

COMPARAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO DE BEBIDAS ÁCIDAS NO DESENVOLVIMENTO DA EROÇÃO DENTAL: ANÁLISE POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

COMPARISON *IN VITRO* OF THE EFFECT OF ACIDIC DRINKS IN THE DEVELOPMENT OF DENTAL EROSION: ANALYSIS BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

Renata Megda Paes LEME¹; Rodrigo Antônio de FARIA²; Juliana Bisinotto GOMES³; José Daniel Biasoli de MELLO⁴, Letícia de Souza CASTRO-FILICE⁵

1. Acadêmica do Curso de Odontologia do Centro Universitário do Triângulo – UNITRI e bolsista do Programa Institucional de Iniciação Científica da FAPEMIG. Uberlândia, MG, Brasil. 2. Professor, Mestre, Curso de Odontologia – UNITRI. 3. Professora, Mestre, Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia – UFU. Uberlândia, MG, Brasil. 4. Professor, Doutor, Faculdade de Engenharia Mecânica – UFU. 5. Professora, Mestre, Laboratório de Biologia Celular e Tecidual da Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC. Araguari, MG, Brasil (leticiafilice@gmail.com).

RESUMO: O consumo regular de bebida ácida tem sido associado com o aumento da incidência de erosão dental, o que pode levar a graves conseqüências para a saúde bucal pela perda de tecido mineralizado, resultando em sensibilidade, dor e má aparência. O presente trabalho teve como objetivo estudar a importância do pH da dieta líquida industrializada na etiologia das lesões de erosão dental, bem como avaliar, *in vitro*, a influência do refrigerante de limão (Soda limonada®), do suco à base de soja sabor laranja (Ades®), da bebida isotônica sabor tangerina (Gatorade®) e do refrigerante de Cola (Coca-cola®) empregadas rotineiramente na alimentação de alunos em idade escolar, em função do tempo de exposição. Para este estudo foram utilizadas cinco coroas de incisivos e molares permanentes humanos livres de trincas e/ou fraturas, extraídos na Clínica de Cirurgia do Centro Universitário do Triângulo (UNITRI). Os espécimes foram divididos aleatoriamente em cinco grupos, sendo o pH das bebidas aferido por meio de um pHmetro, imediatamente após a abertura de cada frasco de bebida industrializada. Os ciclos de imersão foram realizados sob agitação, durante cinco minutos, três vezes ao dia, com intervalos de quatro horas, durante 30 dias. Todas as coroas de incisivos e molares submetidos ao protocolo foram observadas por microscopia eletrônica de varredura e após análise concluiu-se que as quatro bebidas avaliadas apresentaram potencial erosivo, sendo que o refrigerante à base de cola alterou o esmalte de forma mais intensa seguido pelo refrigerante de limão, bebida isotônica e suco à base de soja.

PALAVRAS-CHAVE: Erosão dental. Bebidas ácidas. Esmalte dental. Microscopia de varredura.

INTRODUÇÃO

Com a diminuição da prevalência de cárie, decorrente dos conceitos atuais de promoção da saúde bucal e melhoria nos hábitos de higiene através da educação dos pacientes, a preocupação com a perda dos elementos dentais volta-se para outras causas como o desgaste dental e a doença periodontal.

O desgaste dental pode ser classificado em atrição, abrasão, abfração e erosão. O diagnóstico dessas categorias é dificultado uma vez que os mecanismos de desgaste raramente agem sozinhos, existindo uma inter-relação entre esses fatores (ADDY; SHELLIS, 2006).

A erosão dentária é um processo multifatorial sendo cumulativa e irreversível quando muito acentuada (GANDARA; TRUELOVE, 1999). O termo clínico, erosão dental, é usado para descrever os efeitos físicos de uma perda localizada, crônica e patológica de tecido mineral que é removido quimicamente da superfície do dente por meio de

ácido ou substâncias quelantes, sem envolvimento bacteriano direto (LUSSI; JAEGGI, 2008; BARATIERI et al, 2001). Esse processo de perda mineral pode ser resultante de fontes intrínsecas (diminuição do fluxo salivar, doenças que provocam distúrbios gastrintestinais e produzem constante regurgitação como hipertireoidismo, bulimia, refluxo gástrico e anorexia nervosa), fontes extrínsecas (dieta, meio ambiente, no caso de piscinas cloradas e uso de medicamentos, como vitamina C, ácido clorídrico e aspirina) ou ainda por fatores idiopáticos (sem causa estabelecida) (LUSSI; JAEGGI, 2008; SCHEUTZEL, 1996). As interações químicas, biológicas e comportamentais ajudam a explicar porque alguns indivíduos possuem mais erosão que outros (SOBRAL et al., 2000).

A erosão dental caracteriza-se por uma desmineralização do esmalte (dissolução da substância orgânica). O processo inicial de erosão nas faces lisas do dente destaca-se pela diminuição do brilho, aspecto arredondado e presença de uma

pequena faixa de esmalte que separa a área desmineralizada da gengiva marginal (CORRER, 2009). A erosão na superfície oclusal provoca arredondamento das cúspides e forma o de concavidades que podem expor a dentina (LUSSI et al., 1991).

Perdas gradativas de tecidos podem resultar em sensibilidade, dor e má aparência. Em acréscimo, o tratamento restaurador do esmalte e/ou dentina perdidos   difícil, oneroso e requer contínuo acompanhamento (NUNN, 1996; MAHONEY; KILPATRICK, 2003). Dentre os fatores etiológicos mais estudados na erosão dental destacam-se os ácidos provenientes da dieta, em fun o do alto consumo de bebidas ácidas e industrializadas que está ocorrendo atualmente. A grande oferta de bebidas disponíveis no mercado e a variedade de frutas ácidas apresentam um fator preponderante no desenvolvimento das lesões por erosão dental (LUSSI, et al, 2006)

Clinicamente observa-se uma rela o entre o desenvolvimento de lesões de erosão dental e a ingestão de bebidas e g neros alimentícios considerados  cidos (WEST et al, 2001). As lesões por erosão dental decorrentes da ingestão de frutas e sucos c tricos são localizadas com maior freq ncia por vestibular, no terço cervical dos dentes anteriores, apesar de existirem a possibilidade de ocorrerem em qualquer região do elemento dental (SCHEUTZEL, 1996). A  rea cervical   normalmente mais afetada porque a auto-limpeza   menor do que em outras regiões e, com isso, o ácido permanece neste local por um período mais prolongado. A saliva não atua rapidamente neste local e o seu efeito tampão demora mais para ocorrer (FULLER; JOHNSON, 1977).

Verifica-se, em condi es *in vitro*, ao ser submetida a solu es aquosas ácidas com pH variando de 4 a 5, a superfície do esmalte sofre erosões semelhantes às lesões ocorridas *in vivo*. Isto pode acontecer quando o pH salivar está inferior a 4,5 ou quando recebe influência da ingestão de bebidas ácidas ou frutas (MOK et al., 2001). Devido ao fato do pH crítico do esmalte dentário ser de aproximadamente 5,5, qualquer soluço com pH inferior a esse poderá causar erosão, particularmente se o ataque for de longa dura o e repetir-se freqüentemente (MEURMAN; TEN CATE, 1996).

Vários métodos têm sido utilizados, em estudos laboratoriais, para a análise da dureza superficial em erosão dental, que pode ser realizada por microscopia eletrônica de varredura. Um estudo de J rvinen et al., (1991) demonstrou que a ingestão de frutas cítricas, em freq ncia maior que duas vezes ao dia, aumenta o risco de lesões por erosão

em 37 vezes. Riscos semelhantes parecem ocorrer com a ingestão de vinagre de maça (10 vezes maior), bebidas esportivas (quatro vezes maior) e refrigerantes (quatro vezes maior), quando consumidas diariamente (FOSTER; READMAN, 2009).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* a a o de bebidas industrializadas empregadas rotineiramente na alimenta o, em fun o do tempo de exposi o e sua rela o com a incidência de erosão dental, para que possamos melhorar a conduta clínica e orienta o do paciente.

MATERIAL E MÉTODOS

Após aprova o do projeto pelo Conselho de  tica do Centro Universitário do Triângulo - UNITRI (parecer n  715176), foram selecionados cinco incisivos e molares permanentes humanos hígidos livres de trincas e/ou fraturas do Banco de Dentes Humanos da mesma Faculdade. Os dentes receberam raspagem manual utilizando curetas, seguido de profilaxia com pasta de pedra pomes e água e escova de Robson montada em micromotor e baixa-rotac o.

Os dentes foram cortados no sentido v stibulo lingual/palatino utilizando disco diamantado com diâmetro de 22 mm, adaptado em peça-reta para separar a parte coronária da raiz e esta foi descartada. Os espécimes foram imersos em saliva artificial e mantidos em estufa a 37 C até o início dos ciclos de imersão/agita o.

Quatro produtos potencialmente ácidos e disponíveis comercialmente foram testados: refrigerante de limão (Soda limonada ); suco   base de soja sabor laranja (Ades ); bebida isotônica sabor tangerina (Gatorade ) e refrigerante de Cola (Coca-cola ) (Tabela 1).

Os corpos-de-prova foram divididos, aleatoriamente, em quatro grupos de acordo com as solu es a serem testadas e um grupo controle no qual os espécimes foram mantidos em saliva artificial. A Tabela 1 apresenta a composi o das solu es avaliadas.

Cerca de 30 ml de cada soluço relacionada foi colocada em frascos tipo Becker estéril e o pH das solu es foram obtidos através de um pHmetro com eletrodo de vidro e mostrador digital ATT. O aparelho foi previamente calibrado.

Os ciclos de imersão foram realizados mergulhando os corpos-de-prova na soluço específica, durante cinco minutos, sob agita o, três vezes ao dia, durante 30 dias. Após cada ciclo de imersão os espécimes foram lavados com água destilada, secos com papel absorvente, imersos em

15 ml de saliva artificial e mantidos em estufa a 37°C, até o próximo procedimento de imersão/agitação. No grupo controle os espécimes foram mantidos por 30 dias em saliva artificial. Foram realizadas trocas diárias da saliva artificial em todos os grupos. Todas as bebidas estavam à temperatura ambiente e antes de cada ciclo de

imersão/agitação o pH era aferido e registrado. O refrigerante à base de limão e o refrigerante à base de cola, por serem gaseificados, foram descartados após cada ciclo, sendo que o suco à base de soja sabor laranja e a bebida isotônica sabor tangerina foram desprezados diariamente.

Tabela 1. Composição das bebidas industrializadas utilizadas.

Solução	Composição
Coca-cola®	Água gaseificada, Açúcar, Caramelo, Cafeína, Ácido fosfórico, Folha descocainizada de coca, Noz de cola, Conservante
Soda limonada®	Água gaseificada, Açúcar, Suco Natural de limão, Acidulante (ácido cítrico), Conservante, Aroma natural
Gatorade® tangerina	Água, Acidulante (ácido cítrico), Corante, Sacarose, Glicose, Citrato de sódio, Cloreto de Sódio, Fosfato de potássio monobásico, Suco concentrado de tangerina
Ades® laranja	Água, Açúcar, Extrato de soja, Suco concentrado de laranja, Vitamina C, Estabilizante, Pectina cítrica, Acidulante (ácido cítrico), Aromatizante
Saliva artificial	Fosfato diácido de potássio, Fosfato dibásico de potássio, Cloreto de potássio, Cloreto de sódio, Cloreto de magnésio, Cloreto de cálcio, Fluoreto de sódio, Aromatizante, Conservante, Benzoato de sódio 10%, Água q.s.p

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH registrado para as bebidas variou de 2,3 a 4,0, conforme demonstrado na tabela 2. Os valores médios obtidos nesse estudo para bebidas industrializadas mostram que o menor valor encontrado foi o do refrigerante à base de cola e o maior foi o do suco à base de soja.

Sabemos que os ácidos presentes em algumas bebidas podem levar à desmineralização da matriz inorgânica do dente. Além do pH outros fatores determinam a estabilidade dos cristais de hidroxiapatitas do esmalte: a concentração de íons fosfato, cálcio e flúor (FUSHIDA; CURY, 1999).

Tabela 2. pH médio registrado para as bebidas.

Bebida	pH (médio)
Coca-cola®	2,3
Soda limonada®	2,9
Gatorade®	2,9
Ades®	4,0

O pH das bebidas usadas nesse experiência eram mais baixos que o pH crítico para dissolução do esmalte dentário (5,5). Estes achados indicam que essas bebidas são soluções com habilidade para agir com agente erosivo.

Mediante análise em microscopia eletrônica de varredura, constatou-se que o esmalte dos dentes submetidos à ação das bebidas industrializadas

apresentava aspecto morfológico diferente do registrado no grupo controle (Figura 1), verificando-se a presença de pontos de erosão expressivos nos espécimes expostos ao refrigerante à base de cola - Coca-Cola® (Figura 2), refrigerante de limão - Soda Limonada® (Figura 3), suco à base de soja sabor laranja - Ades® (Figura 4) e bebida isotônica sabor tangerina - Gatorade® (Figura 5). Nos espécimes do

grupo controle não observamos alterações microestruturais superficiais.

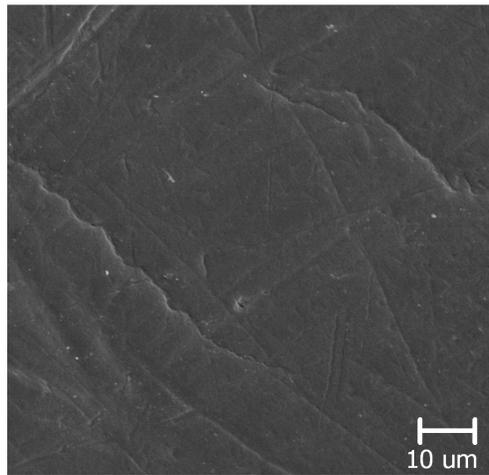


Figura 1. Eletromicrografia do esmalte mantido em saliva artificial (grupo-controle).

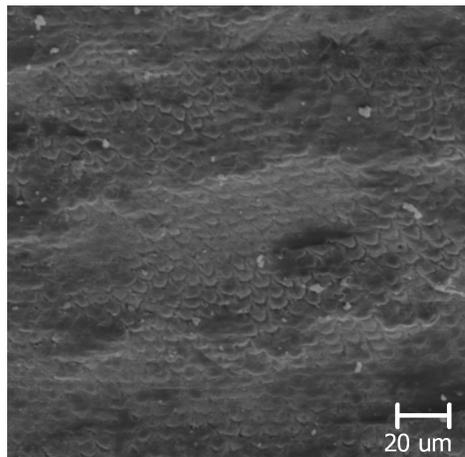


Figura 2. Eletromicrografia do esmalte submetido à ação de refrigerante à base de cola.

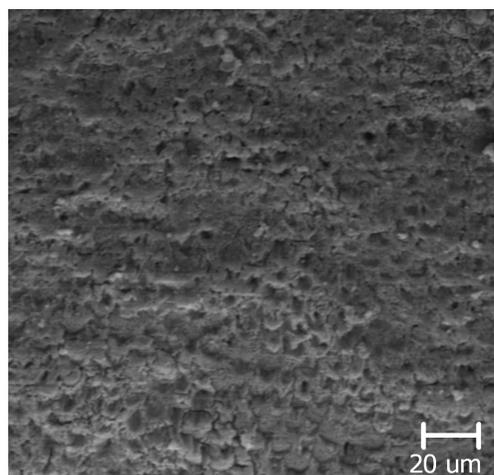


Figura 3. Eletromicrografia do esmalte submetido à ação de refrigerante de limão - Soda Limonada®.

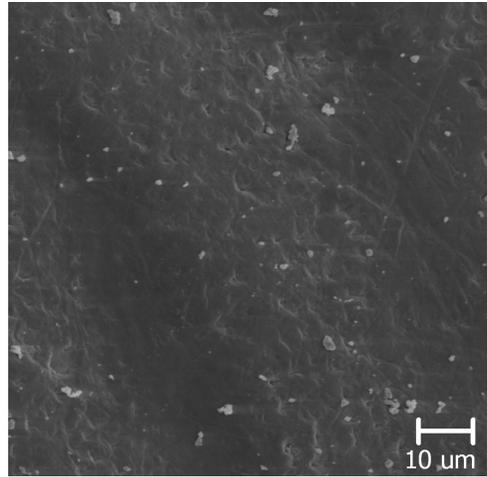


Figura 4. Eletromicrografia do esmalte submetido à ação do suco à base de soja sabor laranja - Ades®.

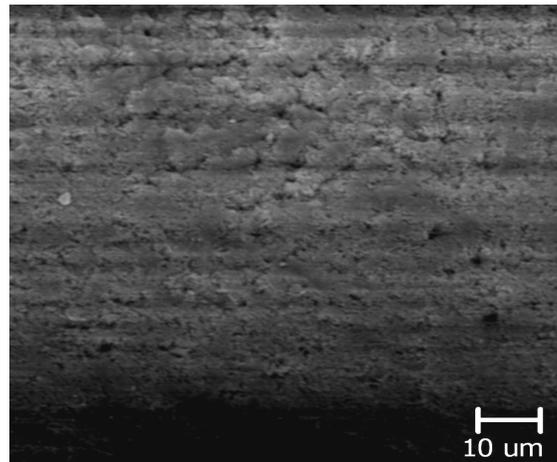


Figura 5. Eletromicrografia do esmalte submetido à ação de bebida isotônica sabor tangerina - Gatorade®

Pôde-se observar em Microscopia Eletrônica de Varredura que o grupo de dentes mantido no refrigerante de limão apresentou nítida perda de minerais, aumentando a porosidade do esmalte e formando concavidades. Os espécimes submetidos à ação do suco à base de soja apresentaram uma desmineralização gradual e homogênea do esmalte. Em relação ao grupo de dentes mantidos sob a ação do refrigerante à base de cola podemos observar uma intensa desmineralização do esmalte. Enquanto que os espécimes da bebida isotônica apresentaram uma superfície desgastada irregular.

As erosões observadas no esmalte dos espécimes avaliados exibiram como característica dominante, a exposição dos prismas do esmalte (JAEGGI; LUSSI, 2006). A aparência da erosão progredindo da dissolução da camada aprismática

do esmalte até a exposição completa das áreas prismáticas é característica da erosão severa do esmalte. (DAVIS; WINTER, 1980)

Os resultados deste estudo comprovam que os refrigerantes de cola e de limão, o suco à base de soja e a bebida isotônica, freqüentemente empregados na alimentação, possuem potencial erosivo nos dentes permanentes. No entanto, as bebidas ácidas apresentam diferentes potenciais erosivos, de acordo com suas características de pH, capacidade tampão, concentração de cálcio, flúor e fosfato, tipo de ácido (LUSSI; JAEGGI, 2008) e temperatura (BARBOUR et al., 2006)

Ácidos diferentes podem agir de forma significativamente diferente quando em contato com a estrutura da película salivar. Sabe-se que em processos de desmineralização o tipo de ácido e sua concentração é mais importante do que o pH em

determinar o potencial erosivo de uma dada substância (MOK et al, 2001).

A quantidade total de ácido ou pH reflete diretamente o potencial erosivo de uma bebida sobre os dentes (BURATTO et al, 2002). Ou seja, quanto mais baixo o pH, maior a quantidade de hidróxido de sódio (NaOH) necessária para neutralizar uma solução, menor será a sua capacidade tampão (LARSEN; NYVAD, 1999).

De acordo com estudos realizados por Larsen e Nyvad (1999), as concentrações de íons cálcio e fosfato nas bebidas ácidas geralmente são baixas e não efetivas na prevenção da erosão, além disso, a adição de cálcio e o aumento do pH geram um sabor de menor aceitação.

Na tentativa de minimizar as diferenças entre este e os estudos *in vivo* ou *in situ*, foi utilizada a saliva artificial para a manutenção dos espécimes nos intervalos imersão/agitação, tentando compensar as limitações de um estudo *in vitro*. Alguns autores verificaram que a película salivar formada sobre a superfície do esmalte podia protegê-lo, até determinado grau, contra a desmineralização ocorrida devido à exposição ácida. (MEURMAN et al., 1996; HANNIG; BALTZ, 1999).

As imersões foram realizadas por agitação para simular a maneira como os dentes são banhados pela bebida no momento da ingestão. Além disso, a agitação permite que haja renovação do líquido sobre a estrutura do esmalte.

CONCLUSÕES

As quatro bebidas avaliadas apresentaram potencial erosivo, sendo que o refrigerante à base de cola alterou o esmalte de forma mais intensa seguido pelo refrigerante de limão, bebida isotônica e suco à base de soja, respectivamente.

A imersão em saliva, precedente à exposição às bebidas, não protegeu o esmalte dos espécimes contra a desmineralização, neste modelo experimental.

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG, pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica e ao Laboratório de Tribologia e Materiais (LTM) da Faculdade de Engenharia Mecânica (FEMEC) da Universidade Federal de Uberlândia, na pessoa do Prof. Dr. J. D. Biasoli, pelo suporte técnico na realização das microscopias eletrônicas de varredura.

ABSTRACT: Regular consumption of acidic drinks has been associated with increased incidence of dental erosion, which can lead to serious consequences for oral health for the loss of mineralized tissue, resulting in tenderness, pain and poor appearance. The goal of present work was to study the importance of the pH of the liquid diet industrialized in the etiology of dental erosion and to evaluate *in vitro* the influence of soda lime (Soda limonada ®), juice soy orange flavor (Ades ®), the tangerine flavor sports drink (Gatorade ®) and soda Cola (Coca-Cola ®) routinely used in the feeding of school-age students, depending on the time of exposure. For this study we used five crowns of incisors and molars human free of cracks and/or fractures, extracted in the Surgery Clinic of the University Center of the Triangle (UNITRI). The specimens were randomly divided into five groups, with the pH of the beverages was measured using a pH meter immediately after the opening of each bottle of liquor industrialized. The cycles of immersion were carried out under agitation for five minutes, three times daily at intervals of four hours for 30 days. All the crowns of incisors and molars submitted to the protocol were observed by scanning electron microscopy and after consideration it was concluded that the four drinks had evaluated potential erosion, and the refrigerant-based cola changed the enamel more intensely followed by soda lemon, juice and sports drink soy.

KEYWORD: Dental erosion. Acidic drinks. Enamel. Scanning electron microscopy.

REFERÊNCIAS

ADDY, M.; SHELLIS, R. P. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. **Monogr Oral Sci**, Basel, v. 20, p. 17-31, 2006.

BARATIERI, L. N. et al. **Odontologia Restauradora: fundamentos e possibilidades**. São Paulo: Liv. Santos Ed, 2001. p. 361-71.

- BARBOUR, M. E.; FINKE, M.; PARKER, D. M.; HUGHES, J.A.; ALLEN, G. C.; ADDY, M. The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. **J Dent**, Michigan, v. 34, n 3, p. 207-13, 2006.
- BURATTO, E. M.; ANDRADE, L.; RATH, I. B. S.; TAMES, D. R. Avaliação do potencial erosivo aos tecidos duros dentais de bebidas esportivas nacionais. **Rev ABO Nac**, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 109-12, 2002.
- CORRER, G. M.; ALONSO, R. C.; CORREA, M. A.; CAMPOS, E. A.; BARATTO-FILHO, F.; PUPPIN-RONTANI, R. M. Influence of diet and salivary characteristics on the prevalence of dental erosion among 12-year-old schoolchildren. **J Dent Child**, Chicago, v. 76, n. 3, p.181-7, 2009.
- DAVIS, W. B.; WINTER, P. J. The effect of abrasion on enamel and dentine and exposure to dietary acid. **Br Dent J**, São Paulo, v. 148, p. 253-6, 1980.
- FOSTER, M.; READMAN, P. Sports dentistry--what's it all about? **Dent Update**, Guildford, v. 36, n. 3, p.135-8, 141-4, 2009.
- FULLER, J. L.; JOHNSON, W. W. Citric acid consumption and the human dentition. **J Am Dent Ass**, Chicago, v. 95; p. 80-84, 1977.
- FUSHIDA, C. E.; CURY, J. A. Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de Coca-Cola® na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. **Rev Odonto Univ São Paulo**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 406-410, 1999.
- GANDARA, B. K.; TRUELOVE, E. L. Diagnosis and management of dental erosion. **J Contemp Dent Pract**, Cincinnati, v. 15, n. 1, p. 16-23, 1999.
- HANNIG, M.; BALTZ, M. Influence of *in vivo* formed salivary pellicle on enamel erosion. **Caries Res**, v. 33, n. 5, p. 372-9, 1999.
- JAEGGI, T.; LUSSI, A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. **Monogr Oral Sci**, Basel, v. 20, p. 44-65, 2006.
- JÄRVINEN, V. K.; RYTÖMAA, I. I.; HEINONEN, O. P. Risk factors in dental erosion. **J Dent Res**, San Diego, v. 70, n. 6, p. 942-7, 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. 81-7, 1999.
- LUSSI, A.; HELLWIG, E.; ZERO, D.; JAEGGI, T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. **Am J Dent**, Cordova, v. 19, n. 6, p. 319-25, 2006.
- LUSSI, A.; JAEGGI, T. Erosion --Diagnosis and risk factors. **Clin Oral Invest**, Berlin, v. 12, p. S5–S13, 2008.
- LUSSI, A.; SCHAFFNER, M.; HOTZ, P.; SUTER, P. Dental erosion in a population of Swiss adults. **Community Dent Oral Epidemiol**, Frederiksberg, v. 19, n. 5, p. 286-290, 1991.
- MAHONEY, E. K.; KILPATRICK, N. M. Dental erosion: part 1. Aetiology and prevalence of dental erosion. **N Z Dent J**, Auckland, v. 99, n. 2, p. 33-41, 2003.
- MEURMAN, J. H.; SORVARI, R.; PELTTARI, A.; RYTÖMAA, I.; FRANSSILA, S.; KROON, L. Hospital mouth-cleaning aids may cause dental erosion. **Spec Care Dentist**, Chicago, v. 16, n. 6, p. 247-50, 1996.
- MEURMAN, J. H.; TEN CATE, J. M. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. **Eur J Oral Sci**, Göteborg, v. 104, p.199-206, 1996.

MOK, T. B.; MCINTYRE, J.; HUNT, D. In vitro model of wine assessor's erosion. **Aust Dent J**, Malden, v. 46, p. 263-8, 2001.

NUNN, J. H. Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. **Eur J Oral Sci**, Göteborg, v. 104, n. 2, p.156-161, 1996.

SCHEUTZEL P. Etiology of dental erosion-intrinsic factors. **Eur J Oral Sci**, Göteborg, v. 104, n. 2, p. 178-90, 1996.

SOBRAL, M. A. P.; LUZ, M. A. A. de C.; GAMA-TEIXEIRA, A.; GARONE NETTO, N. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. **Pesqui Odontol Bras**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 406-410, 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. **Journal of Oral Rehabilitation**, Aarhus, v. 28; p. 860-864, 2001.