bebida com um ponto a menos no pH.

Somando-se essas informações, esse estudo procurou simular, *in vitro*, o que ocorre na cavidade bucal das crianças, quando elas tomam dois tipos de sucos de laranja industrializados – um, com uma baixa e outro, com uma alta capacidade tampão, considerando-se dois regimes de exposição, 5 e 15 minutos, períodos nos quais o organismo, na maioria das vezes, recupera seus padrões de normalidade após a ingestão do suco. Assim, foi possível confirmar que a capacidade tampão influencia realmente no processo erosivo, sendo observado que o suco com uma maior capacidade tampão apresentou uma maior tendência de desmineralização dentária.

Além dos valores do pH e da capacidade tampão, o potencial erosivo de um alimento é influenciado pelo tipo do ácido predominante em sua composição (LARSEN, 1975). Fuller e Johnson (1977) relataram que o ácido cítrico proporciona uma desmineralização mais acentuada que o ácido hidrocloreídrico e o nítrico. Meurman et al (1990) determinaram, em seu experimento, que o ácido cítrico promoveu perda mineral dentária mais acentuada do que o málico. Entretanto, Hughes et al (2000) determinaram que o ácido láctico é mais prejudicial aos dentes que o cítrico e o málico. West, Hughes e Addy (2000) verificaram que o ácido fosfórico é potencialmente mais perigoso que o cítrico, o láctico e o málico. Já em 2001, esses mesmos autores sugerem que o ácido cítrico é potencialmente mais erosivo que o fosfórico, visto que, neste trabalho, os autores realizaram uma metodologia mais acurada, comparando os dois ácidos em concentrações iguais e em diversas faixas de pH.

Ainda que haja discordância entre os autores, pode-se considerar que o ácido cítrico, contido no suco de laranja, é um dos que exercem maior risco potencial de provocar lesões erosivas nos dentes. Além disso, esse ácido possui uma característica própria que o torna mais ameaçador – o seu efeito quelante, que é a

capacidade de atrair cálcio para si, formando complexos organo-cálcicos, potencializando as perdas minerais dentárias (FULLER e JOHNSON, 1977; LARSEN e NYVAD, 1999; WEST, HUGHES e ADDY, 2001).

Para analisar, *in vitro*, a ação dos sucos de laranja sobre os espécimes de esmalte de dentes decíduos, utilizou-se a técnica da durometria, que consiste em determinar a variação ocorrida na sua dureza antes e após serem expostos ao suco. Essa técnica verifica qualitativamente a desmineralização dentária, visto que não se tem como determinar, através dela, a quantidade de mineral perdido ou recuperado neste processo, entretanto, sabe-se que o conteúdo mineral do esmalte está diretamente relacionado com o valor da sua dureza, sugerindo que, quanto maior for este valor, mais mineralizado se encontra o esmalte (FEATHERSTONE, 1983; ARENDS e TEN BOSCH, 1992; TEN CATE, 1994; MEREDITH et al, 1997).

A dureza média inicial dos 175 espécimes de dentes decíduos, utilizados nesta pesquisa, foi de 334 KHN (Knoop Hardness Number), equivalente a, aproximadamente, 325 VHN (Vickers Hardness Number). Esse valor se encontra compatível com os verificados por outros pesquisadores, como Johansson et al (1998) que encontraram valores de 299 e de 317 VHN; Gouveia (1999) que observou uma dureza de 370 VHN; Maupomé et al (1999) que obtiveram uma dureza de 344 VHN; e Lussi et al (2000) que encontraram valor inicial de 322 KHN. Tais variações da dureza do esmalte são normais e podem ter sido influenciadas, entre outros fatores, pelo modo de confecção dos espécimes, pela região do esmalte analisada, bem como pelas variações pessoais entre os pesquisadores.

Em decorrência disso, procurou-se proporcionar aos grupos desta pesquisa, as mesmas condições laboratoriais, tais como a dureza inicial dos seus espécimes sem diferença estatisticamente significativa entre si, e exposição ao suco de laranja sob o mesmo regime de tempo, volume e temperatura, objetivando, assim, isolar apenas a ação do suco, ou seja, as diferenças encontradas na dureza dos espécimes foram decorrentes das características de cada um, mais especificamente, da capacidade tampão, visto que ambos possuíam um pH semelhante.

Através dessas considerações, foi possível observar que os dois sucos de laranja reduziram a dureza dos espécimes, baixando-a de 334 KHN para um valor mínimo de 169 KHN, quando expostos, por 15 minutos, ao suco com a capacidade tampão mais alta, o que, em termos percentuais, representa, aproximadamente, 50% de redução da dureza. Isso ratifica que a capacidade tampão realmente

influencia no processo erosivo, visto que o suco de laranja da marca Yes, cuja capacidade tampão foi quatro vezes maior que a do o All Day, ocasionou uma redução mais elevada da dureza dos espécimes de, aproximadamente, 4%, quando o tempo de exposição foi de 5 minutos, e 10%, quando esse tempo foi aumentado para 15 minutos.

Comparativamente, uma bebida tipo cola (pH 2.6), testada por Maupomé et al (1998 e 1999), reduziu a dureza do esmalte permanente de 352 VHN para 169 VHN, correspondente a 52%, e do esmalte decíduo de 344 VHN para 155 VHN, correspondente a 55%, sendo que esses experimentos foram conduzidos por oito dias, período em que foram feitas dez exposições diárias de 5 minutos. Lussi, Jäeggi e Schärer (1993) observaram que a queda mais expressiva na dureza de esmalte ocorreu quando os espécimes foram expostos ao refrigerante Sprite, que reduziu 38% do valor inicial da dureza. Já, para Lussi, Jaeggi e Jaeggi-Schärer (1995), o suco de maçã foi o responsável pelo maior percentual (34%) de redução da dureza inicial. Contudo, em ambos os experimentos, foram utilizados esmalte permanente, os quais foram expostos por um período único de 20 minutos, e a dureza do esmalte não foi referenciada em unidades convencionais Knoop (KHN), e sim pelo tamanho da indentação, por exemplo, o valor inicial do esmalte variou entre 43 e 46 $\mu$ m. Além disso, nesses dois trabalhos, o suco de laranja também foi testado, e a redução que provocou na dureza do esmalte foi menor que as outras bebidas. Johansson et al (1998) observaram uma expressiva redução da dureza de dentes decíduos e permanentes após serem imersos por 30 minutos em ácido cítrico, baixando de 299 VHN e 317 VHN para 99 (77%) e 89 (72%) no caso dos decíduos e de 363 VHN para e 116 VHN (68%) nos permanentes. Gouveia (1999) também, analisando a ação do suco de laranja, observou uma redução da dureza inicial de dentes decíduos de 370 VHN para 175 VHN (52%) quando expostos alternadamente entre o suco (5 minutos) e saliva artificial (15 minutos), por dez vezes, e para 131 VHN (64%), quando expostos por 50 minutos, de forma contínua. Lussi et al (2000) verificaram, no seu experimento, que, após três minutos de exposição, o esmalte decíduo teve sua dureza reduzida mais expressivamente pela bebida Sprite, que reduziu, de 322 KHN para 295 KHN, correspondente a 8,5%, e o suco de laranja, também testado, apresentou um percentual menor que o do refrigerante.

Como pode ser observado, não há um consenso quanto ao tipo de esmalte utilizado nas pesquisas, como também não há uma padronização em relação ao tempo de imersão destes nas bebidas ácidas. Alguns autores, tais como Amaechi, Higham e Edgar (1999a) e Hunter et al (2000a e 2000b) sugerem que o esmalte decíduo apresenta uma susceptibilidade à desmineralização maior que o permanente. Contudo, esses resultados têm sido questionados por Maupomé et al (1999) que verificaram que, além de não ter havido diferença significativa entre a dureza inicial de decíduos e permanentes, também não houve diferença na variação de perda mineral. Também de acordo, Lussi et al (2000) observaram não haver diferença estatística na variação de dureza após a exposição a alimentos ácidos. Johansson et al (2001), também não encontraram diferença significativa, porém sugerem que as crianças são mais susceptíveis à erosão dentária, uma vez que suas características teciduais e suas condições salivares são mais vulneráveis às mudanças iônicas, que nos adultos.

Considerando o período em que esses espécimes foram mantidos em contato com a bebida ácida, algumas pesquisas utilizaram longos tempos de exposição, como é o caso do experimento de Larsen e Nyvad (1999), no qual os dentes foram imersos por 24 horas ou por uma semana nos alimentos testados, bem como o de Smith e Shaw (1987), em que os espécimes foram submetidos a 15 horas consecutivas nos sucos de fruta. Na maioria das pesquisas, quando imersos em uma única vez, os tempos de exposição dos espécimes foram maiores, como: Maia e Modesto (1996) que utilizaram um tempo de 40 minutos; Johansson et al (1998 e 2001) que empregaram 30 minutos; Lussi, Jäeggli e Schärer (1993) e Lussi, Jaeggi e Jaeggi-Schärer (1995) realizaram uma imersão de 20 minutos; Tucker et al (1998) bombearam ácido cítrico para a superfície do esmalte, por 5 minutos, durante quatro vezes consecutivas, equivalendo a um tempo único de 20 minutos; West, Hughes e Addy (2000) que utilizaram um tempo de 10 minutos; enquanto, Lussi et al (2000) passaram a utilizar um tempo mais baixo, de 3 minutos.

Quando ocorrem exposições em diferentes momentos, as situações cotidianas são simuladas com mais precisão. Em tais circunstâncias, um aspecto que merece atenção é o meio onde os espécimes ficaram imersos quando não estavam expostos ao suco. Neste trabalho, eles foram submetidos à ação do suco de laranja por 5 ou 15 minutos, três vezes por dia, durante cinco dias, e nos intervalos foram mantidos em saliva artificial a uma temperatura de 37°C. Amaechi,

Higham e Edgar (1998a, 1999a e 1999b) observaram, através de exposições intercaladas entre suco de laranja (seis vezes diárias de cinco minutos) e saliva artificial ou água deionizada, que os espécimes mantidos na saliva apresentaram um menor grau de desmineralização do que aqueles conservados em água deionizada. Maupomé et al (1998 e 1999) realizaram exposições intercaladas, de 5 minutos, sob três frequências diárias: uma, cinco e dez vezes, e durante oito dias, sendo que entre as trocas e, no período noturno, os espécimes eram mantidos em água deionizada. West et al (1998) realizaram quatro exposições diárias de 10 minutos cada, durante 15 dias. Hunter et al (2000b) usaram dentes decíduos e permanentes por 10 minutos, duas ou quatro vezes por dia, durante 15 dias, sendo mantidos em solução isotônica nos intervalos e no período noturno. Gouveia (1999) realizou os dois tipos de imersões: contínua e intercalada, com um tempo de 50 minutos corridos; dez ciclos de 5 minutos em suco e 15 minutos em saliva artificial, e 50 minutos ininterruptos, seguidos de 2h30min em saliva artificial.

Em virtude disso, alguns trabalhos têm procurado esclarecer o papel que a saliva artificial desempenha nestes tipos de experimentos. Na pesquisa em questão, foi verificado que a saliva artificial promoveu uma queda de 8,8% da dureza inicial do esmalte, mesmo assim, ainda permaneceu nos padrões de normalidade, com uma média de 308 KHN. Outros autores, como Amaechi, Higham e Edgar (1998a e 1999b) encontraram resultados opostos, mostrando que a saliva artificial reduziu o grau de erosão causado pelo suco de laranja, uma vez que, naquele caso, ela se apresentou saturada em relação ao cálcio e ao fosfato. Além disso, segundo Amaechi e Higham (2001), a saliva possui capacidade de remineralizar lesões erosivas no seu estágio inicial, fato confirmado por Eisenburger et al (2001) que observaram um reendurecimento parcial do esmalte dentário após seis horas de imersão contínua na saliva artificial. Para Gouveia (1999), a saliva não foi capaz de devolver a normalidade morfológica nem a dureza inicial do esmalte, porém houve a formação de uma camada de fosfato de cálcio sobre a superfície erosionada, sugerindo sua ação remineralizante. Como a formulação da saliva artificial não é padronizada, provavelmente, a utilizada neste experimento apresentava-se com conteúdo de cálcio e de fosfato menores que os encontrados nos espécimes dentários, reduzindo, assim, seu conteúdo mineral e, conseqüentemente, sua dureza, para que o equilíbrio iônico fosse alcançado.



Alguns pesquisadores vêm procurando modificar o potencial erosivo dos sucos de laranja, como Larsen e Nyvad (1999), que introduziram uma certa quantidade de cálcio e de fosfato diretamente no suco, e observaram que essa suplementação foi responsável por reduzir quase na totalidade a erosão dentária, quando comparado ao suco sem aditivos. Fato também comprovado por Hughes et al (2000), que compararam a ação erosiva do ácido cítrico com ou sem a adição de cálcio, observando que essa suplementação promoveu um decréscimo da erosão. Os dois sucos de laranja utilizados nos procedimentos experimentais não trazem informações, nos seus valores nutricionais, sobre a quantidade de cálcio presente em sua composição.

Além do cálcio, a adição conjunta de xilitol e de flúor ao suco de laranja também mostrou eficiência na redução do seu potencial erosivo (AMAECHI, HIGHAM e EDGAR, 1998b). Quanto ao efeito da suplementação de flúor ao suco de laranja, existem divergências entre os autores. Uns, afirmam que o flúor possui efeito protetor contra a erosão (SORVARI, KIVIRANTA e LUOMA, 1988; RATH, 1995; GRENBY, 1996b; IMFELD, 1996b), ao passo que, nos trabalhos mais recentes, esse efeito tem sido questionado, como por Ten Cate (2001), que sugere que o flúor não tem efeito quando as superfícies dentárias estão em contato com uma solução ácida com pH abaixo de 4.0; por Larsen (2001) sugerir que o flúor tem uma eficácia limitada em reduzir o efeito erosivo das bebidas, mesmo em altas concentrações; como também por Larsen e Richards (2002), que sugerem que o flúor se mostrou ineficaz na prevenção contra a erosão tanto na forma de fluoreto de cálcio adsorvido ao esmalte dentário quanto parte integrante da bebida. Além disso, Crains et al (2002) sugerem que, diluindo o suco de laranja, o pH não se altera, mas a capacidade tampão reduz consideravelmente, diminuindo, desse modo, seu potencial erosivo, entretanto, salientam que esse procedimento deve ser realizado de uma maneira segura, evitando-se alterações excessivas quanto ao sabor e à aparência do produto.

Isso torna necessário que o Cirurgião-Dentista, principalmente o Odontopediatra, não só aprimore o seu diagnóstico clínico das lesões erosivas, como também colha rotineiramente informações sobre os hábitos alimentares de seu paciente, relacionando o conteúdo com a forma de ingestão, visto que, ao serem ingeridas bebidas ácidas, como suco de laranja, no período noturno, através de mamadeira, o tempo em que a bebida permanece em contato com os dentes é

maior, favorecendo, assim, o surgimento de lesões erosivas, além de aumentar sua severidade.

Devido à comprovada prevalência deste problema, já nos primeiros anos de vida, salienta-se a importância da orientação de uma alimentação correta e saudável, de modo que, seja qual for o tipo de suco de laranja ingerido, o seu consumo deve ser controlado. Sugere-se, pelos resultados obtidos nesta pesquisa, que aqueles sucos com uma capacidade tampão reduzida, dentre os quais se encontram os sucos com soja em sua composição (Ades, Ades Light, All Day, Soy Fruit, Soy Fruit Light), apresentem um potencial erosivo mais baixo, sendo, por isso, uma boa opção no caso de aconselhamento alimentar.

## CONCLUSÃO

Este estudo tornou possível verificar, *in vitro*, que o suco de laranja provocou uma diminuição na dureza do esmalte de dentes decíduos, contudo, houve diferenças no grau de redução mineral, conforme a capacidade tampão do suco, e conforme o tempo em que os espécimes dentários ficaram imersos nos sucos.

Em relação ao tempo de exposição dos espécimes ao suco de laranja, aqueles que permaneceram em contato com o suco por 15 minutos tiveram significativamente maior redução na sua dureza, quando comparados aos expostos por 5 minutos, independentemente da capacidade tampão do suco.

No caso da capacidade tampão, diferente nos dois sucos utilizados, em 5 minutos os espécimes imersos no suco com a capacidade tampão mais elevada apresentaram uma tendência de redução na sua dureza mais acentuada do que aqueles imersos no outro suco, porém sem diferença estatisticamente significativa.

A diferença na capacidade tampão dos sucos tem mais expressividade no momento em que o tempo de imersão foi aumentado para 15 minutos, tornando-se evidente que o valor da capacidade tampão tem influência direta na perda mineral dos dentes decíduos.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

AMAECHI, B.T.; HIGHAM, S.M. *In vitro* remineralization of eroded enamel lesions by saliva. **J Dent**, Kidlington, v. 29, n. 5, p. 371-376, July 2001.

AMAECHI, B.T.; HIGHAM, S.M.; EDGAR, W.M. Use of transverse microradiography to quantify mineral loss by erosion in bovine enamel. **Caries Res**, Basel, v. 32, n. 5, p. 351-356, Sept./Oct. 1998a.

AMAECHI, B.T.; HIGHAM, S.M.; EDGAR, W.M. The influence of xilitol and fluoride on dental erosion *in vitro*. **Arch Oral Biol**, Kidlington, v. 43, n. 2, p. 157-161, Apr. 1998b.

AMAECHI, B.T.; HIGHAM, S.M.; EDGAR, W.M. Factors influencing the development of dental erosion *in vitro*: enamel type, temperature and exposure time. **J Oral Rehabil**, Aarhus, v. 26, n. 2, p. 624-630, Feb. 1999a.

AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M.; EDGAR, W. M. Techniques for the production of dental eroded lesions *in vitro*. **J Oral Rehabil**, Aarhus, v. 26, n. 2, p. 97-102, Feb. 1999b.

ANDERSON, P.; HECTOR, M.P.; RAMPERSAD, M.A. Critical pH in resting and stimulated whole saliva in groups of children and adults. **Int J Paed Dent**, London, v. 11, n. 4, p. 266-273, July 2001.

ARENDS, J.; TEN BOSCH, J.J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. **J Den Res**, Minneapolis, v. 71, Special Issue, p. 924-928, 1992.

BASHIR, E.; LAGERLÖF, F. Effect of citric acid clearance on the saturation with respect to hidroxiapatita in saliva. **Caries Res**, Basel, v. 30, n. 3, p. 213-217, May/June 1996.

CRAINS, A.M. The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion. **J Dent**, Kidlington, v. 30, n. 7-8, p. 313-317, Sept./Nov. 2002.

DOWNER, M.C. The 1993 national survey of children's dental health. **Br Dent J**, London, v. 178, n. 11, p. 407-412, June 1995.

EISENBURGER, M. et al. Effect of time on the remineralization of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. **Caries Res**, Basel, v. 35, n. 3, p. 211-215, May/June 2001.

EDWARDS, M. et al. Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion. **J Oral Rehabil**, Aarhus, v. 26, n. 12, p. 923-927, Dec. 1999.

<sup>1</sup> Baseado nas normas da ABNT (NBR 6023 de2002)

FEATHERSTONE, J.D. et al. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res**, Basel, v. 17, n. 5, p. 385-391, Sept./Oct. 1983.

FULLER, J.L.; JOHNSON, W.W. Citric acid consumption and human dentition. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 95, n. 1, p. 80-84, Jan. 1977.

GOUVEIA, M.M.A. **Avaliação do pH, capacidade tampão, teor de flúor de sucos de frutas industrializados e morfologia e microdureza do esmalte de dente decíduo erodido pelo suco de laranja e incubado em saliva artificial: estudo *in vitro***. Florianópolis, 1999. 165p. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria). Universidade Federal de Santa Catarina, 1999.

GRENBY, T.H. et al. Laboratory studies of the dental properties of soft drinks. **Br J Nutr**, London, v. 62, n. 2, p. 451-464, Feb. 1989.

GRENBY, T.H. Methods of assessing erosion and erosive potential. **Eur J Oral Sci**, Göteborg, v. 104, n. 2 (pt. 2), p. 207-214, Apr. 1996a.

GRENBY, T.H. Lessening dental erosive potential by product modification. **Eur J Oral Sci**, Göteborg v. 104, n. 2 (pt. 2), p. 221-228, Apr. 1996b.

GROBLER, S. R.; VAN DER HORST, G. Biochemical analysis of various cooldrinks with regard to enamel erosion, de- and remineralization. **J Dent Assoc S Afr**, v. 37, n. 10, p. 681-684, 1982.

HUGHES, J. A. et al. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, *in vitro*. **J Dent**, Kidlington, v. 28, n. 2, p. 147-152, Feb. 2000.

HUNTER, M.L. et al. Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue in the oral environment. **J Dent**, kidlington, v. 28, n. 4, p. 257-263, May 2000a.

HUNTER, M.L. et al. Relative susceptibility of deciduous and permanent dental hard tissues to erosion by a low pH fruit drink *in vitro*. **J Dent**, Kidlington, v. 28, n. 4, p. 265-270, May 2000b.

IMFELD, T. Dental erosion: definition, classification and links. **Eur J Oral Sci**, Göteborg, v. 104, n. 2 (pt. 2), p.151-155, Apr. 1996a.

IMFELD, T. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. **Eur J Oral Sci**, Göteborg, v. 104, n. 2 (pt. 2), p. 215-220, Apr. 1996b.

JÄRVINEN, V.K.; RYTÖMA, I.I.; HEINONEN, O.P. Risk factors in dental erosion. **J Dent Res**, Minneapolis, v. 70, n. 6, p. 942-947, June 1991.

JOHANSSON, A.K. et al. *In vitro* effect of citric acid on deciduous and permanent enamel. **Caries Res**, Basel, v. 32, n. 4, p. 310, July/Aug. 1998. Abstract n. 125.

JOHANSSON, A.K. et al. Dental erosion in deciduous teeth – an *in vivo* and *in vitro* study. **J Dent**, Kidlington, v. 29, n. 5, p. 333-340, July 2001.

JONES, S.G.; NUNN, J.H. The dental health of 3-year-old children in East Cumbria 1993. **Community Dent Health**, v. 12, n. 3, p. 161-166, 1995.

LARSEN, M.J. Degrees of saturation with respect to apatites in fruit juices and acidic drinks. **Scand J Dent Res**, Copehagen, v. 83, n. 1, p. 13-17, Jan. 1975.

LARSEN, M.J. Chemical events during tooth dissolution. **J Dent Res**, Minneapolis, v. 69, spec. iss., p. 575-580, Jan. 1990.

LARSEN, M.J. On the chemical and physical nature of erosions and caries lesions in dental enamel. **Caries Res**, Basel, v. 25, n. 5, p. 323-329, Sept./Oct. 1991.

LARSEN, M.J.; NYVAD, B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. **Caries Res**, Basel, v. 33, n. 1, p. 81-87, Jan./Feb. 1999.

LARSEN, M.J. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. **Caries Res**, Basel, v. 35, n. 3, p. 229-234, May/June 2001.

LARSEN, M.J.; RICHARDS, A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. **Caries Res**, Basel, v. 36, n. 1, p. 75-80, Jan./Feb. 2002.

LUSSI, A. et al. Dental erosion in a population of Swiss adults. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 19, n. 5, p. 286-290, 1991.

LUSSI, A. et al. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an *in vitro* model. **Eur J Oral Sci**, Göteborg, v. 108, n. 2, p. 110-114, Apr. 2000.

LUSSI, A.; JÄGGI, T.; SCHÄRER, S. The influence of different factors on *in vitro* enamel erosion. **Caries Res**, Basel, v. 27, n. 5, p. 387-393, Sept./Oct. 1993.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; JAEGGI-SCHÄRER, S. Prediction of the erosive potential of some beverages. **Caries Res**, Basel, v. 29, n. 5, p. 349-354, Sept./Oct. 1995.

MAIA, L.C.; MODESTO, A. Análise comparativa, ao microscópio eletrônico de varredura, de esmalte bovino exposto a diferentes soluções ácidas. Um estudo *in vitro*. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v. 10, n. 3, p. 161-168, jul./set. 1996.

MAUPOMÉ, G. et al. *In vitro* quantitative assessment of enamel microhardness after exposure to eroding immersion in a cola drink. **Caries Res**, Basel, v. 32, n. 2, p. 148-153, Mar./Apr. 1998.

MAUPOMÉ, G. et al. *In vitro* quantitative microhardness assessment of enamel with early salivary pellicles after exposure to an eroding cola drink. **Caries Res**, Basel, v. 33, n. 2, p. 140-147, Mar./Apr. 1999.

MEREDITH, N. et al. Measurement of the microhardness and Young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. **Arch Oral Biol**, Kidlington, v. 41, n. 6, p. 539-545, June 1996.

MEURMAN, J.H. et al. Experimental sports drink with minimal dental erosion effect. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 98, n. 2, p. 120-128, Feb. 1990.

MILLWARD, A.; SHAW, L.; SMITH, A. Dental erosion in four year-old children from differing socioeconomic backgrounds. **J Dent Child**, Chicago, v. 61, n. 4, p. 263-266, July 1994.

MILLWARD, A. et al. The distribution and severity of tooth wear and the relationship between erosion and dietary constituents in a group of children. **Int J Paed Dent**, London, v. 4, n. 3, p. 151-157, May 1994.

MILLWARD, A. et al. Continuous monitoring of salivary flow rate and pH at the surface of the dentition following consumption of acidic beverages. **Caries Res**, Basel, v.31, n. 1, p. 44-49, Jan./Feb. 1997.

NUNN, J.H. et al. Dental erosion – changing prevalence? A review of British national childrens' surveys. **Int J Paed Dent**, London, v. 13, n. 2, p. 98-105, Mar. 2003.

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3ed. São Paulo, 1985.

O'SULLIVAN, E.A.; CURZON, M.E.J. A comparison of acidic dietary factors in children with and without dental erosion. **J Dent Child**, Chicago, v. 67, n. 3, p. 186-192, May 2000a.

O'SULLIVAN, E.A.; CURZON, M.E.J. Salivary factors affecting dental erosion in children. **Caries Res**, Basel, v. 34, n. 1, p. 82-87, Jan./Feb. 2000b.

RATH, I.B.S. **Análise morfológica e bioquímica da deposição do fluoreto no esmalte de dente decíduo humano erodido pelo suco de limão**. Estudo *in vitro*. Florianópolis, 1995. 138p. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Odontopediatria). Universidade Federal de Santa Catarina, 1995.

SMITH, A.J.; SHAW, L. Baby fruit juices and tooth erosion. **Br Dent J**, London, v.162, n. 2, p. 65-67, Jan. 1987.

SOBRAL, M.A.P. et al. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. **Pesqui Odontol Bras**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 406-410, dez. 2000.

SORVARI, R.; KIVIRANTA, I.; LUOMA, H. Erosive effect of a sport drink mixture with and without addition of fluoride and magnesium on the molar teeth of rats. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 96, n. 3, p. 226-231, Apr. 1988.

TEN CATE, A.R. Enamel structure. In:\_\_\_\_\_. **Oral Histology**: development, structure and function. 4 ed. St. Louis: Mosby, 1994. cap. 12, p. 239-256.

TEN CATE, J.M. What dental diseases are we facing in the new millennium: some aspects of research agenda. **Caries Res**, Basel, v. 35, suppl. 1, p. 2-5, Jan. 2001.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. 2. ed. São Paulo: Santos, 1995.

TUCKER, K. et al. Human enamel as a substrate for *in vitro* acid dissolution studies: influence of tooth surface and morphology. **Caries Res**, Basel, v. 32, n. 2, p. 135-140, Sept. 1998.

WEST, N.X. et al. A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel. **J Dent**, v. 26, n. 4, p. 329-335, 1998.

WEST, N.X.; HUGHES, J.A.; ADDY, M. Erosion of dentine and enamel *in vitro* by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. **J Oral Rehabil**, v. 27, n. 10, p. 875-880, 2000.

WEST, N.X.; HUGHES, J.A.; ADDY, M. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids *in vitro*. **J Oral Rehabil**, v. 28, n. 9, p. 860-864, 2001.



## APÊNDICE A

### Tratamento estatístico dos valores de pH e capacidade tampão dos sucos de laranja

Para a análise do pH e da capacidade tampão dos sucos de laranja, construiu-se um *modelo misto* para medidas repetidas, visto que houve interdependência entre os dados, ou seja, um mesmo lote fornecia informações diferentes. Esse modelo estatístico permitiu estimar o valor de cada suco, levando em conta a repetição das medidas e, desta forma, obter um maior poder estatístico para a análise.

A estrutura de covariância utilizada nesse modelo foi a *não-estruturada*, tendo sido determinada através do critério Bayesiano de Schwarz. As comparações dois a dois entre os sucos foram feitas pelo método de Tukey-Kramer, e entre o pH e a capacidade tampão, pelo método de Pearson, considerando-se significantes as diferenças estatísticas com  $p < 0,05$  (**quadros 3 e 4**).

Os softwares utilizados para essa análise estatística foram o SAS System 8.02 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) e o SPSS 10.0.1 (SPSS Inc.).



