

ANÁLISE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA SUPERFÍCIE DO ESMALTE DENTÁRIO SUBMETIDO À AÇÃO DE SUCOS DE FRUTAS CÍTRICAS

ANALYSIS IN ELECTRONIC MICROSCOPY OF SWEEPING OF THE SURFACE OF THE DENTAL ENAMEL SUBMITTED CITRIC FRUIT JUICE ACTION

Claudino, Lígia Vieira*
Valença, Ana Maria Gondim**
Medeiros, Maria Isabel Dantas de*
Medeiros, Luana Abílio Diniz Melquíades de*
Lima, Severino Jackson Guedes de***

RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar a superfície do esmalte humano submetido à ação de diferentes sucos de frutas cítricas, em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram selecionados 22 dentes extraídos por razões ortodônticas, livres de trincas e/ou fraturas, sendo obtidos 44 blocos de esmalte a partir das superfícies vestibulares e linguais/palatinas destes elementos. Os blocos foram aleatoriamente divididos em 10 grupos experimentais (n = 4), submetidos ao contato por 5 minutos com: sucos diluídos (300 ml de suco + 300 ml de água) das frutas: G1 – abacaxi; G2 – caju; G3 – acerola; G4 – laranja; G5 – limão; e com sucos puros das frutas: G1' – abacaxi; G2' – caju; G3' – acerola; G4' – laranja; G5' – limão; e um grupo controle – G6 (n = 4). O pH foi mensurado, após a preparação dos sucos. Em seguida os espécimes foram lavados em água destilada e armazenados para posterior observação em MEV. O pH registrado para os sucos foi: G1 – 3,5; G2 – 4,0; G3 – 2,8; G4 – 3,5; G5 – 1,7; G1' – 3,6; G2' – 3,84; G3' – 2,84; G4' – 3,09; G5' – 1,64. Constatou-se a presença de áreas erosivas nos grupos experimentais que diferiam morfológicamente do esmalte registrado no grupo controle. As alterações foram mais expressivas nos grupos submetidos aos sucos de limão, acerola e abacaxi, sendo estas mais evidentes nos espécimes expostos aos sucos puros de limão e laranja e, aos sucos diluídos de acerola, abacaxi e caju. Conclui-se que, os sucos de frutas avaliados apresentaram pH ácido, demonstrando potencial erosivo, sendo este fato confirmado pelas alterações na superfície do esmalte exposto a tais líquidos.

UNITERMOS: erosão; dieta; esmalte.

SUMMARY

The objective of this work was evaluate the surface of the human dental enamel submitted to the action of different juices of citric fruits, in Sweeping Electronic microscopy (SEM). 22 human teeth were selected (premolar and third molar) extracted for orthodontic reasons, free form trines and/or fractures, being obtained 44 enamel blocks Starting from the initial surfaces and tong/Palatines of these elements. The blocks were divided in 10 experimental groups (n = 4) and submitted to the contact by 5 minutes with diluted juices (300 ml of juice + 300 ml of water) of the fruits: G1 – pineapple; G2 – cashew; G3 – acerola; G4 – orange; G5 – lemon. And a group control (G6) (n = 4). The pH was in register after the preparation of

* Alunas do Curso de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba.

** Doutora em Odontologia Social pela Universidade Federal Fluminense. Professora Adjunta do Departamento de Clínica e Odontologia Social da Universidade Federal da Paraíba.

*** Doutorado em Ciências dos Materiais pelo Institut National Polytechnique de Lorraine, França. Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia Mecânica.

the juices. Soon after the specimens were washed in distilled water and stored for after it analyzes in SEM. The pH registered for the juice it was G1 – 3,5; G2 – 4,0; G3 – 2,8; G4 – 3,5; G5 – 1,7; G1' – 3,6; G2' – 3,84; G3' – 2,84; G4' – 3,09; G5' – 1,64. It was evidenced presence of erosive areas in the experimental groups that had revealed morphologic aspect different from the registered in the group control. The alterations had been accented in the groups submitted to the acerola, lemon and pineapple juices, this evident in specimens displayed of lemon and orange pure juices and, acerola, pineapple and cashew diluted juices. It is unclad that, the juice as of fruits revealed pH acid, being this fact confirmed by the alternative in the surface of the exposed enamel to this liquids.

UNITERMS: erosion; diet; pH.

INTRODUÇÃO

A natureza e a estrutura da camada externa hígida do esmalte são de grande importância para a compreensão do processo de perda mineral que ocorre nas lesões provenientes da ação da dieta líquida ácida na superfície adamantina. Neste sentido, Meurman et al.¹² (1991) evidenciaram a influência de fatores estruturais em modificar a superfície ultra-estrutural e a progressão da lesão no esmalte.

O esmalte dental clinicamente sadio apresenta um aspecto vítreo resultante da disposição dos cristais de hidroxiapatita, cristal hidratado de fosfato de cálcio, que em decorrência de sua estreita aproximação uns com os outros confere a essa superfície a consistência dura e o aspecto reluzente. Os espaços inter cristalinos que separam um prisma do outro estão preenchidos com água e material orgânico. Esses espaços, conjuntamente, formam uma delgada rede de vias potenciais de difusão, microporos ou poros no esmalte. Caso haja uma diminuição dos cristais de hidroxiapatita decorrente da perda mineral dessa estrutura, os espaços inter cristalinos, em conseqüência, se alargam. Desse modo, haverá uma maior porosidade do tecido que, por mais discreta, altera as propriedades óticas do esmalte, dispersando a luz (Trylstrup et al.¹⁸, 1998).

Esta alteração torna-se perceptível se o esmalte afetado for seco com ar que tem índice de refração de 1,0, menor que o da hidroxiapatita que é de 1,62. Por conseguinte, o tecido se tornará opaco em virtude da significativa diferença entre os índices de refração da hidroxiapatita e dos espaços vazios preenchidos com ar. Sendo assim, à medida que a porosidade se acentua há uma diminuição da translucidez da superfície adamantina, conferindo ao esmalte o aspecto esbranquiçado sob o exame clínico e mais precisamente sob exame ótico e radiográfico (Amaechi et

al.¹, 2005; Buratto et al.³, 2002; Trylstrup et al.¹⁸, 1998).

A superfície do esmalte dentário está sujeita ao ataque ácido gerador de perda mineral aos níveis microscópico e macroscópico, proveniente do processo de fermentação desenvolvido por bactérias no biofilme dentário. Entretanto, o esmalte pode sofrer perda mineral sem que para isso seja necessária a presença de bactérias, pela ação de ácidos provenientes de fontes extrínsecas (dieta), de fontes intrínsecas (refluxo gástrico, anorexia nervosa, dentre outros) ou de fontes desconhecidas (idiopáticas), a esse processo dá-se o nome de erosão (Amaechi et al.¹, 2005; Buratto et al.³, 2002; Shafer et al.¹⁴, 1986; Thystrup et al.¹⁸, 1998).

A erosão confere aos elementos dentários, principalmente as suas faces labiais e vestibulares, a aparência lisa, sem aspecto de giz, podendo também ocorrer em suas faces proximais. A perda mineral do órgão dentário caracteriza-se por depressões côncavas, rasas, largas, lisas, altamente polidas na superfície do esmalte adjacente à junção cimento-esmalte podendo apresentar variações morfológicas (Amaechi et al.¹, 2005; Buratto et al.³, 2002; Thystrup et al.¹⁸, 1998). Quaisquer alterações na estrutura básica do esmalte que venham intensificar sua porosidade podem ser visualizadas por intermédio da microscopia eletrônica de varredura (Maia et al.¹¹, 1996; Thystrup et al.¹⁸, 1998).

Meurman et al.¹² (1991) realizaram um estudo *in vitro*, com microscopia eletrônica de varredura, tendo por finalidade observar o processo de erosão dentária em dentes humanos e bovinos submetidos ao ataque ácido da dieta líquida (ácidos cítrico, fosfórico e málico, por vários intervalos de tempo).

Maia et al.¹¹ (1996) utilizaram a microscopia eletrônica de varredura na análise comparativa do esmalte bovino exposto a diferentes soluções ácidas e identificaram uma acentuação visível do

contorno dos prismas de esmalte característica da ocorrência de um ataque ácido.

O consumo freqüente de bebidas ácidas, em especial, aquelas que contêm ácido cítrico, as quais apresentam pH para desmineralização do esmalte abaixo do cítrico ($< 5,5$) favorece a diminuição do pH da saliva resultando na diminuição de sua capacidade tamponante, responsável pela proteção dos dentes contra a desmineralização do esmalte (Bomfim et al.², 2001; Goveia et al.⁵, 2000; Thylstrup et al.¹⁸ 1998).

A grande variedade, o fácil acesso, o baixo custo e a comodidade são fatores que levam a população hodierna a um consumo acentuado das bebidas industrializadas de possível caráter ácido e conseqüente aumento na prevalência de erosão (Ten Cate et al.¹⁷, 1996).

Esse mecanismo de desgaste é menos freqüente do que aquele proveniente da ação bacteriana, mas pode ter conseqüências significativamente graves, sendo capaz de resultar em dor, sensibilidade e alterações estéticas (Luo et al.¹⁰, 2005; Nunn¹³, 1996; Thylstrup et al.¹⁸, 1998).

Face ao exposto o presente trabalho teve o propósito de avaliar a superfície do esmalte humano submetido à ação de diferentes sucos de frutas cítricas, em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

MATERIAL E MÉTODO

Utilizou-se uma metodologia de abordagem indutiva com procedimento comparativo levando-se em consideração as possíveis alterações qualitativas do esmalte dentário submetido à ação dos sucos de fruta cítricos (Lakatos et al.⁸, 1991).

Para tanto, foram selecionados 22 dentes humanos (pré-molares e terceiros molares) extraídos por razões ortodônticas, que se apresentavam, livres de trincas e/ou fraturas, sendo obtidos 44 blocos de esmalte a partir das faces vestibulares e linguais/palatinas destes elementos. A amostra ficou armazenada em solução de formol a 10% até o momento de sua utilização.

A utilização de dentes humanos levou em consideração os princípios éticos legais regulamentados pela Resolução CNS 196/96, valendo-se para tanto do Termo de Doação, sendo o presente estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

Por meio de disco diamantado, em baixa rotação, sob irrigação constante, foram obtidos das faces vestibulares e linguais/palatinas dos elemen-

tos dentários dois blocos de esmalte medindo aproximadamente 3 mm \times 3 mm, perfazendo um total de 44 blocos. Os segmentos de esmalte foram limpos com uma mistura fluida de pedra pomes e água, utilizando-se uma taça de borracha montada em um contra-ângulo, com um motor de baixa rotação, por 10 segundos e, posteriormente, lavados, abundantemente, com água destilada, por 15 segundos.

Para o preparo dos sucos, triturou-se em liquidificador um exemplar maduro de cada fruta (abacaxi, acerola e caju) por 15min, excetuando-se a laranja e o limão para os quais se utilizou o espremedor de frutas obtendo-se, desse modo, o suco puro de cada fruta. Quanto aos sucos diluídos, procedeu-se à trituração em liquidificador de um exemplar maduro de cada fruta (abacaxi, acerola e caju) com 300 ml de água, e para a laranja e limão, após a aquisição do suco puro com o auxílio do espremedor de frutas, foi acrescentado 300 ml de água a cada suco.

O pH foi mensurado, por meio de um pHmetro, imediatamente após o preparo dos sucos, por três vezes, sendo obtida a média das medições.

Procedeu-se então a divisão das amostras em 11 grupos, sendo 10 grupos experimentais ($n = 4$), dos quais 5 foram submetidos ao contato por 5 minutos com: sucos diluídos (300 ml de suco + 300 ml de água) das frutas: G1 – abacaxi; G2 – caju; G3 – acerola; G4 – laranja; G5 – limão; e 5 grupos foram submetidos ao contanto também por cinco minutos com os sucos puros das frutas: G1' – abacaxi; G2' – caju; G3' – acerola; G4' – laranja; G5' – limão; e 1 grupo controle – G6 ($n = 4$) que não foi exposto a ação dos sucos.

Em seguida os espécimes foram lavados em água destilada e armazenados em recipientes identificados para posterior análise em MEV. Para tanto, os blocos de esmalte foram selecionados de cada subgrupo de forma aleatória, montados em porta-amostra de alumínio, recobertos com uma fina camada de carbono e em seguida analisados em MEV.

A análise dos dados foi descritiva, verificando-se as alterações qualitativas na morfologia da estrutura adamantina, em função dos diferentes sucos avaliados, comparando-se com a estrutura hígida do esmalte.

RESULTADOS

O pH registrado para os sucos variou de 1,64 a 4,0, conforme demonstrado no Quadro 1.

QUADRO – 1 pH médio registrado para os sucos de frutas.

Sucos	pH (médio)	
	Puro	Diluído
Abacaxi	3,5	3,6
Caju	4,0	3,8
Acerola	2,8	2,8
Laranja	3,5	3,1
Limão	1,7	1,6

Mediante análise em MEV, constatou-se que o esmalte submetido à ação dos sucos apresentava aspecto morfológico diferente do registrado no grupo controle (Figura 1), verificando-se a presença de áreas erosivas nos grupos experimentais, sendo estas mais expressivas nos espécimes expostos ao suco de limão (Figura 2), acerola (Figura 3), abacaxi (Figura 4), seguidos dos espécimes expostos aos sucos de laranja (Figura 5) e caju (Figura 6).

No que se refere à influência da concentração do suco sobre o aspecto morfológico da estrutura adamantina, observaram-se alterações mais evi-

dententes nos espécimes submetidos a ação dos sucos puros de limão (Figura 2B) e laranja (Figura 5B) sendo que, nos sucos de acerola (Figura 3A), abacaxi (Figura 4A) e caju (Figura 6A) estas alterações se mostraram mais evidentes quando os sucos se apresentavam diluídos.

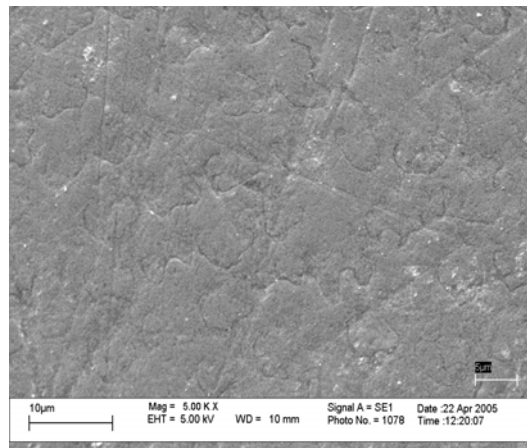


Figura 1 – Fotomicrografia do esmalte não submetido aos sucos de frutas (grupo controle).

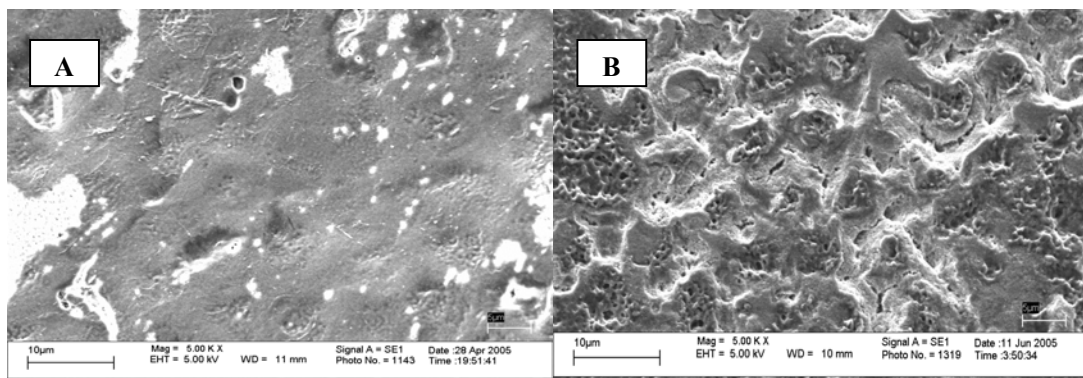


Figura 2 – Fotomicrografia da superfície do esmalte submetida à ação do suco de limão: **A** - diluído; **B** - puro.

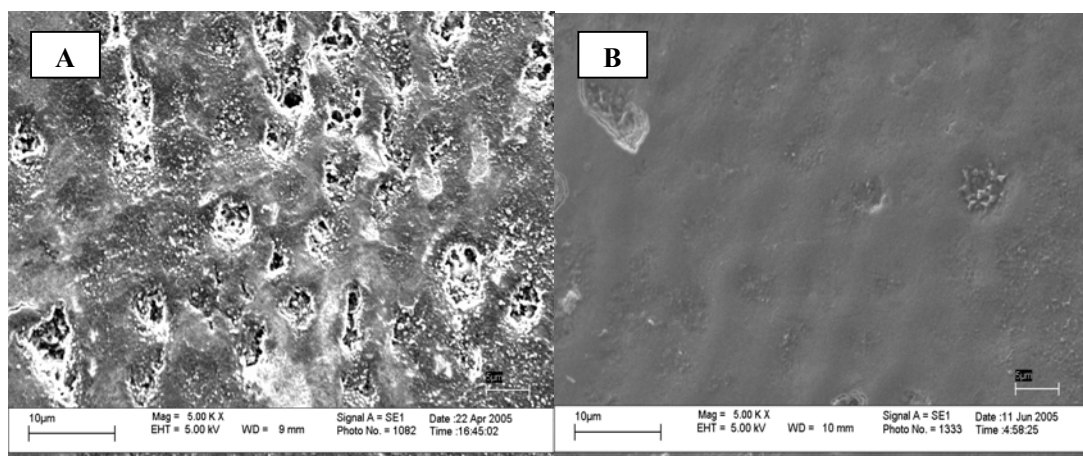


Figura 3 – Fotomicrografia da superfície do esmalte submetida à ação do suco acerola: **A** - diluído; **B** - puro.

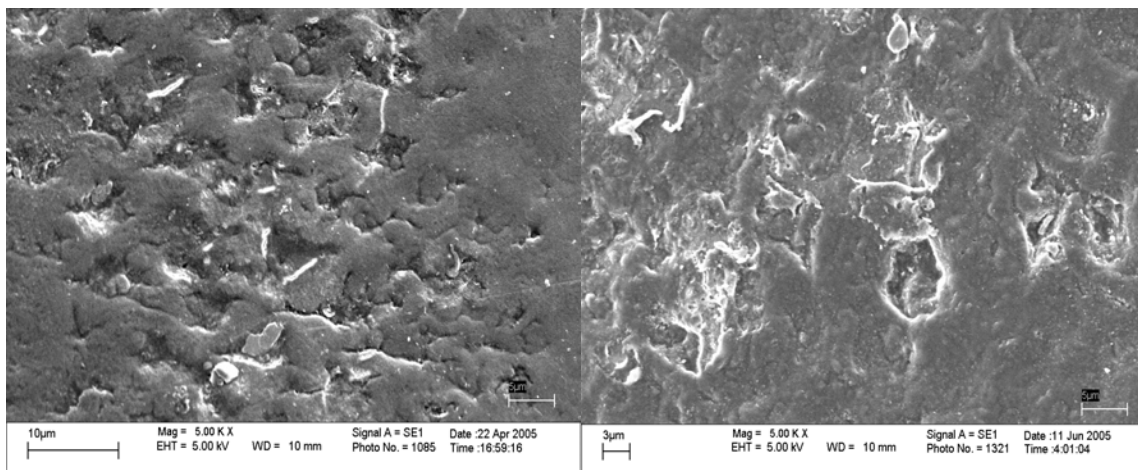


Figura 4 – Fotomicrografia da superfície do esmalte submetida à ação do suco de abacaxi: **A** - diluído; **B** - puro.

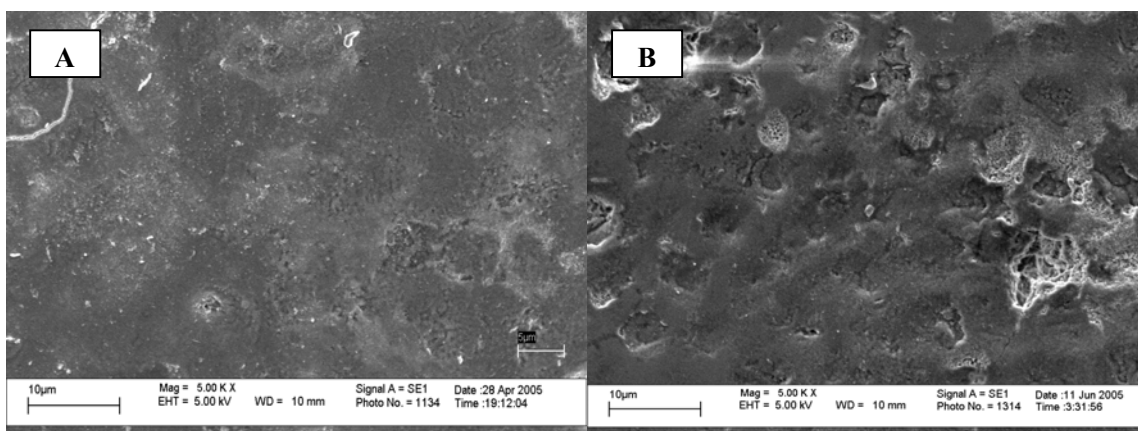


Figura 5 – Fotomicrografia da superfície do esmalte submetida à ação do suco de laranja: **A** - diluído; **B** - puro.

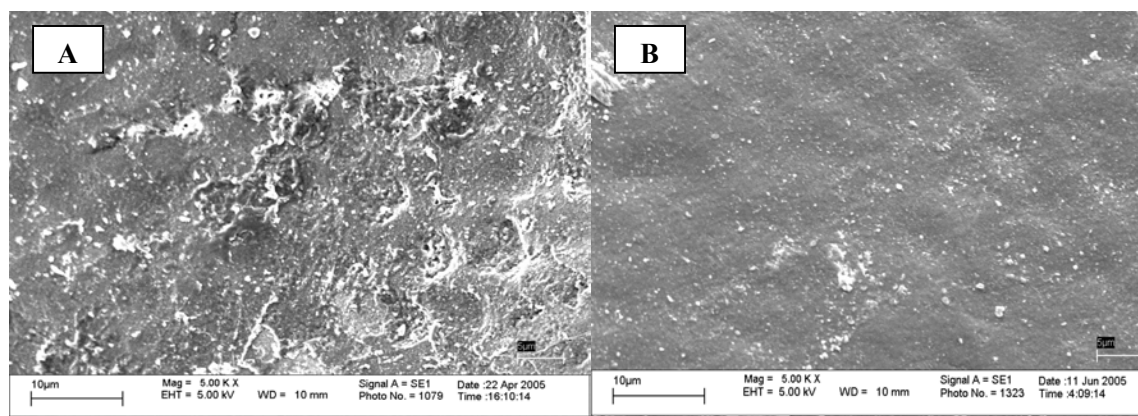


Figura 6 – Fotomicrografia da superfície do esmalte submetida à ação do suco de caju: **A** - diluído; **B** - puro.

DISCUSSÃO

O aumento do tempo de permanência dos elementos dentários na cavidade bucal decorrente do

desenvolvimento de medidas preventivas para o controle da cárie, simultaneamente com a mudança de estilo de vida, no que se refere a hábitos alimentares, tem alertado a classe odontológica para

outros problemas, um dos quais é a erosão dentária (Amaechi et al.¹, 2005; Ten Cate et al.¹⁷, 1996).

Apesar das limitações do estudo *in vitro*, no que se refere à reprodução das condições naturais bucais tais como: hábitos alimentares, capacidade tampão da saliva, características individuais ou até mesmo coletivas, o presente estudo possibilitou estimar o potencial erosivo dos sucos utilizados pela determinação do pH das bebidas e pela análise das alterações microestruturais da superfície do esmalte submetida à ação dos sucos de frutas cítricas (Huysmans et al.⁷, 2005; Bomfim et al.², 2001).

A escolha pelos sucos de laranja, limão, acerola, abacaxi e caju se deu em virtude do conhecimento acerca do baixo pH que essas substâncias apresentam, sendo esses inferiores a 5,0 (Maia et al.¹¹, 1996; Sobral et al.¹⁶, 2000).

O período de cinco minutos de exposição dos espécimes aos sucos foi assim determinado tendo em vista o curto intervalo de tempo em que a dieta líquida permanece, em condições normais, na cavidade bucal e o tempo em que a saliva exerce sua capacidade tampão, sendo constatado que esse tempo de exposição do esmalte a bebidas ácidas tem um efeito significativo na microdureza (Bomfim et al.², 2001; Maia et al.¹¹, 1996).

Diferentes estudos têm demonstrado o importante papel da dieta no aparecimento e progressão da cárie, destacando o potencial erosivo de certos alimentos que, ao conter ácidos em sua composição, quando consumidos com frequência, reduzem o pH da saliva a valores inferiores 5,5 possibilitando a ocorrência da dissolução do esmalte, em busca de um equilíbrio iônico. Essas alterações podem ser observadas *in vitro* quando o esmalte é exposto a uma solução aquosa inorgânica com pH entre quatro a cinco, insaturada em relação à hidroxiapatita e fluorapatita, formando uma lesão macro-e microscopicamente semelhante à erosão dentária (Larsen et al.⁹, 1998; Smith et al.¹⁵, 1987; Sobral et al.¹⁶, 2000).

Estudo realizado por Luo et al.¹⁰ (2005) evidenciou a relação existente entre a prevalência do processo de erosão dentária em pré-escolares na China e o consumo freqüente e prolongado de sucos de frutas cítricas e constatou que a prevalência da erosão está associada a fatores sociais e à dieta das crianças que compunham a amostra.

Embora o objetivo do presente estudo não tenha sido quantificar a perda de substância mineral resultante da ação dos sucos de frutas cítricas, foi possível observar, a partir da análise compara-

tiva entre os grupos, que o suco de limão puro promoveu maior grau de desmineralização seguido dos sucos de acerola e abacaxi diluídos. Esses resultados são discordantes dos achados de Maia et al.¹¹ (1996) em que o suco de limão diluído na razão de 1:5 foi a solução que promoveu maiores danos à superfície de esmalte bovino hígido ou desmineralizado quando comparado ao suco de laranja e ao refrigerante Coca-Cola.

Segundo Gavini et al.⁴ (1998) a capacidade desmineralizante de uma substância depende da dissociação iônica, que parece diminuir em soluções de maior concentração, e este processo químico pode explicar não só as discordâncias de resultados acima descritas, como também o fato das amostras submetidas à ação dos sucos de acerola, abacaxi e caju diluídos apresentarem áreas mais expressivas de lesões de erosão, que aquelas amostras submetidas a esses mesmos sucos puros.

Entretanto, os sucos de laranja e limão apresentaram maior potencial erosivo quando puros e isso pode ser explicado pelo fato de que não é apenas a presença de íons H⁺ (pH), mas também a quantidade de ácido não dissociado em solução que influencia a desmineralização dos tecidos dentários (Gray et al.⁶, 1962).

CONCLUSÃO

Com base na metodologia adotada e nos resultados obtidos, é lícito afirmar que os sucos de frutas avaliados apresentaram pH ácido, demonstrando potencial erosivo, sendo este fato confirmado pela presença de área de erosão na superfície do esmalte exposto a tais líquidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: Possible approaches to prevention and control. *J Dent.* 2005;33(3):243-52.
2. Bomfim AR, Coimbra MER, Moliterno LFM. Potencial erosivo dos repositores hidroeletrólitos sobre o esmalte dentário: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Odontologia.* 2001;58(3):164-8.
3. Burrato EM, Andrade L, Rath IBS, Tames DR. Avaliação do potencial erosivo ao tecidos duros dentais de bebidas esportivas nacionais. *R ABO Nac.* 2002;10(2):109-12.
4. Gavini G, Malheiros CF. Efeito desmineralizador do ácido cítrico em diferentes concentrações e períodos de tempo. *RPG.* 1998;5(1):64-8.
5. Gouveia MMA, Tames DR, Ferreira R, Bahi FC, Morreto J. Propriedades erosivas de sucos de frutas industrializados recomendados como suplemento alimentar para crianças. *J Bras Odontopediatria e Odontologia do Bebê.* 2000; 3(12):111-7.

6. Gray J. Kinetics of the dissolution of human dental enamel in acid. *J Dent Res.* 1962;41(3): 633-45.
7. Huysmans MCDNJM, Vieira A, Ruben JL. Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride vanish on enamel erosion *in vitro*. *Caries Research.* 2005;39(5):371-9.
8. Lakatos EM, Marconi, MA. Fundamentos da metodologia científica. 3ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1991.
9. Larsen MJ, Brunn CA. Esmalte-saliva – reações químicas inorgânicas. In: Thylstrup A, Fejerskov O. Tratado de cariologia. 2ª ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 1998. p.169-93.
10. Luo Y, Zeng XJ, Du MQ, Bedi R. Prevalence of dental erosion in preschool children in China. *J Dent.* 2005;33(2):115-21.
11. Maia LC, Modesto A. Análise comparativa, ao microscópio eletrônico de varredura, de esmalte bovino exposto a diferentes soluções ácidas. Um estudo *in vitro*. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo* 1996;10(3):161-8.
12. Meurman JH, Frank RM. Progression and surface ultrastructure of *in vitro* caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res Basel.* 1991; 25(2):81-7.
13. Nunn JH. Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. *Eur J Oral Sci,* 1996; 104(2): 156-61.
14. Shafer WG, Hine M, Levy BM. Tratado de patologia bucal. 4ª ed. Rio de Janeiro: Inter-Americana, 1996.
15. Smith AJ; Shaw L Baby fruit juices and tooth erosion. *Brit Dent J* 1987; 162(2):65-7.
16. Sobral MAP, Luz MAAC, Teixeira AG, Garone Netto N. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. *Pesqui Odontol Bras.* 2000;14(4):404-10.
17. Ten Cate JM, Infeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral sei.* 1996;104(2):241-4.
18. Thylstrup A, Fejerskov O. Tratado de cariologia. 2ª ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 1998.

Recebido para publicação em: 03/11/2005; aceito em: 06/03/2006.

Endereço para correspondência:

ANA MARIA GONDIM VALENÇA
Av. Severino Massa Spinelli, 381 apto. 2301 – Tambaú
CEP 58039-210, João Pessoa, PB, Brasil
E-mail: anaval@terra.com.br