CATHERINE SCHMITZ ESPEZIM

AVALIAÇÃO DA DUREZA DE ESMALTE DE DENTE DECÍDUO EXPOSTO AO IOGURTE E LEITE FERMENTADO: ESTUDO *IN VITRO*

FLORIANÓPOLIS 2003

CATHERINE SCHMITZ ESPEZIM

AVALIAÇÃO DA DUREZA DE ESMALTE DE DENTE DECÍDUO EXPOSTO AO IOGURTE E LEITE FERMENTADO:

ESTUDO IN VITRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração: Odontopediatria.

ORIENTADOR: PROFª. DRª. IZABEL CRISTINA SANTOS ALMEIDA

CATHERINE SCHMITZ ESPEZIM

AVALIAÇÃO DA DUREZA DE ESMALTE DE DENTE DECÍDUO EXPOSTO AO IOGURTE E LEITE FERMENTADO:

ESTUDO IN VITRO

Esta dissertação fo	oi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em
Odontologia- opção O	Odontopediatria e aprovada em sua forma final pelo Programa
de Pós-Graduação e	em Odontologia, da Universidade Federal de Santa Catarina.
Pro	of. Dr. Mauro Amaral Caldeira de Andrada
	(Coordenador do curso)
	Banca Examinadora:
Prof ^a . D	or ^a . Izabel Cristina Santos Almeida- Orientadora
-	
	Prof. Dr. David Rivero Tames
_	
	Prof. Dr. Ricardo de Sousa Vieira

Dedico este trabalho

Aos meus pais, Lauro e Vilma, pelo amor, dedicação, apoio e incentivo em todos os
momentos da minha vida.
As mou marida. Alexandra e minha filha. Ciulia, nele conforte, carinha e naciônaia.
Ao meu marido, Alexandre e minha filha, Giulia, pelo conforto, carinho e paciência
dispensado ao longo desta jornada. Vocês são a razão da minha vida.
Às minhas irmãs, Juliana e Letícia, com as quais sempre pude contar, muito
obrigada pela grande ajuda.

A vocês, todo o meu amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus,

por me guiar e iluminar nas caminhadas que venho percorrendo.

À Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de realizar a Graduação e a Pós-graduação em sua instituição.

À Prof^a. Izabel, professora orientadora, pela amizade e orientação dedicada a mim, tanto na graduação quanto no Mestrado.

Aos professores do Mestrado em Odontologia, área de concentração Odontopediatria, Prof^a. Dr^a. Maria José de Carvalho Rocha, Prof^a. Dr^a. Vera Lúcia Bosco, Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Santos Almeida e Prof^o. Dr. Ricardo de Sousa Vieira, pela dedicação e aprendizado repassados na trajetória deste curso.

A todos os professores que ministraram aulas no Mestrado e ajudaram em nossa formação.

Ao meu colega e amigo, Eduardo, pela indispensável ajuda na realização deste trabalho.

A vocês, meus amigos e colegas do Mestrado, Cláudia, Ana Cristina, Eduardo, Meire, Michele, Fabiana e Jonas, pela amizade e convívio prazeroso ao longo deste curso.

Aos meus sogros, Paulo Sérgio e Heloísa Helena, a minha cunhada, Ariana e minha sobrinha, Fernanda, pela motivação e carinho.

À Ana Maria, Ivalda e Bete, pela paciência e boa vontade em nos ajudar.

À Carolina Covolo da Costa, pela boa vontade em me ajudar e pelas "dicas" que contribuíram em muito para a conclusão deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Roseane Fett e sua estagiária, Melissa, pela valiosa contribuição nas leituras do pH e capacidade tampão do iogurte e leite fermentado.

Ao Laboratório de Pesquisa e seu funcionário, Lauro, pela atenção e receptividade dispensada.

ESPEZIM, Catherine Schmitz. Avaliação da dureza de esmalte de dente decíduo

exposto ao iogurte e leite fermentado: estudo in vitro. 2003. 75f. Dissertação

(Mestrado em Odontologia- opção Odontopediatria). Programa de Pós-Graduação

em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

O objetivo deste estudo, in vitro, foi avaliar, através da análise da dureza, o

potencial erosivo de um iogurte de morango e um tipo de leite fermentado sobre

esmalte de molares decíduos. A amostra foi constituída de 105 espécimes de

esmalte, selecionados a partir da dureza Knoop, determinada por um

microdurômetro com uma carga pré-estabelecida de 50 g aplicada por 5 s, que

foram divididos em 2 grupos experimentais e um controle. Os espécimes do grupo I

foram expostos ao iogurte, os do grupo II, em leite fermentado e o terceiro grupo foi

o controle, onde os espécimes ficaram imersos em saliva artificial. Após a imersão

nas referidas substâncias, por 5 min, três vezes ao dia durante 5 dias, os espécimes

foram novamente submetidos ao teste de dureza. Os resultados mostraram que

ambas bebidas testadas são potencialmente erosivas, pois as durezas diminuíram

após a imersão dos espécimes. A maior redução ocorreu no grupo II (leite

fermentado), seguido do grupo I (iogurte) e por fim do controle, que apesar da

permanência dos espécimes em saliva artificial, também apresentou decréscimo na

dureza. Através da análise estatística a redução observada no grupo II foi muito

próxima da significância, quando comparado ao grupo controle.

Palavras-chave: Dureza. Decíduo. logurte. Leite fermentado.

ESPEZIM, Catherine Schmitz. **Avaliação da dureza de esmalte de dente decíduo exposto ao iogurte e leite fermentado: estudo in vitro.** 2003. 75f. Dissertação (Mestrado em Odontologia- opção Odontopediatria). Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ABSTRACT

The objective of this study in vitro was it of evaluating, through the analysis of the hardness, the potential erosive of a strawberry yogurt and a type of milk fermented on enamel of deciduous molars. The sample was constituted of 105 enamel specimens, selected starting from the hardness Knoop, determined by a microhardness tester with a pre-established load of 50 grams applied by 5 seconds, that were divided in two experimental groups and a control. The specimens of the group I were exposed to the yogurt, the one of the group II, in fermented milk and the third group was the control, where the specimens were immerged in artificial saliva. After the immersion in referred them substances, for 5 minutes, three times a day for five days, the specimens were again submitted to the test of hardness. The results showed that both drunk tested they are potentially erosives, because the hardness decreased after the immersion of the specimens. The largest reduction happened in the group II (fermented milk), followed by the group I (yogurt) and finally of the control, that in spite of the permanence of the specimens in artificial saliva, it also presented a decrease in the hardness. Through the statistical analysis the reduction observed in the group II was very close of the significant, when compared to the group it controls.

Key words: Hardness. Deciduous. Yogurt. Fermented milk.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estereoscópio	36
Figura 2- Politriz	37
Figura 3- Isomet	37
Figura 4- Divisão da coroa com disco de carborundum	38
Figura 5- Inclusão de fatias de esmalte na resina poliéster	38
Figura 6- Polimento dos espécimes com lixas d'água	39
Figura 7- Ultra-som	40
Figura 8- Polimento com disco de feltro	40
Figura 9- Microdurômetro	41
Figura10-Esquema das indentações iniciais feitas nos espécimes	42
Figura 11- logurte e leite fermentado utilizado neste estudo	46
Figura 12- Imersão no iogurte	47
Figura 13- Imersão no leite fermentado	47
Figura 14- Imersão na saliva artificial	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valor inicial e media das durezas dos especimes de esmaite denti	ano do		
grupo I, imersos em iogurte.	43		
Tabela 2- Valor inicial e média das durezas dos espécimes de esmalte dent	ário do		
grupo II, imersos em leite fermentado.	44		
Tabela 3- Valor inicial e média das durezas dos espécimes de esmalte denta	ário do		
grupo controle, mantidos em saliva artificial.	45		
Tabela 4- Médias dos valores de dureza do esmalte dentário, inicial e fina	al, dos		
espécimes do grupo I e II, exposto ao iogurte e leite fermentado, respectivam	iente e		
do grupo controle, em saliva artificial.	51		
Tabela 5- Média total e porcentagem de redução da dureza dos grupos I, II e do			
controle.	53		

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	
2.1 Erosão Dental	14
2.2 Ação dos minerais na erosão dental	27
3 PROPOSIÇÃO	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1 Preparo dos espécimes	36
4.2 Delimitação da amostra	40
4.3 Seleção das substâncias	46
4.4 Fase experimental	46
4.4.1 Imersão dos espécimes nas substâncias	47
4.4.2 Durometria final	48
4.5 Análise estatística	49
5 RESULTADOS	50
6 DISCUSSÃO	55
7 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	
ANEXOS	71

1 INTRODUÇÃO

Apesar dos avanços no conhecimento dos processos destrutivos dos dentes, há uma grande preocupação em relação à doença cárie, visto que pode se manifestar de forma agressiva, destruindo completamente os dentes decíduos num período muito curto de tempo, comprometendo desta forma o crescimento e o desenvolvimento da criança, tanto pela dificuldade que terá em se alimentar como pela ingestão de toxinas. Alguns fatores tornam a criança mais susceptível, entre eles, à falta de coordenação motora e de colaboração para que a realização da higiene bucal seja feita de forma adequada; a idade dos dentes que ainda estão num processo de maturação pós-eruptiva e hábitos alimentares, já que desde muito cedo são introduzidos alimentos com grande quantidade de açúcar (MARTINS et al., 1998). Contudo, além da doença cárie, existe a erosão, que se caracteriza também pela perda de tecido dental duro por um processo químico e sem a participação de microorganismos (PINDBORG, 1970).

A erosão dental se apresenta como lesões de aspecto côncavo, brilhante e polido (PINDBORG, 1970), atingindo preferencialmente as superfícies palatais dos dentes ântero-superiores (TUCKER et al., 1998) e quando atinge dentes com restaurações, estas se tornam sobressalentes, visto que a destruição acomete principalmente a estrutura dental. Etiologicamente é uma lesão diferente da cárie dentária, no entanto podem coexistir, principalmente quando o processo erosivo já estiver em dentina, dificultando desta forma a remoção da placa bacteriana (LARSEN; BRUNN, 1995).

Partindo do princípio que existe um equilíbrio iônico entre o esmalte dentário e o meio bucal e quando o pH diminui de 5,5, há uma subsaturação da saliva em relação ao esmalte, fazendo com que haja perda de íons cálcio e fósforo do dente para o meio bucal, dando início a um processo de desmineralização. A partir do momento em que o pH se neutraliza, ocorre o processo inverso e o esmalte se remineraliza (MEURMAN; TEN CATE, 1996; HANNIG; BALZ, 1999). Com isso, a saliva age fisiologicamente como um agente de defesa contra o processo erosivo, por agir diluindo e eliminando os ácidos pela deglutição, neutralizando-os através de sua capacidade tampão e ainda por apresentar íons cálcio e fósforo que reduzem a velocidade de dissolução mineral e que se precipitam durante a remineralização de lesões erosivas (MEURMAN; TEN CATE, 1996).

As causas da erosão podem ser intrínsecas ou extrínsecas. A primeira está relacionada com distúrbios gastro-intestinais, refluxo gastro-esofágico, bulemia e anorexia nervosa, devido às freqüentes regurgitações e conseqüentemente aumento da acidez no meio bucal; e a segunda, quando os dentes são expostos a contaminantes ácidos provenientes do ambiente de trabalho, ou pelo consumo de alimentos ou bebidas ácidas, que segundo Millward; Shaw; Smith (1994) são os fatores etiológicos mais comum.

Downer (1995), após um levantamento em saúde bucal, em 1993, no Reino Unido, observou que 24% das crianças com 5 anos de idade apresentaram erosão na superfície lingual dos incisivos decíduos, comprometendo a dentina e a polpa, e salientou que o aumento na prevalência de erosão na dentição decídua está relacionado ao alto consumo de bebidas ácidas. Millward; Shaw; Smith (1994) e Millward et al. (1994), apontaram sucos de frutas, refrigerantes e iogurtes, entre os produtos industrializados ácidos responsáveis pelo aumento da erosão. Esta

ingestão está acontecendo cada vez mais cedo e normalmente associada a lanches, depois dos quais, na maioria das vezes, não é feita uma higienização bucal.

Como nas crianças a progressão da erosão é mais acelerada devido a uma maior vulnerabilidade dos dentes decíduos (JOHANSSON et al., 1998), que possuem uma menor espessura de esmalte e um menor gradiente de concentração mineral quando comparado ao dente permanente (SMITH; SHAW, 1987), e o consumo de produtos industrializados ácidos tem aumentado e tem acontecido cada vez mais cedo, é importante o conhecimento das características e do potencial erosivo, mesmo que estes produtos apresentem elementos protetores como no caso dos derivados do leite. Desta forma este trabalho visou contribuir com o estudo da erosão em dentes decíduos, avaliando a ação de um iogurte sabor morango e um tipo de leite fermentado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA¹

2.1 EROSÃO DENTAL

A dissolução do esmalte dentário pode se dar a partir da doença cárie ou de processos sem a participação de bactérias, característica da erosão dental, cuja perda de tecido se dá por um processo químico, que atinge predominantemente as superfícies palatais dos dentes anteriores. Entretanto, apesar de terem etiologias diferentes, a doença cárie e a erosão dental podem coexistir, principalmente quando o processo erosivo já atingiu a dentina, formando uma cavidade profunda onde a remoção da placa fica dificultada, favorecendo assim o aparecimento de lesões cariosas (LARSEN; BRUNN, 1995).

O consumo de alimentos e bebidas industrializadas tem contribuído para um aumento no número de casos de erosão dental, porque geralmente apresentam ácido em sua composição, que caracterizam estas bebidas/ alimentos com um baixo pH (MILLWARD et al., 1994).

O mecanismo envolvido no processo erosivo está relacionado ao pH dos fluidos bucais, que quando atinge valores inferiores ao crítico (5,5), havendo uma subsaturação em relação a hidroxiapatita e a fluorapatita, resulta na dissolução do esmalte dentário (MEURMAN; TEN CATE, 1996).

Segundo Fuller e Johnson (1977), a capacidade do ácido cítrico de provocar erosão no esmalte dental pode ser atribuída à alta concentração de íon hidrogênio

-

¹ Baseada na NBR 10520:2002 da ABNT.

(H ⁺) na sua composição, devido à presença de três grupos carboxílicos em cada molécula, à afinidade por cálcio e à formação do sal de citrato de cálcio solúvel a partir da reação do ácido com o tecido dentário. Isto porque a reação entre os íons H⁺ de uma bebida ácida com a hidroxiapatita representa o início do processo de dissolução do esmalte dentário (GRAY, 1962). O ácido cítrico além de ter um baixo valor de pH, é uma substância quelante, ou seja, se associa aos íons cálcio disponíveis, tanto na saliva, resultando numa diminuição destes, quanto aos da estrutura dentária (fosfato de cálcio), causando sua dissolução (BASHIR; LANGERLÖF, 1996).

Smith e Shaw (1987) em estudo, *in vitro*, verificaram o pH de sucos de fruta infantis (maçã, pêra e laranja) e o potencial erosivo destes, sobre o esmalte decíduo. Para determinar o potencial erosivo das substâncias, utilizaram dentes decíduos extraídos que foram imersos nos referidos sucos por 15 h. O pH variou de 3,22 a 3,65, para os sucos não diluídos, e de 3,64 a 4,12, para os diluídos. Após este período, os dentes foram avaliados macro (exame visual) e microscopicamente (microscópio de luz polarizada). Ao exame visual observaram lesões de manchas brancas com aparência opaca e ao microscópio, grande destruição do esmalte superficial, além de dissolução parcial do tecido subjacente.

Rytomaa et al. (1988) compararam, *in vitro*, o potencial erosivo de bebidas ácidas (bebidas tipo cola e com laranja) e de produtos derivados de leite (iogurte de morango e leite), a partir da análise de esmalte bovino em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Inicialmente, os espécimes foram imersos por 4 h nas substâncias a 37°C e em seguida para avaliar o reparo, os dentes foram imersos por 2 h em saliva natural, com e sem flúor (2ppm), intercalada com 15 min de desmineralização nos produtos testados. Observaram diferença estatisticamente significante entre as

bebidas do tipo cola e com laranja (pH<4) com o iogurte de morango e leite, que causaram mais erosão devido à presença dos ácidos fosfórico e cítrico. A partir da microscopia, não observaram nenhuma alteração da superfície do esmalte tratado com iogurte de morango ou leite. A imersão dos dentes em saliva (com e sem flúor) entre as exposições aos produtos testados não limitou a ocorrência de erosão. Os autores salientaram que os resultados encontrados não podem ser extrapolados para as condições, *in vivo*, pois na cavidade bucal as bebidas se misturam com a saliva resultando num aumento de seu pH. Além disso, as bebidas ácidas estimulam a secreção salivar e assim, facilitam o tamponamento pelos fluidos bucais.

Meurman et al. (1990) avaliaram, *in vitro*, o efeito erosivo de bebidas esportivas sobre a superfície de esmalte bovino, através da durometria, microscopia eletrônica de varredura e dissolução da hidroxiapatita. Os autores observaram que as amostras imersas em bebidas contendo ácido cítrico e maleico causaram erosão, sendo que a diminuição na dureza do esmalte e a dissolução da hidroxiapatita foram maiores nas amostras imersas em bebidas contendo ácido cítrico do que ácido maleico. Os autores ainda observaram que o potencial erosivo das bebidas aumentou significativamente com a diminuição do pH da substância, que o ácido maleico é o mais adequado para ser utilizado nas bebidas consumidas com freqüência e que a dissolução da hidroxiapatita começou com pH abaixo de 5 e que a dissolução aumentou a medida que o pH diminuía.

Grando et al. (1993) num estudo, *in vitro*, avaliaram a partir das análises de estereomicroscopia e microscopia ótica, o efeito provocado por refrigerantes do tipo Coca-Cola e Guaraná e por um suco de limão enlatado, sobre o esmalte de 108 dentes decíduos humanos. Os espécimes ficaram incubados com as bebidas por um período de tempo que variou de 15, 45 min e de 12 h. Através da

estereomicroscopia visualizaram a perda do brilho e a alteração da coloração normal do esmalte, com perdas irregulares do tecido dental em graus variáveis, as quais se agravaram com o aumento do tempo de incubação dos dentes. Na microscopia ótica, observaram lesões de erosão na superfície do esmalte, com profundidades diferentes, sendo que o suco de limão foi o que apresentou maior potencial erosivo sobre o esmalte decíduo, seguido pela Coca-Cola e por último o Guaraná.

Lussi; Jaeggi; Scharer (1993) avaliaram a dureza de blocos de esmalte permanente, o potencial erosivo de bebidas e alimentos (suco de uva, suco de maçã, suco de laranja, dois tipos de bebida esportiva, Coca Cola, lactato, Sprite Light, molho de salada, vinho branco e iogurte) e analisaram as substâncias segundo a concentração de cálcio, fósforo e flúor. Os blocos ficaram imersos em 5ml das bebidas, por 20 min e após este período foram analisados no microdurômetro. A partir dos resultados os autores observaram um maior decréscimo na dureza superficial (p≤0,05) para o Sprite Light, seguida pelo suco de uva, suco de maçã e molho de salada e um aumento na dureza para os espécimes expostos ao iogurte. A análise do conteúdo dos minerais presentes demonstrou que o iogurte foi o que apresentou a mais alta concentração de fosfato (21,39 mmol/l) e segundo os autores esta pode ser a causa para o aumento na dureza. Também ficou evidenciado que a capacidade erosiva dos diferentes produtos esteve significantemente associada com a acidez, o valor de pH, os conteúdos de fosfato e flúor e o valor da dureza inicial do esmalte, visto que estas variáveis explicaram 81% das alterações ocorridas na superfície do esmalte dental.

Millward et al. (1994) avaliaram a correlação entre hábitos alimentares com erosão dental. Ao exame clínico observaram 14% das crianças com erosão apenas no esmalte (suave), 32% comprometendo até um terço da espessura da dentina

(moderada) e 60%, comprometendo mais de um terço da espessura de dentina, exposição pulpar (severa), ou ambas. Quanto à alimentação, as crianças enquadradas no grupo de erosão severa consumiam maior quantidade de bebidas carbonatadas e outros alimentos ácidos, como iogurte de frutas, frutas cítricas frescas e também bebiam mais sucos de frutas, principalmente, antes de dormir.

Duggal et al. (1996) avaliaram o potencial acidogênico de bebidas a base de ervas a partir da capacidade em reduzir o pH da placa bacteriana de 10 voluntários adultos. Inicialmente determinaram o pH e a acidez titulável de cada produto. Como controle positivo utilizaram a solução de sacarose a 10% e para o controle negativo, o leite, que segundo eles é uma bebida segura, sendo sua ingestão tradicionalmente recomendada entre as refeições. Das bebidas testadas, 3 apresentavam frutas (framboesa, maçã e laranja) em sua composição e tiveram valores de pH mais baixos (3,13; 3,25 e 4,47, respectivamente) e capacidade de tamponamento mais alta. Todas as bebidas, com exceção do chá de ervas, ocasionaram significativa queda do pH da placa bacteriana para valores próximos de 5,5 (crítico). O tempo que o pH permaneceu abaixo do crítico foi semelhante para a solução de sacarose (22,01±2,87 min) e para os chás de maçã e framboesa (20,51±3,66 min), indicando acidogenicidade semelhante e significantemente menor para o chá de ervas (zero) e para o leite (0,07±0,14). A maioria foi mais acidogênica que o leite e alguns se comportaram de forma semelhante à solução de sacarose a 10%. Com este estudo, os autores concluíram que a maioria das bebidas a base de ervas, podem ser consideradas erosivas e cariogênicas, principalmente aquelas que contêm frutas em sua composição porque têm pH baixo e capacidade tampão elevada, além de ocasionarem a produção de ácidos pela placa bacteriana, visto que apresentam carboidratos fermentáveis em sua composição.

Maia e Modesto (1996) analisaram, *in vitro*, as alterações provocadas nas superfícies de esmalte bovino, hígido e desmineralizado, pela Coca-Cola, suco de limão diluído em água destilada (1:5) e suco de laranja natural (Parmalat). Para tanto, os blocos de esmalte ficaram imersos nas substâncias por 40 min. Observaram, a partir da microscopia eletrônica de varredura, que o suco de limão foi o responsável por padrões de erosão mais acentuados, seguido pela Coca-Cola e pelo suco de laranja, sendo que os níveis de erosão do esmalte desmineralizado foram superiores aos do esmalte hígido. Os resultados mostraram o potencial erosivo de produtos que contém ácido cítrico (sucos de limão e de laranja) e ácido fosfórico (Coca-Cola).

Millward et al. (1997) avaliaram o potencial do ácido cítrico em estimular o fluxo salivar da glândula parótida e provocar quedas de pH nas superfícies palatais do incisivo superior e primeiro molar superior de voluntários, depois da ingestão de ácido cítrico a 1%. Observaram que o pH de 5,75 a 6,0 baixou de 2,0 a 3,0 após 1 min da ingestão e alcançou 5,5 após 2 min na região dos incisivos e de 4 a 5 min, na região de molares. O fluxo salivar retornou aos níveis normais após 6 min. Com isso, os autores concluíram que o fluxo salivar estimulado promove a remoção e neutralização do ácido na superfície dentária, em períodos curtos. Logo, mais importante que a quantidade ingerida de bebidas ácidas, é a freqüência, posto que representará episódios de queda do pH.

Johansson et al. (1998) compararam a susceptibilidade de esmalte decíduo e permanente à erosão, a partir da avaliação da dureza. Sessenta espécimes foram incubados em ácido cítrico a 2% por 30 min. Os valores normais de dureza em unidades Vickers de 299 a 317 para decíduos, e 363 para permanentes, diminuíram

para 99, 89 e 116, respectivamente. Os autores concluíram que os dentes decíduos foram mais vulneráveis à erosão dental que os permanentes.

Maupomé et al. (1998) num estudo, *in vitro*, avaliaram o efeito da Coca-Cola no esmalte humano permanente, consumido em freqüências diferentes. Para isso, os espécimes ficaram imersos por 5 min, durante 8 dias, em Coca-Cola de acordo com 3 freqüências de ingestão: baixa freqüência, com uma imersão por dia; média freqüência, com 5 imersões por dia e alta freqüência, com 10 imersões por dia, com ou sem agitação. Entre as imersões e nas 12 h noturnas, as amostras foram armazenadas em água deionizada. Os autores observaram uma acentuada diminuição da dureza Vickers inicial (352±32,5 VHN) no primeiro dia de experimento (269,3±41,0 VHN) e que depois continuou diminuindo de forma menos acentuada, atingindo valores de 204,5±45,5 VHN no oitavo dia. Os resultados mostraram uma diminuição da dureza independente da freqüência, no entanto no oitavo dia, as amostras do grupo de baixa ingestão apresentaram maior dureza que as do grupo de alta ingestão (233,2±25,0 VHN e 169,8±49,5 VHN, respectivamente). Quanto à agitação dos espécimes, àquelas erosionadas sob agitação tiveram valores de dureza mais baixos.

Edwards et al. (1999) realizaram um estudo, *in vitro*, cujo objetivo foi medir o pH inicial e a capacidade tampão de diversos grupos de bebidas (sucos de fruta naturais, bebidas carbonatadas sem frutas, bebidas carbonatadas com frutas e águas minerais com sabor), sendo a água mineral carbonatada o controle positivo e a água sem gás o controle negativo. O pH foi medido com um eletrodo conectado a um analisador de íons e a acidez titulável foi quantificada com o acréscimo de hidróxido de sódio a 1M a 100ml de cada bebida até o alcance do pH 10. O pH mais baixo foi das bebidas carbonatadas sem frutas (2,81±0,274) e o mais alto foi da água

mineral sem gás (7,4±0,1002). A capacidade tampão, em ordem decrescente, foi: sucos de frutas, bebidas com frutas e águas minerais com sabor, bebidas sem frutas, água mineral com gás, água mineral sem gás. Com isso, os autores afirmaram que o pH de sucos de frutas e de bebidas carbonatadas é baixo, característica que tem sido implicada na crescente incidência de erosão, sendo que a habilidade de um produto em resistir às mudanças de pH ocasionadas pelos tampões salivares também é de extrema importância no processo erosivo. Evidenciaram ainda, que a adição de dióxido de carbono, formando o ácido carbônico em solução, diminui o pH e aumenta a capacidade tampão das bebidas. Concluíram que os sucos de frutas e refrigerantes com frutas podem ocasionar prolongada queda do pH bucal devido sua elevada capacidade tampão, aspecto que está relacionado aos ácidos derivados das frutas.

Gouveia (1999) realizou um estudo cujo primeiro objetivo foi investigar propriedades de sucos de frutas industrializados de uma mesma marca comercial, indicados como suplementação alimentar para crianças, mensurando pH, concentração do íon flúor e capacidade tampão. Para isso, foram, inicialmente, determinados, o pH (leituras em triplicata), capacidade tampão e a concentração do íon flúor de 8 sucos, sabores laranja, goiaba, abacaxi, pêssego, manga, damasco e maçã. Os resultados mostraram que todos os sucos apresentaram pH abaixo do crítico (5,5), que o teor de flúor não ultrapassou 0,527ppm e que o suco de laranja apresentou a mais elevada capacidade tampão. Com estes dados, foi estudado, *in vitro*, o potencial erosivo do suco com maior capacidade tampão (suco de laranja), concomitantemente avaliando a interferência de uma saliva artificial no mecanismo de erosão, utilizando análises morfológicas em microscopia eletrônica de varredura (MEV), testes de dureza superficial e espectroscopia de dispersão de energia (EDE)

para identificação de elementos químicos. Para tanto, as faces palatinas de 30 dentes decíduos anteriores foram aplainadas e polidas e estes espécimes foram divididos em 4 grupos: I esmalte sadio (polido), usado como controle negativo das análises morfológicas; Il esmalte incubado em suco de laranja por 50 min, usado como controle positivo das análises morfológicas; III teste ciclado, esmalte submetido a banhos alternados em suco (5 min) e saliva artificial (15 min) até completar 10 ciclos; IV teste corrido, esmalte incubado em suco por 50 min corridos seguido por imersão em saliva artificial por 2,5 h. Concluiu que o suco de laranja estudado é um produto erosivo em potencial, pois promoveu alterações morfológicas e de dureza superficial. A saliva artificial utilizada não foi capaz de devolver normalidade morfológica e de dureza superficial, porém foi observada a deposição de uma camada de fosfato de cálcio sofre a superfície erosionada por meio de MEV e EDE, sugerindo sua ação remineralizante. Dentre os tratamentos, o contato intermitente com a saliva resultou numa menor erosão do esmalte. Nas amostras apenas erosionadas, foram identificados diversos pontos de reprecipitação mineral, nos quais os elementos cálcio e fósforo estavam presentes, sugerindo tratar-se de fosfato de cálcio não cristalino. Pelos resultados o autor sugeriu que quanto maior o tempo de exposição dos dentes a uma bebida ácida, menor o grau de recuperação mineral e que as perdas minerais durante a erosão, in vitro, não são totalmente reparadas.

Farias et al. (2000) determinaram as características relacionadas com a erosão dental de sucos de frutas industrializados (laranja, goiaba, abacaxi, pêssego, maçã, manga e damasco) de uma mesma marca (Del Valle) através da mensuração do pH, da capacidade tampão e da concentração de flúor. De acordo com os resultados, o pH dos sucos variou de 3,46 a 3,26 para os sabores laranja e pêssego,

respectivamente. O suco que apresentou maior capacidade tampão foi o de laranja e a menor, o de manga. O teor de flúor não ultrapassou 0,527ppm (suco de maçã). Com isso, concluíram que todos os sucos estudados são ácidos (pH baixo e alta capacidade tampão) e capazes de dissolver as apatitas dentárias.

Lussi et al. (2000) compararam o potencial erosivo de diferentes bebidas em dentes decíduos e permanentes, avaliando a dureza superficial do esmalte. Sessenta dentes decíduos e 60 dentes permanentes foram imersos durante 3 min. a 37°C, em 12 diferentes tipos de substâncias testadas (duas marcas de iogurte, duas marcas de suco de laranja, suco de kiwi, suco de multivitaminas, suco de maçã, chá, Coca Cola, Sprite, Red Bull e vitamina C). A dureza do esmalte superficial foi medida antes e depois da imersão, sendo que a dureza média inicial foi menor nos dentes decíduos (322,0±17,5 Knoop) do que para os permanentes (354,4±8,7 Knoop). Analisando os resultados, observaram que o Sprite provocou o maior decréscimo da dureza, tanto para os decíduos quanto para os permanentes (151,8 Knoop para os dentes decíduos e 157,6 Knoop para os dentes permanentes); e o iogurte provocou aumento da medida nos dentes decíduos. Considerando todos os produtos avaliados, o decréscimo médio foi de 27,2±17,5 Knoop (27%) para dentes decíduos e de 25,9±15,6 Knoop (26%) para dentes permanentes (p>0,05). Quando compararam a suscetibilidade ao processo erosivo para os diferentes tipos de dente, observaram que ambos se comportaram de maneira semelhante, por esta razão salientaram que os decíduos não são mais susceptíveis à erosão do que os seus sucessores.

O'Sullivan e Curzon (2000a), em seu estudo compararam a alimentação de crianças com erosão dental (grupo experimental) com a de crianças cárie-ativas e

livres de cárie de mesma idade e sexo (grupos controle). Pelo relatório alimentar dos 309 pacientes, determinaram o tipo e a freqüência da ingestão de alimentos e bebidas ácidas e hábitos que pudessem prolongar a exposição dos dentes aos ácidos. De acordo com os resultados, as crianças com erosão dental além de ingerirem bebidas ácidas (refrigerantes e sucos de fruta) mais freqüentemente e terem um maior consumo de frutas, vinagre e suplementos de vitamina C, tinham o hábito de manter as bebidas por tempo prolongado na cavidade bucal (43%). Em contra partida, ingeriam significativamente menos chá, café, leite e água. De acordo com os resultados, os autores concluíram que, em algumas crianças, o consumo de alimentos ácidos, associado a hábitos de ingestão prolongados, contribuem para o desenvolvimento de erosão.

Num outro estudo, O'Sullivan e Curzon (2000b) quantificaram os níveis de *Estreptococcus mutans*, o fluxo e a capacidade tampão da saliva de 103 crianças/adolescentes na faixa etária entre 3 e 16 anos, que apresentavam erosão dental e compararam com indivíduos livres de cárie e cárie-ativos da mesma idade e sexo. O objetivo deste estudo foi o de estabelecer quais fatores são importantes no processo de erosão dental. Os resultados mostraram diferenças significantes para as contagens de *S. mutans* (grupo com erosão>grupo cárie-ativa>grupo livre de cárie, sendo p=0,05), para o pH da saliva estimulada e não estimulada (grupo livre de cárie>grupo cárie-ativa>grupo com erosão, sendo p<0,001) e para a capacidade tampão (grupo erosão com 47% dos pacientes com baixa capacidade tampão, sendo p<0,001). Sugeriram que indivíduos com erosão possuem experiência de cárie similar aos indivíduos livre de cárie, mas suas características salivares se assemelham as de pacientes cárie-ativos (altas contagens de *S. mutans* e baixa capacidade tampão da saliva). Concluíram que o pH da saliva não estimulada menor

que 6,5 aumenta o risco de erosão em 5 vezes e uma baixa capacidade tampão, em 2 vezes.

Segundo Shaw e O'Sullivan (2000), o diagnóstico precoce da erosão é importante para que possíveis fatores etiológicos sejam identificados e medidas preventivas sejam instituídas para evitar a progressão da doença. Se a erosão for causada por alimentos, bebidas ou medicamentos é aconselhável que se faça: limitação do uso às refeições principais devido ao aumento do fluxo salivar e da capacidade tampão; redução da freqüência de ingestão; não ingestão antes de dormir ou durante o sono; não escovação dos dentes imediatamente após a ingestão e sim, antes da mesma ou algum tempo após; não manutenção do produto por tempo prolongado na cavidade bucal e uso de chicletes para aumentar o fluxo salivar.

West; Hughes; Addy (2000) afirmaram que o potencial erosivo dos ácidos pode ser influenciado pelo pH, pKa, acidez titulável, temperatura, caráter ácido, concentração, potencial de quelação, freqüência e momento de ingestão, período de tempo na cavidade bucal e variação da estrutura dentária (conteúdo de flúor e da película salivar). Com isso, realizaram um estudo, *in vitro*, para avaliar o efeito erosivo de ácidos considerando sua temperatura, tipo, concentração e tempo de exposição. As amostras foram de esmalte e dentina feitas a partir de terceiros molares não irrompidos e colocadas em: ácido cítrico à 5°C, 35°C e 60°C por 10 min; ácidos cítrico, lático, málico e fosfórico em concentrações de 0,05%, 0,1%, 0,5% e 1% a 35°C por 10 min e três ácidos orgânicos (cítrico, lático e málico) a 0,3% ou no ácido fosfórico 0,1% em três imersões, a 35°C, de 10 min. Os autores concluíram que o aumento da temperatura, da concentração e do tempo de exposição

intensificaram a erosão do esmalte e da dentina, sendo o ácido fosfórico o mais erosivo devido ao seu baixo pH (pH 1,87) em relação aos ácidos orgânicos (pH 2,5).

Johansson et al. (2001) avaliaram a relação entre erosão na dentição decídua e seus fatores etiológicos, através de um questionário respondido por 16 crianças cujos dentes apresentavam erosão. Os resultados dos questionários mostraram uma alta freqüência de ingestão de bebidas e frutas ácidas, sendo que problemas respiratórios e o uso crônico de remédios podem constituir possíveis fatores etiológicos da erosão. Os autores ainda estudaram, in vitro, através da análise da dureza, a progressão da erosão dental em esmalte de 40 dentes decíduos e 20 dentes permanentes hígidos imersos em ácido cítrico a 2% (pH 2,10) num período de 5 a 30 min. Nos dentes decíduos, a progressão da erosão foi mais rápida (maior diminuição dureza) e em relação à microscopia, lesões de erosão, do tipo "favos de mel", foram observadas e nenhuma diferença morfológica foi constatada entre dentes decíduos e permanentes. Os autores salientaram que os padrões de erosão, in vivo, observados, in vitro, podem ser diferentes em decorrência da proteção da saliva e também, porque os dentes decíduos apresentam um risco maior à erosão do que os permanentes, devido às suas características teciduais e às condições salivares das crianças (menor fluxo e capacidade tampão).

West; Hughes; Addy (2001) salientaram que muitos fatores devem ser considerados para determinar os fatores de risco à erosão dental causada pelo consumo de refrigerantes. Entre eles, destacaram o tipo de ácido, pH, acidez titulável, pKa e capacidade tampão. Com este objetivo, realizaram um estudo, *in vitro*, para determinar a perda de esmalte e dentina, em terceiros molares humanos não irrompidos, ocasionada por ácido cítrico a 0,3% e por ácido fosfórico a 0,1%, produtos comumente encontrados em refrigerantes, ajustados com diferentes pH e

constituintes. Os resultados mostraram que o ácido cítrico causou mais erosão que o ácido fosfórico no esmalte e na dentina em valores diferentes de pH das soluções. Sugeriram que se pode reduzir o potencial erosivo dos refrigerantes, aumentando-se o pH para 3,0 ou mais e substituindo-se uma porcentagem do ácido cítrico por um alternativo, como fosfórico ou tartárico.

2.2 AÇÃO DOS MINERAIS NA EROSÃO DENTAL

O iogurte e o leite fermentado são bebidas ácidas, cujo pH é de aproximadamente 4,68 e 4,72, respectivamente, logo têm a capacidade de provocar dissolução do esmalte dentário. No entanto, como são produtos derivados do leite, apresentam em sua composição minerais, como o cálcio e o fosfato, que segundo alguns autores, o simples acréscimo destes minerais às bebidas ácidas, reduz o efeito erosivo dessas substâncias.

Hay et al. (1962) estudaram, *in vitro*, o efeito protetor do fosfato tricálcio e outros sais, sobre a erosão dental. Separaram coroas de incisivos, pré-molares e molares que foram colocadas em um frasco, com a referida solução teste: solução aquosa de um tablete para limpeza dental contendo ácido cítrico a fim de estimular o fluxo salivar, suco de maçã, suco de laranja, solução aquosa de pastilha ácida, solução aquosa de pirulito, suco de grapefruit, sopa de tomate e suco de groselha, todas com pH igual a 4. Os espécimes foram mantidos a 37°C e agitados por 2 h. Foram coletadas para análise amostras de fósforo das referidas substâncias. O tablete para limpeza dental ocasionou erosão semelhante aos sucos de maçã,

laranja e pastilha ácida e foi menos erosivo que os sucos de grapefruit (275 μm de fósforo/dente) e de groselha (186 μm de fósforo/dente). A adição de sais de cálcio e de fosfato às soluções reduziu significativamente a erosão, sendo que ambos os elementos devem estar presentes na proporção de 1 de fosfato para 3 de cálcio (fosfato tricálcio) para que se tenha proteção máxima. Nenhuma erosão foi detectada quando as soluções testes continham cerca de 300 μg de fósforo/ml e 600 μg de cálcio/ml. Para isso, adicionaram 2% ou 4% de fosfato tricálcio aos produtos.

McDonald e Stookey (1973), realizaram estudos, *in vitro*, e, *in vivo*, para determinar se bebidas contendo ácido carboxílico afetam os processos de erosão e cárie em esmalte e se a adição de fosfato tem influência benéfica sobre os mesmos. A partir dos resultados, constataram que as bebidas causaram erosão nos molares de rato, independentemente da presença ou não da sacarose, haja vista que o dano foi atribuído à constituição ácida dos produtos. O ácido fumárico foi mais prejudicial que o cítrico e o tartárico em concentrações equivalentes e a adição de fosfato (1% de fosfato de sódio) foi efetiva em reduzir a dissolução do esmalte. Baseado nestes fatos, os autores afirmaram que o Cirurgião Dentista deve ficar atento aos prejuízos causados por substâncias que contém ácido, apesar destas serem rapidamente removidas da cavidade bucal.

Bibby et al. (1980) analisaram, *in vitro*, a dissolução do esmalte e a acidogênese de alguns subprodutos do leite, como achocolatados, sorvetes e iogurtes. Verificaram que adicionando leite em pó, magro ou integral aos mesmos, havia redução na desmineralização. Em contrapartida, os produtos aumentaram a produção de ácidos, provavelmente devido à presença da sacarose na sua composição. A partir destes achados sugeriram que os fatores protetores do leite podem ser mais importantes como reguladores do ataque cariogênico, do que o pH

da placa na superfície dentária, confirmando também a ação da caseína como fator protetor mais importante contra a solubilidade do esmalte.

A partir de um estudo, *in vitro*, Grobler e Van Der Horst (1982) concluíram que a presença de altos conteúdos de fósforo ou de cálcio nos produtos ácidos pode diminuir a dissolução do esmalte dentário. Para isso, determinaram o pH, capacidade tampão e conteúdo de flúor, cálcio e fósforo dos produtos disponíveis no mercado africano. Os valores de pH variaram de 2,43 a 3,70, para o cálcio, ficaram entre 12,0ppm a 107,7ppm; para o fosfato foi de 1,0ppm a 345ppm e para o flúor entre zero a 0,16ppm. A capacidade tampão foi de 3 a 60 moles/l. Com concentrações de flúor abaixo de 100ppm constantemente presentes na cavidade bucal pode ocorrer a substituição dos íons hidroxila da hidroxiapatita por íons flúor, formando a fluoridroxiapatita que é mais resistente à dissolução ácida. Como o baixo valor de pH acelera esta reação, a mesma pode ocorrer durante a ingestão das bebidas estudadas. As bebidas com elevada capacidade tampão não são influenciadas pela saliva durante sua ingestão e o pH da mistura saliva/bebida permanece baixo por longo período, permitindo a ocorrência de erosão dental.

Rugg-Gunn; Roberts; Wright (1985) avaliaram o potencial acidogênico do leite humano (através da análise do pH da saliva) e sua capacidade de dissolução do esmalte, comparando-o com o leite bovino e soluções de lactose 7% e sacarose a 7%. Para a análise do pH, cada indivíduo (14 voluntários adultos) fez bochecho com cada uma das 4 soluções e a placa foi coletada antes e depois dos bochechos. Os autores observaram que o leite humano causou uma maior queda do pH que o bovino, sem diferença estatisticamente significante e que ambos apresentaram uma queda do pH menor, estatisticamente significante, quando comparados com as soluções de lactose e sacarose. Em relação a dissolução do esmalte, compararam a

quantidade de cálcio e fósforo das soluções isoladas com aquela presente na mistura com pó de esmalte e observaram que o leite humano causou maior dissolução do esmalte que o leite bovino e ambos apresentaram menor dissolução (estatisticamente significante) quando comparados com as soluções de lactose e sacarose.

Dever; Thomson; Hampton (1987) comparando o efeito, *in situ*, de leite aromatizado e sucos de fruta sobre o esmalte de dente permanente, observaram que o leite, com ou sem sacarose, provocou as menores modificações na dureza do esmalte, pois além de ter baixa cariogenicidade, tem ação protetora sobre o tecido mineralizado.

Grenby; Mistry; Desai (1990) avaliaram, *in vitro*, o pH, a capacidade tampão e erosiva e a quantidade de íons minerais, de 18 sucos de frutas (concentrados e prontos para beber). Concluíram, que os sucos com maior teor de cálcio e fósforo mostraram menor potencial erosivo e que os valores de pH ficaram entre 2,9 e 4,6, não existindo correlação positiva entre os baixos valores de pH e alta capacidade tampão, pois o suco de laranja mesmo diluído continuou mantendo uma alta capacidade tampão.

A partir de um levantamento bibliográfico, Grenby (1996) observou que o acréscimo de cálcio e fosfato através da saturação do meio desmineralizante com fosfato tricálcico ou pelo acréscimo de fosfatos e outros sais de cálcio solúveis, tornando disponível de 0,02% a 0,15% deste elemento, modificam substâncias potencialmente erosivas, de forma que previnem a erosão dental. Já a adição de flúor aos produtos, pode aumentar a resistência do esmalte à erosão, porque incrementa a resistência dos tecidos dentários aos ácidos quando incorporado na estrutura da apatita. Ao contrário, o aumento na concentração de citrato pode

aumentar o potencial erosivo dos produtos; no entanto, pequenas concentrações podem tamponar os ácidos e reduzir o processo erosivo devido à estimulação do fluxo salivar.

Bezerra e Toledo (1997) sugeriram que alguns componentes, presentes no leite e seus derivados, são considerados inibidores da desmineralização dentária, sendo chamados de protetores. Entre eles, os fosfatos, que reduzem a taxa de dissolução da hidroxiapatita, auxiliam na remineralização e na capacidade de tamponamento dos ácidos na placa e modificam a película adquirida com adsorção protéica; o cálcio, que participa do processo de remineralização, aumentando a resistência do esmalte; a caseína, uma fosfoproteína que liga-se à hidroxiapatita diminuindo sua solubilidade, reduzindo a aderência de bactérias à superfície dental, além de elevar o pH da placa prevenindo a desmineralização; e as gorduras, que substituem os carboidratos, formam uma barreira de proteção no esmalte, inviabilizam a disponibilidade dos açúcares e apresentam ação antibacteriana.

Araújo et al. (1998) através de um modelo de cárie experimental, *in situ,* avaliaram o leite de vaca puro e leite de vaca contendo sacarose. Para isso fizeram blocos de esmalte a partir de terceiros molares hígidos de 10 voluntários, que foram fixados em um dispositivo oral-palatino. Os voluntários foram divididos em 2 grupos, de acordo com o tipo de leite (leite de vaca puro e o leite acrescido de açúcar). O experimento foi realizado em 2 períodos de 35 dias com intervalo de 1 semana, no qual cada voluntário gotejava 8 vezes por dia o referido leite, deixando estagnado por 5 min. Os autores concluíram que a placa formada pelo leite acrescido de açúcar era amarelo-clara, granulosa, densa e em maior volume quando comparada com a formada pelo leite puro, que foi mais brilhante e pastosa. Observaram ainda que nos espécimes que foram submetidos à ação do leite puro, nenhum apresentou mancha

branca evidente, visto clinicamente, enquanto que para o outro grupo foi observado perda do brilho e mancha branca. Os autores concluíram que o leite de vaca não tem potencial cariogênico, mesmo em condições de alto desafio cariogênico (dente imaturo, retenção de placa, alta frequência de ingestão de açúcar, limitada ação salivar auxiliada pelo flúor) e que a adição de açúcar ao leite bovino induziu um efeito desmineralizante na superfície do esmalte.

Larsen e Nyvad (1999) realizaram um estudo com o objetivo de comparar o pH e o efeito tampão de vários refrigerantes com a propriedade erosiva e de solubilidade da apatita. Para isso, determinaram o pH, capacidade tampão e as concentrações de cálcio, fosfato e flúor de 18 refrigerantes, águas minerais e sucos disponíveis no mercado dinamarquês. Após esta determinação, 54 blocos de esmalte foram expostos a 1,5 litros da bebida por 24 h e por 7 dias, ambos sob agitação constante. A partir da análise dos blocos os autores observaram lesões de erosão com profundidade de 3 mm para as bebidas mais ácidas e suco de laranja fresco; e superfícies levemente afetadas, para as águas minerais. A dissolução do esmalte foi inversamente proporcional ao pH da bebida e diretamente proporcional à solubilidade da apatita. O suco de laranja (pH 4) suplementado com cálcio e fosfato, não causou erosão no esmalte, visto que o cálcio e o fosfato saturaram as bebidas em relação à apatita. No geral, quanto mais baixo o pH, mais hidróxido de sódio (NaOH) foi necessário para levar o pH à neutralidade, denotando uma elevada capacidade tampão. Concluíram que o cálcio e o fosfato adicionados ao suco de laranja apresentaram efeito preventivo em relação à erosão; nenhum efeito da pequena concentração de flúor foi observado e a capacidade de uma bebida em provocar erosão no esmalte não depende apenas de seu pH, mas também de sua capacidade tampão.

Hughes et al. (2000) mediram a erosão do esmalte ocasionada pelos ácidos cítrico, málico e láctico através dos valores de pH e concentrações encontradas em formulações de refrigerantes e determinaram o efeito da adição de cálcio (carbonato de cálcio) ao ácido cítrico. Para isso, amostras de blocos de esmalte de terceiros molares não irrompidos foram colocadas em soluções de ácido cítrico, málico e láctico com diferentes pHs (2,8; 3,3 e 3,8) e concentrações (0,1; 0,35 e 0,6g/100ml), por 10 min a 35°C, em 3 exposições sucessivas. Os espécimes também foram expostos a soluções de ácido cítrico (0,24g/100ml) contendo cálcio (0,0248g/100ml), com diferentes valores de pH (de 3,0 a 4,4) e a soluções de ácido cítrico com mesmo valor de pH (3,8) e diferentes concentrações de cálcio (de zero a 0,0496g/100ml). Observaram um aumento da erosão com a diminuição do pH e com o aumento da concentração de ácido. O ácido láctico foi mais erosivo que o málico e o cítrico, sendo que os dois últimos se mostraram equivalentes em potencial. Em relação à adição de cálcio, o seu aumento na solução de ácido cítrico com pH fixo, mostrou uma diminuição na erosão, pois o cálcio pode diminuir a taxa de reação do ácido cítrico com o esmalte ou quelar parte do ácido cítrico antes que ocorra o processo de dissolução do tecido dental. Concluíram que a erosão do esmalte é influenciada pelo pH, concentração de ácido e presença de cálcio, sendo que a modificação destas variáveis pode favorecer uma baixa capacidade erosiva ao refrigerante.

Näse et al. (2000) avaliaram a ação anticárie do leite contendo *Lactotobacillus* rhamnosus e compararam-no com o leite normal. Para isso 584 crianças de 1 a 6 anos de idade beberam leite 5 dias da semana por 7 meses. A condição bucal das crianças foi registrada antes e depois do experimento baseado no critério da Organização Mundial da Saúde. O risco à doença cárie foi calculado com dados

clínicos e microbiológicos, incluindo os níveis de *Estreptococcus mutans* da placa dental e saliva. Os resultados mostraram baixa prevalência de cárie dentária e baixo número de *S. mutans* ao final do experimento, para o grupo do leite com *Lactobacillus rhamnosus*. Concluíram que o leite contendo *Lactobacillus rhamnosus* reduz o risco à cárie de forma significativa e por esta razão pode ter um efeito benéfico para a saúde bucal das crianças.

Grenby et al. (2001) num estudo, *in vitro*, caracterizaram e identificaram os componentes anticárie existentes no leite e seus derivados. Testes com esmalte e hidroxiapatita desmineralizada foram utilizados para simular a ação de ácidos sobre o mineral do dente e o fracionamento das substâncias, para mostrar os constituintes de proteção contra o ataque ácido. Tanto o leite quanto os seus derivados, revelaram que minerais como cálcio e fósforo, agem em parte neste processo. A adsorsão de proteínas ou polipeptídeos no esmalte dental foram medidas e consideradas suficientes para reduzir a extensa desmineralização de esmalte pelas soluções ácidas. Os autores concluíram que a remoção da lactose, da gordura, caseína e outras proteínas tiveram pouca influência no efeito protetor do leite e que além do cálcio e fósforo, o leite apresenta outros fatores de proteção mais fortes, como as frações de proteose-peptídeos, glicoproteínas, proteoglicans e lactoferrinas.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar individual e comparativamente, *in vitro*, o potencial erosivo de um iogurte sabor morango e um tipo de leite fermentado através da análise da dureza de 105 espécimes de esmalte de dente decíduo, divididos em 2 grupos testes e um controle, expostos a estas substâncias, por um período de 5 min, 3 vezes por dia, durante 5 dias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo, *in vitro*, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (ANEXO A).

4.1 PREPARO DOS ESPÉCIMES

Foram utilizados primeiros e segundos molares decíduos, superiores e inferiores, extraídos e que se encontravam estocados em formol tamponado a 10% e pH 7.

Após uma profilaxia com escova Robson e água, os dentes foram avaliados num estereoscópio (marca Dimex, modelo MZS 200) (**FIG. 1**), na ocular de 20x, com o objetivo de selecionar dentes com superfícies vestibulares, linguais, ou ambas, hígidas, sem trincas, desmineralizações visíveis ou outros defeitos estruturais.



Figura 1- Estereoscópio

Os dentes selecionados tiveram suas raízes removidas com o auxílio de uma lixa d'água de granulação 100 em uma politriz (Panambra DP-10; Struers) (FIG. 2) e cortados no sentido mésio-distal, em fatias de 2 mm, com um disco de diamante (Diamond Wafering Blade Low Speed Saw) na Isomet (FIG. 3) a uma velocidade de 300rpm e com um peso de 50g, sob constante refrigeração. Cada dente forneceu no máximo 3 fatias e este corte permitiu a utilização do esmalte das duas cúspides (mesial e distal), que foram separadas com um disco de carborundum em baixa rotação e sob refrigeração (FIG. 4). As fatias foram incluídas em resina de poliéster (Central do Fiberglass – Florianópolis/SC – Brasil) (FIG. 5), de acordo com as instruções do fabricante, adicionada de um corante preto com a finalidade de facilitar a visualização do esmalte dentário.



Figura 2- Politriz



Figura 3- Isomet



Figura 4- Divisão da coroa com disco de carborundum

Para a inclusão, inicialmente as fatias de esmalte foram fixadas em uma fita dupla face (3M), com a superfície de esmalte voltada para fora e incluídas em buchas de PVC, de diâmetro de 19 mm (Tubos e Conexões Tigre S/A).

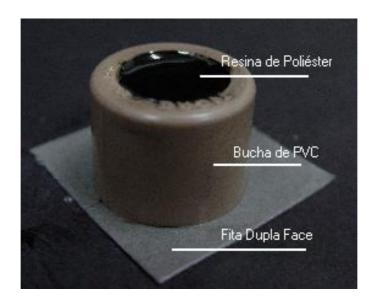


Figura 5- Inclusão das fatias de esmalte na resina de poliéster

Após a polimerização, os espécimes foram retirados e mergulhados em água quente e em seguida em água fria, por 5 min. Esse procedimento teve como objetivo finalizar a polimerização da porção externa da resina, que estava em contato com o PVC.

Os espécimes tiveram suas superfícies polidas em uma politriz (marca Struers- modelo DP10), com lixas d'água de granulação 600, 800, 1000, 1200, 1500 e 2000 (da mais grossa para a mais fina), a uma velocidade de 600 rpm (**FIG. 6**), com o intuito de se obter uma superfície de esmalte plana e lisa, uma vez que a falta de planificação e lisura poderia interferir nos testes de dureza. Entre cada lixa, os espécimes ficaram em ultra-som por 5 min (Ultrasonic Cleaner 1440D; Odontobrás) (**FIG. 7**) para remoção de qualquer resíduo resultante do polimento. Após a lixa 2000, os espécimes foram polidos com um feltro (textura supra; Arotec) umedecido com pasta de alumina de 1µ de granulação (Arotec), a uma velocidade de 300 rpm, durante 1 min (**FIG. 8**).

Depois do polimento, os blocos foram lavados com água deionizada e limpos em ultra-som por 20 min, para remoção dos resíduos deixados pelos procedimentos. Após, foram armazenados em caixas plásticas fechadas, recobertos por lenços umedecidos em água deionizada para evitar a desidratação e ressecamento.

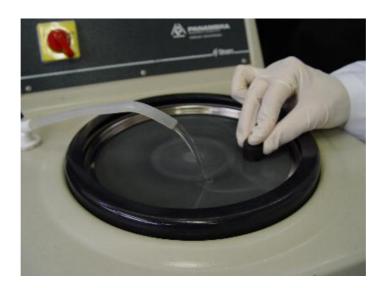


Figura 6- Polimento dos espécimes com as lixas d' água



Figura 7- Ultra-som



Figura 8- Polimento com disco de feltro e alumina

4.2 DELIMITAÇÃO DA AMOSTRA

Os espécimes foram selecionados a partir da dureza quando apresentaram valor entre 272 e 440 KHN (Knoop Hardness Number), que é o valor compatível ao esmalte dentário permanente (MEREDITH et al., 1996), e que, segundo Maupomé et al. (1999), não difere significativamente do esmalte dentário decíduo.

Para esse teste foi utilizado um microdurômetro previamente ajustado (marca Shimazdu, HMV Micro Hardness Tester) (**FIG. 9**) onde foram feitas 3 indentações em cada espécime, com uma carga de 50 gramas, aplicada por 5 s (LUSSI; JÄGGI; SCHÄRER, 1993), cujos valores foram registrados nas **TAB. 1 a 3**.



Figura 9- Microdurômetro

A primeira indentação foi padronizada em 1,5mm abaixo da porção mais saliente de esmalte e a $100\mu m$ da face mesial ou distal, sendo que as 3 indentações foram espaçadas por $100\mu m$ entre elas (**FIG. 10**).



Figura 10- Esquema das indentações iniciais feitas nos espécimes

A leitura das indentações e o cálculo da microdureza foram realizados através do software Newage Testing Instruments C.A.M.S. Testing System, instalado em um computador ligado ao microdurômetro através de um sistema ótico de transferência digital de imagem (Genwac High Resolution), com a imagem magnificada em 40X.

Tabela 1- Valor inicial e média das durezas dos espécimes de esmalte dentário do grupo I, imersos em iogurte.

Espécimes	Ini 1	lni 2	Ini 3	Média ini
1	268	380	366	338
2	301	251	271	274
3	359	388	310	353
4	330	261	256	282
5	295	375	359	343
6	352	295	304	317
7	278	295	276	283
8	397	380	371	383
9	276	317	263	285
10	310	344	276	310
11	341	287	344	324
12	341	388	301	343
13	363	348	384	365
14	431	261	263	318
15	281	278	273	278
16	337	359	380	359
17	292	284	268	281
18	323	301	281	302
19	375	406	380	387
20	337	380	320	346
21	341	317	292	317
22	384	402	348	378
23	317	327	249	297
24	458	406	421	428
25	242	295	307	282
26	327	341	330	332
27	371	247	236	285
28	317	307	317	314
29	375	375	341	364
30	352	367	375	365
31	175	348	341	288
32	295	384	380	353
33	355	295	320	324
34	323	298	289	304
35	337	292	292	307

Ini- valor de dureza inicial

Média ini- média das durezas iniciais

Tabela 2- Valor inicial e média das durezas dos espécimes de esmalte dentário do grupo II, imersos em leite fermentado.

Espécime	Dur ini 1	Dur ini 2	Dur ini 3	Média ini
1	304	317	341	320
2	218	355	380	318
3	359	287	298	315
4	355	201	266	274
5	367	363	393	374
6	323	359	323	335
7	307	341	327	325
8	310	295	278	295
9	436	411	367	405
10	268	320	276	288
11	411	352	352	372
12	388	421	367	392
13	397	371	402	390
14	333	254	261	283
15	330	397	363	364
16	363	320	406	363
17	402	397	344	381
18	371	344	313	343
19	402	359	211	324
20	363	247	323	311
21	330	355	359	348
22	276	384	359	340
23	313	251	263	276
24	281	281	263	275
25	393	375	371	380
26	352	344	298	331
27	245	301	301	282
28	352	317	181	283
29	323	301	298	308
30	330	295	323	316
31	384	352	371	369
32	348	289	375	338
33	348	258	238	281
34	287	301	281	290
35	271	276	278	275

Ini- valor de dureza inicial

Média ini- média das durezas iniciais

Tabela 3- Valor inicial e média das durezas dos espécimes de esmalte dentário do grupo controle, mantidos em saliva artificial.

Espécimes	Dur ini 1	Dur ini 2	Dur ini 3	Média ini
1	284	292	272	283
2	431	416	421	423
3	281	295	268	282
4	436	301	337	358
5	431	431	426	429
6	380	436	363	393
7	431	330	323	361
8	411	330	464	402
9	359	313	301	325
10	276	310	431	339
11	310	359	310	327
12	298	287	337	307
13	384	355	313	351
14	273	313	240	276
15	380	359	289	343
16	355	397	341	364
17	333	323	367	341
18	431	421	359	404
19	310	292	228	277
20	333	436	327	365
21	320	337	320	326
22	298	298	295	297
23	371	363	426	387
24	313	317	258	296
25	384	333	367	362
26	359	371	352	361
27	273	402	310	328
28	431	320	411	387
29	278	258	317	285
30	371	344	355	357
31	310	295	289	298
32	281	278	380	313
33	307	273	236	272
34	327	320	268	305
35	323	304	292	307

Ini- valor de dureza inicial

Média ini- média das durezas iniciais

4.3 SELEÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS

Foram pesquisadas marcas comerciais de iogurtes e leites fermentados em supermercados de Florianópolis e selecionou-se o iogurte e o leite fermentado (FIG.11) mais vendido, segundo o Departamento de Vendas da maior rede de supermercados da cidade de Florianópolis/SC.





Figura 11- logurte e leite fermentado utilizado neste estudo

4.4 FASE EXPERIMENTAL

O experimentou foi composto de 3 grupos, 2 testes e 1 controle, com 35 espécimes cada, aleatoriamente distribuídos.

4.4.1 Imersão dos espécimes nas substâncias

Os espécimes foram imersos simultaneamente em 500 ml das referidas substâncias (FIG. 12 a 14), sendo que no grupo I, em iogurte e no II, em leite fermentado, por um período de 5 min, às 9, 15 e 21 h, durante 5 dias. Entre as imersões os espécimes ficaram em saliva artificial, que foi trocada diariamente. Quando foram retirados da saliva ou mesmo das substâncias, estes foram lavados com água deionizada a fim de remover as substâncias. Durante todo o experimento, ficaram mantidos a uma temperatura de 37°C. Para facilitar estes procedimentos confeccionou-se um dispositivo a partir de duas placas de borracha (placa de borracha EVA Rabner; Rabanal Ltda), sobrepostas e coladas, com orifícios de 18mm, nos quais foram encaixadas as 35 bases de resina.



Figura 12- Imersão no iogurte



Figura 13- Imersão no leite fermentado



Figura 14- Imersão na saliva artificial

O pH da saliva artificial utilizada foi de 6,75, de acordo com a farmácia de manipulação e os constituintes presentes na sua composição encontram-se listados no **QUADRO 1**.

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%	213,7g
Fluoreto de sódio	0,021g
Benzoato de sódio	5,0g
Água destilada qsp	1000ml

QUADRO 1 - Composição da saliva artificial (g/l)

A temperatura do iogurte e leite fermentado foi mantida entre 1°C e 10°C, como é especificado nos recipientes, sendo que após cada imersão foram descartados.

4.4.2 Durometria final

Após o término da fase experimental, a dureza dos espécimes de esmalte foi analisada novamente, através do teste de dureza Knoop, mencionado

anteriormente. Para isso, foram feitas 3 novas indentações, a uma distância de 100μm abaixo das primeiras.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística da dureza dos espécimes de esmalte dentário decíduo, foram utilizados modelos mistos com o software SAS 8.02 (SAS Institute Inc.; Cary, NC, USA). Para comparação entre as durezas antes e depois da exposição às substâncias, foi utilizado o teste t pareado e para comparação entre os grupos, o método Tukey-Kramer.

5 RESULTADOS

O iogurte e leite fermentado são bebidas muito consumidas pelas crianças e apresentaram, neste estudo, pH em torno de 4,68 e 4,72, respectivamente, valor abaixo do considerado crítico para o processo de desmineralização do esmalte dentário que acontece a partir do pH 5,5, logo podem ser consideradas bebidas potencialmente erosivas.

A metodologia utilizada permitiu observar, tanto nos espécimes imersos em iogurte quanto em leite fermentado, durezas finais cujos valores ficaram abaixo do considerado compatível para o esmalte decíduo, confirmando o processo de desmineralização promovido pelas bebidas; assim como durezas finais maiores que as iniciais, onde houve um aumento na mineralização destes espécimes.

As médias, inicial e final, da dureza do esmalte dentário, em unidades Knoop, estão expressas na **TAB. 4** para as referidas substâncias testadas, iogurte e leite fermentado e para o grupo controle, cujas amostras permaneceram em saliva artificial.

Nos espécimes expostos ao iogurte (grupo I), pôde-se observar que em 28 deles (80%) a dureza diminuiu após a imersão, sendo que destes, 19 (54,28%) se mantiveram no intervalo de dureza compatível com a do esmalte decíduo, entre 272 e 440 unidades Knoop, 9 (25,71%) com valores abaixo, e em 6 (17,14%) espécimes, a dureza aumentou. Em um espécime as indentações finais não foram realizadas por não ser possível visualizar as iniciais.

Tabela 4 – Médias dos valores de dureza do esmalte dentário, inicial e final, dos espécimes dos grupos I e II, exposto ao iogurte e leite fermentado, respectivamente e do grupo controle, em saliva artificial.

			LEI	TE		
BEBIDAS	IOGL	IRTE	FERME		SALIVA AF	RTIFICIAL
DUREZA						
	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
FORFOLME	11 (10 1) (2	1 11 17 (E	I THOU IL	1 11 47 12	II VIOI/ LE	1 11 47 ()_
<u>ESPÉCIME</u>	000	004	000	0.40	000	
1	338	261	320	242	283	233
2	274	261	318	212	423	389
3	353	265	315	228	282	291
4	282	264	274	268	358	306
5	343	353	374	300	429	300
6	317	294	335	301	393	321
7	283	295	325	142	361	303
8	383	355	295	293	402	314
9	285	244	405	361	325	279
10	310	342	288	297	339	337
11	324	298	372	293	327	278
12	343	339	392	339	307	313
13	365	293	390	322	351	274
14	318	299	283	291	276	281
15	278	229	367	295	343	311
16	359	302	363	315	364	356
17	281	275	381	300	341	364
18	302	296	343	327	404	318
19	387	250	324	260	277	291
20	346	306	311	224	365	316
21	317	340	348	292	326	308
22	378	252	340	286	297	283
23	297	314	276	275	387	298
24	428	290	275	228	296	290
25	282	282	380	355	362	289
26	332	276	331	361	361	306
27	285	NE	282	208	328	330
28	314	304	283	268	387	331
29	364	352	308	361	285	300
30	365	299	316	305	357	314
31	288	337	369	236	298	332
32	353	295	338	277	313	348
33	324	239	281	252	272	296
34	304	292	290	206	305	335
35	307	282	275	135	307	277

NE= indentação inicial não encontrada

Para os espécimes imersos em leite fermentado (grupo II), dos 35, 31 (88,57%) tiveram sua dureza diminuída após a imersão, sendo que destes 17 (48,57%) se mantiveram entre a dureza compatível com a do esmalte decíduo e 14 (40%) com valores abaixo, e em quatro espécimes (11,42%), a dureza aumentou. Neste grupo, conseguiu-se identificar todas as indentações iniciais, no entanto com maior dificuldade quando comparadas com as do grupo I.

Para o grupo controle, onde os espécimes ficaram imersos em saliva artificial, 11 (31,42%) tiveram um aumento na dureza superficial, 23 (65,71%) diminuíram, mantendo-se na faixa considerada normal para o esmalte decíduo sadio e apenas em um espécime a dureza reduziu além deste valor.

A TAB. 5 expressa as médias de cada grupo, calculadas a partir dos valores médios e a porcentagem na diminuição da dureza do esmalte, verificada após a exposição ao iogurte e leite fermentado. Pôde-se observar que a maior redução na dureza do esmalte decíduo aconteceu no grupo onde os espécimes foram expostos ao leite fermentado (15,79%), seguido dos expostos ao iogurte (9,99%), e até mesmo no grupo controle, onde os espécimes ficaram imersos em saliva artificial, houve um decréscimo na dureza de 5,76% (GRAF.1).

Com o teste estatístico de modelos mistos, na análise da dureza depois do tratamento, observou-se haver diferença estatística entre os grupos (p=0,0046). Pelo método Tukey-Kramer verificou-se diferença entre o grupo leite fermentado e controle (p=0,0038); já entre o iogurte e controle (p=0,5513) e leite fermentado e iogurte (p=0,0697), não foi verificada diferença. No entanto, a relação entre o leite fermentado e iogurte (p=0,0697) foi bem próxima da significância, logo estes grupos não podem ser ditos "iguais".

Tabela 5- Média total e porcentagem de redução da dureza dos grupos I, II e do controle.

	MÉDIA INICIAL	MÉDIA FINAL	PORCENTAGEM DE REDUÇÃO
GRUPO I-IOGURTE	325,97	293,38	9,99
GRUPO II- LEITE FERMENTADO	327,62	275,85	15,79
GRUPO CONTROLE	327,80	308,91	5,76

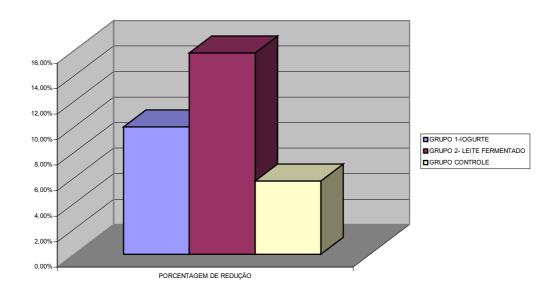


GRÁFICO 1- Redução da dureza dos espécimes de esmalte decíduo, expostos ao iogurte (grupo I) e leite fermentado (grupo II) e mantidos em saliva artificial (grupo controle).

O teste t pareado demonstrou que a comparação entre a dureza antes e depois da exposição dos espécimes, mostrou uma redução significativa na dureza dos 3

grupos (p<0,001). No entanto, comparando a redução percentual da dureza entre os grupos, através de um modelo misto, observou-se não haver diferenças entre os grupos em nível de 5%, no entanto foi bem próximo da significância (p=0,0630). Pelo método Tukey-Kramer verificou-se uma diferença muito próxima do valor alfa de 5% entre o grupo leite fermentado e controle (p=0,051), contudo entre o leite fermentado e o iogurte (p=0,2631) e entre o iogurte e o controle (p=0,7265), nenhuma diferença foi observada.

Utilizando o modelo misto aplicado, o grupo controle teve uma redução estimada de 6,89%, o grupo iogurte, uma redução de 9,46% e o grupo leite fermentado de 14,77%.

6 DISCUSSÃO

Sabe-se que o esmalte dentário apesar de ser a estrutura mais dura e mineralizada do corpo humano é susceptível aos ácidos aos quais são expostos, sejam originados do próprio organismo ou da alimentação (LARSEN; BRUNN, 1995). Estes ácidos por si só podem provocar perda de estrutura, devido à dissolução que promovem. E dentre os alimentos, as bebidas industrializadas têm papel especial neste processo, visto que são consumidas regular e frequentemente devido às suas características de sabor e praticidade. Sucos oriundos de frutas ácidas são comprovadamente capazes de provocar erosão dental (MILLWARD et al., 1994; EDWARDS et al., 1999; LARSEN; NYVAD, 1999) em função de características relacionadas ao pH e capacidade tampão. De acordo com Bibby et al. (1980), Rugg-Gunn; Roberts; Wright (1985) e Dever; Thomson; Hampton (1987), produtos à base de leite também podem provocar perda de estrutura dental, como comprovado na presente pesquisa, que estudou o potencial erosivo de um iogurte industrializado (sabor morango) e de um leite fermentado. Para Johansson et al. (1998), os dentes decíduos são mais vulneráveis à erosão do que os dentes permanentes, e ainda que as condições salivares das crianças potencializam esta susceptibilidade, visto que apresentam baixo fluxo salivar e baixa capacidade tampão (JOHANSSON et al.,2001). Constata-se que se possa ter processo erosivo expressivo principalmente porque se observa que o consumo destas bebidas tem aumentado já na primeira infância, quando os dentes decíduos ainda estão em fase de maturação pós-eruptiva.

Segundo West; Hughes; Addy (2001), muitas características das bebidas devem ser consideradas para determinar fatores de risco à erosão dental, entre elas destacam-se: tipo de ácido presente, pH, acidez titulável, pKa e capacidade tampão. Considerando o pH, sabe-se que um alimento pode causar erosão quando apresenta pH abaixo do crítico, que resulta na dissolução do esmalte dentário (MEURMAN; TEN CATE, 1996).

Nesta pesquisa, observou-se que o iogurte e o leite fermentado testados, podem provocar erosão, pois apresentaram pH em torno de 4,68 a 4,72 respectivamente. Segundo Edwards et al. (1999), o pH baixo de sucos de frutas e de bebidas carbonatadas tem sido implicado na crescente incidência de erosão. Smith e Shaw (1987) confirmaram clinicamente esta constatação, a partir da observação de lesão de mancha branca com aparência opaca e microscopicamente, grande destruição do esmalte, quando dentes decíduos ficaram expostos a sucos de frutas infantis, cujos valores de pH foram aproximadamente 3,64. Da mesma forma, Larsen e Nyvad (1999), num estudo comparando o pH e o efeito tampão de vários refrigerantes com sua propriedade erosiva e de solubilidade da apatita, concluíram que a dissolução do esmalte foi inversamente proporcional ao pH da bebida e diretamente proporcional à solubilidade da apatita. Farias et al. (2000), relacionando características de sucos de fruta industrializados com a erosão dental, observaram que todos os sucos apresentaram um valor de pH baixo sendo capazes de dissolver a apatita dentária. Hughes et al. (2000) complementaram confirmando que há um aumento da erosão dental não só com a diminuição do valor do pH, mas também com o aumento na concentração do ácido.

Sabendo do potencial erosivo das bebidas, quando apresentam pH abaixo de 5,5, deve-se dar atenção não só a quantidade de ingestão delas, mas à freqüência

com que são ingeridas, pois o consumo freqüente gera sucessivas quedas de pH (MILLWARD et al., 1997). Conclusão também constatada por Maupomé et al. (1998), que avaliando freqüência de ingestão de coca-cola, observaram uma diminuição da dureza das amostras, no entanto, após o final do experimento, as amostras do grupo de baixa ingestão (uma vez por dia) apresentaram maior dureza que as do grupo de alta ingestão (10 vezes ao dia).

A partir dos resultados da presente pesquisa, a comparação da dureza inicial com a dureza final dos 2 grupos, iogurte e leite fermentado, demonstrou percentuais de redução de 9,46 e 14,77, respectivamente, e mesmo os espécimes do grupo controle também apresentaram redução de 6,89%. Entretanto, descartando-se a redução causada pela saliva artificial, tem-se para os grupos I e II, uma redução de 2,57 e 7,88, respectivamente. Comparando-se a redução percentual da dureza entre os grupos pelo método Tukey-Kramer, verificou-se uma diferença muito próxima do valor alfa de 5% entre o grupo leite fermentado e controle (p=0,051), o que não foi visto entre as outras comparações, nesta pesquisa.

Este resultado divergiu daqueles observados por Rytomaa et al. (1988), que avaliando o potencial erosivo de um iogurte de morango e leite, não observaram nenhuma alteração morfológica na superfície de esmalte característica de erosão; bem como o de Lussi et al. (2000) que avaliando a ação de 12 substâncias, entre elas duas marcas de iogurte, observaram que estes provocaram um aumento na dureza do esmalte. No entanto a metodologia destes dois trabalhos diferem da utilizada neste, já que Lussi et al. (2000) fizeram uma única exposição de 3 min e Rytomaa et al. (1988), uma exposição de 4 h, o que, inicialmente pode provocar erosão, entretanto com o passar do tempo, pode provocar uma reprecipitação para a estrutura dental, de cálcio e fosfato, componentes freqüentemente presentes na

constituição deste produto, com conseqüente aumento da dureza. Em contra partida, Bibby et al. (1980) salientaram que os produtos derivados do leite aumentam a produção de ácidos, provavelmente devido à presença da sacarose na sua composição.

Considerando que as bebidas testadas apresentaram pH abaixo de 5,5, já era esperado, por esta característica, que ambas provocassem uma redução na dureza dos espécimes. Contudo, houve também uma redução da dureza dos espécimes do grupo controle, cujo pH, informado pela farmácia de manipulação, foi de 6,75, esta redução pode ser atribuída a um erro do valor, com redução, já que se observou um potencial erosivo expressivo após o quinto dia do experimento. O'Sullivan e Curzon (2000b) afirmaram que quando o pH da saliva for menor que 6,5, valor muito próximo do pH da saliva utilizada nesta pesquisa, o risco de ocorrer erosão aumenta em 5 vezes. Rytomaa et al. (1988), quando avaliaram a capacidade da saliva com e sem flúor, em reparar espécimes de esmalte bovino expostos a bebidas ácidas, observaram que a saliva não limitou a ocorrência da erosão. No entanto, Gouveia (1999) observou que a saliva artificial não foi capaz de devolver normalidade morfológica e de dureza superficial ao esmalte dentário, porém observou a deposição de uma camada de fosfato de cálcio sofre a superfície erodida por meio de microscopia, sugerindo sua ação remineralizante.

Outro aspecto a ser ressaltado, é que ambas bebidas apresentaram valores semelhantes de pH (4,68 e 4,72), contudo como o iogurte, apresentou capacidade tampão maior, esperava-se que provocasse uma maior diminuição na dureza dos blocos de esmalte (GROBLER; VAN DER HORST, 1982), quando comparado com o leite fermentado, além disso, esperava-se que por ser mais consistente, fosse mais aderente ao esmalte dentário. Considerando o leite fermentado, é importante

ressaltar que este apresentava *Lactobacillus* vivos, que segundo Näse et al. (2000), tornam o leite uma bebida de baixo risco à cárie dentária quando comparado com um leite sem os *Lactobacillus*. No entanto, o que se observou foi um resultado melhor para o iogurte e aconteceu, provavelmente, em decorrência da presença e quantidade de minerais, tais como, o cálcio e sódio presente no iogurte, já que proporcionalmente, de acordo com a composição especificada nas referidas embalagens (ANEXO D e E), apresentava 37,5% a mais de cálcio, quando comparado com o leite fermentado. Sendo que o iogurte apresenta sódio em sua composição, o que não é observado no leite fermentado e a quantidade de cálcio no iogurte foi de 0,9 mg/ml e no leite fermentado, de 0,56 mg/ml, ou seja, o iogurte apresentou 50% a mais de cálcio e o leite fermentado, 6,66% a menos do que a quantidade recomendada por Hay et al. (1962), para que a erosão não fosse detectada.

Lussi; Jaeggi; Scharer (1993) observaram durezas finais maiores que as iniciais após a exposição de blocos de esmalte permanentes, ao iogurte por 20 min e segundo os autores, este aumento esteve diretamente relacionado ao conteúdo do mineral presente no iogurte, já que dentre as bebidas testadas foi a que apresentou a mais alta concentração de fosfato (21,39 mmol/l), que, segundo Bezerra e Toledo (1997) reduzem a taxa de dissolução da hidroxiapatita, pois auxiliam na capacidade de tamponamento dos ácidos na placa, modificam a película adquirida com adsorção proteica e agem também no processo de remineralização dentária.

Hay et al. (1962) estudando o efeito protetor do fosfato tricálcio e outros sais sobre a erosão dental, concluíram que a adição de sais de cálcio e de fosfato às soluções ácidas reduziria significativamente o processo erosivo. Sugeriram que para se obter proteção máxima, ambos os elementos devem estar na proporção de 1 de

fosfato para 3 de cálcio (fosfato tricálcio) e ainda que não detectaram erosão quando as soluções testes continham cerca de 0,3 mg de fósforo/ml (300 μg de fósforo/ml) e 0,6 mg de cálcio/ml (600 μg de cálcio/ml). Da mesma forma, Mc Donald e Stookey (1973), Grenby; Mistry; Desai (1990), Grenby (1996), Larsen e Nyvad (1999), Hughes et al. (2000) e Grenby et al. (2001), também salientaram que a presença de cálcio, fósforo e fosfato em bebidas ácidas diminui o potencial erosivo delas. Por esta razão, recomendaram o acréscimo destes minerais nestas bebidas.

Entretanto, Grenby et al. (2001) salientaram que o leite e seus derivados além de apresentarem o cálcio e fosfato que agem em parte no processo de remineralização, também possuem proteínas, protease-peptídeos, glicoproteínas, proteoglicanos e lactoferrinas que adsorvem ao esmalte dentário sendo capazes de reduzir a extensa desmineralização causada pelas soluções ácidas. E segundo Bibby et al. (1980) analisando, in vitro, a dissolução do esmalte e a acidogênese de alguns subprodutos do leite, como achocolatados, sorvetes e iogurtes, salientaram que os fatores protetores do leite podem ser mais importantes como reguladores do ataque cariogênico do que o pH da placa na superfície dentária e que a ação da caseína é o fator protetor mais importante contra a solubilização do esmalte. Dever; Thomson; Hampton (1987) comparando o efeito de refrigerantes, leite e sucos de fruta sobre o esmalte dentário, observaram que o leite, com ou sem sacarose, provocou as menores modificações na dureza do esmalte, justificando tal achado a baixa cariogenicidade e a ação protetora do leite sobre o tecido mineralizado. Contudo, Araújo et al. (1998) comparando soluções de leite de vaca puro e leite de vaca contendo sacarose sobre espécimes de esmalte, observaram que submetidos à ação do leite puro, não apresentaram mancha branca evidente clinicamente, enquanto que para os submetidos ao leite com sacarose, a perda do brilho e mancha branca foram detectados. Salientando estes fatores de proteção, Bezerra e Toledo (1997) sugeriram que alguns componentes presentes no leite e seus derivados, além do cálcio e fosfato, são inibidores da desmineralização, como a caseína, fosfoproteína que se liga a hidroxiapatita diminuindo sua solubilidade, reduzindo a aderência de bactérias à superfície dental e elevando o pH da placa e as gorduras, que substituem os carboidratos, formando uma barreira de proteção no esmalte, inviabilizando a disponibilidade dos açúcares, além de apresentarem ação antibacteriana. O iogurte estudado apresentou, de acordo com as especificações na embalagem (ANEXO D), cerca de 30% a mais de proteínas que o leite fermentado (ANEXO E), sendo que este não apresentou em sua composição gorduras e o iogurte, 3g de gordura/200g.

Em relação à capacidade tampão, ou acidez titulável, o iogurte e o leite fermentado apresentaram valores muito próximos, de 9,1 a 7,8, respectivamente. A capacidade tampão é a característica de uma substância em manter o seu pH, ou de resistir às mudanças de pH, por esta razão quanto mais alta for a capacidade tampão de uma substância ácida, maior será o tempo em que o pH se manterá ácido. Para Grenby; Mistry; Desai (1990), não houve correlação entre os baixos valores de pH e alta capacidade tampão, já que segundo seu estudo o suco de laranja mesmo diluído continuou mantendo uma alta capacidade tampão. Larsen e Nyvad (1999), no entanto, concluíram que no geral, quanto mais baixo o pH, mais hidróxido de sódio (NaOH) é necessário para levar o pH à neutralidade, denotando uma elevada capacidade tampão e que a capacidade de uma bebida em provocar erosão no esmalte não está na dependência apenas de seu pH, mas também de sua capacidade tampão. Para Grenby; Mistry; Desai (1990) e Duggal et al. (1996), é o mais importante preditor do potencial erosivo de uma substância.

Analisando o tipo de ácido, o iogurte e o leite fermentado apresentaram tanto o ácido láctico, já que são produtos derivados do leite, quanto o cítrico pois o iogurte apresentou acidulante ácido cítrico e o leite fermentado, aroma natural de frutas cítricas. Várias pesquisas têm observado o potencial erosivo de bebidas industrializadas que contêm, principalmente o ácido cítrico (MEURMAN et al., 1990; MAIA; MODESTO, 1996). Segundo Bashir e Langerlöf (1996), o ácido cítrico além de ter um baixo pH, tem afinidade por íons cálcio, ou seja, é uma substância quelante, característica que interfere na concentração destes íons na saliva e consegüentemente numa posterior dissolução do fosfato de cálcio da estrutura dentária. Fuller e Johnson (1977) ainda acrescentam que quando os íons hidrogênio (H⁺) reagem com a estrutura dentária, formam sal de citrato de cálcio solúvel, que segundo Gray (1962) esta reação, representa o início do processo de dissolução do esmalte dentário. Para West; Hughes; Addy (2001), o ácido cítrico causou mais erosão que o ácido fosfórico em pH de valores diferentes utilizados nas soluções. Contudo para Hughes et al. (2000), o ácido láctico foi mais erosivo que o cítrico e o málico, sendo que os dois últimos se mostraram equivalentes em suas propriedades erosivas.

Considerando que os dentes decíduos apresentam uma menor quantidade de esmalte dentário e conteúdo mineral, quando comparado ao permanente (SMITH; SHAW, 1987), quando a dentição decídua é acometida pela erosão, a perda de estrutura dental tende a ser mais significativa e a repercussão da doença em termos de sintomatologia também é maior.

Tendo conhecimento de que o processo erosivo pode ser ocasionado por fatores intrínsecos e extrínsecos e entre este último, está a ingestão de alimentos ácidos, os Cirurgiões Dentistas devem ficar atentos ao diário alimentar das crianças,

principalmente nas refeições intermediárias (lanches), já que há uma variedade de alimentos que são potencialmente erosivos e muito consumidos. Além disso, outro fator muito importante é a maneira como são oferecidas, pois se forem acondicionadas em mamadeiras, há um aumento do potencial e do efeito erosivo, já que a substância ficará por um período de tempo maior em contato com os dentes (MILLWARD et al., 1994; O"SULLIVAN; CURZON, 2000a). Também constatado por West; Hughes; Addy (2000) que observaram que o aumento do tempo de exposição de amostras de esmalte e de dentina a soluções ácidas intensificaram a erosão. Da mesma forma, Grando et al. (1993) observaram que a perda do brilho e a alteração da coloração normal do esmalte, com perdas irregulares do tecido dental em graus variáveis, se agravaram com o aumento do tempo de incubação dos dentes nas referidas bebidas ácidas.

Com isso, em vista do alto consumo de bebidas industrializadas e suas implicações clínicas na dentição decídua, é de grande relevância que se faça um diagnóstico precoce da erosão dental, principalmente a fim de se estabelecer novas condutas para o consumo de bebidas ácidas (MILLWARD et al., 1994; SHAW; O'SULLIVAN, 2000). Shaw e O'Sullivan (2000) sugerem, que se a erosão for causada por alimentos, bebidas ou medicamentos é aconselhável que se faça limitação do uso às refeições principais devido ao aumento do fluxo salivar e da capacidade tampão; redução da freqüência de ingestão; não ingestão antes de dormir ou durante o sono; não escovação dos dentes imediatamente após a ingestão e sim, antes da mesma ou algum tempo após; não manutenção do produto por tempo prolongado na cavidade bucal e uso de chicletes para aumentar o fluxo salivar. Além disso, seria de grande relevância que as bebidas apresentassem em

suas embalagens identificações dos possíveis danos que podem ocorrer à estrutura dentária, assim como orientações sobre o seu consumo.

Levando-se em consideração que os iogurtes e leites fermentados são bebidas que geralmente apresentam pH ácido e cujo consumo tem aumentado nos últimos anos, às vezes, inclusive recomendados como suplemento alimentar, é importante o conhecimento dos hábitos alimentares das crianças porque mesmo apresentando minerais, como o cálcio e o fosfato, podem, associados a sucos ou refrigerantes, provocar perda de estrutura dental.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia e os resultados deste estudo, *in vitro*, pôde-se concluir que as duas bebidas testadas- iogurte e leite fermentado- apresentaram potencial erosivo, sendo que o potencial do leite fermentado foi mais expressivo que o do iogurte, visto que causou uma maior redução percentual na dureza dos espécimes expostos a ele, com valor muito próximo da significância, quando comparado ao grupo controle.

REFERÊNCIAS²

ARAÚJO, F. B. de et al. Estudo *in situ* da cariogenicidade do leite bovino: aspectos clínicos. **Rev. ABO Nac.**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2, p. 103-106, abr./ maio 1998.

BASHIR, E.; LANGERLÖF, F. Effect of citric acid clearence on the saturation with respect to the hydroxyapatite in saliva. **J. Dent. Res.**, Washington, v.30, n.3, p.213-217, May/ June 1996.

BEZERRA, A. C. B.; TOLEDO, O. A. de. Nutrição, dieta e cárie. In: KRIGER, L. (Coord.) **Promoção de saúde bucal**- ABOPREV. São Paulo: Artes Médicas, 1997. p. 50-56.

BIBBY, B. G. et al. Protective effect of milk against in vitro caries. **J. Dent. Res.**, Washington, v.59, n. 10, p. 1565-1570, Oct. 1980.

DEVER, J. G.; THOMPSON, M. E.; HAMPTON, M. Fruit juice and flavoured milk: effects on enamel in an intra-oral model. **N Z Dent. J.**, Dudedin, v.83, n.371, p.7-10, 1987.

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

DUGGAL, M. S. et al. The acidogenic potential of herbal baby drinks. **Br. Dent. J.**, London, v.180, n.3, p.98-103, 1996.

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

FARIAS, M. M. G. et al. Propriedades erosivas de sucos de frutas industrializados recomendados como suplemento alimentar para crianças. **J. Brasil. Odontop. Odontol. Bebê**, Curitiba, v. 3, n.12, p.111-117, 2000.

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

² Baseada na NBR 6023:2002 de ABNT.

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 erosionado pelo suco de laranja e incubado em saliva artificial: estudo in vitro. 1999. 165f. Dissertação (Mestrado em Odontologia- opção Odontopediatria)-Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

GRANDO, L. J. et al. Erosão dental: estudo *in vitro* da erosão causada por refrigerantes e suco de limão no esmalte de dentes decíduos humanos – análises morfológicas. **Rev. Odontopediatr.**, São Paulo, v.4, n.2, p.203-213, 1993.

GRAY, J. Kinetics of the dissolution of human dental enamel in acid. **J. Dent. Res.**, Washington, v.41, n.3. p.633-45, May/June 1962.

GRENBY, T. H. et al. Dental caries-protective agents in milk and milk products: investigations in vitro. **J.Dent.**, Guildford, n. 2, v. 29, p. 83-92, Feb. 2001.

GRENBY, T. H. Lessening dental erosive potential by product modification. **Eur. J. Oral Sci.**, Oxford, v.104, n.2, p.221-228, 1996.

GRENBY, T. H.; MISTRY, M.; DESAI, T. Potential dental effects of infants' fruit drinks studied in vitro. **Br. J. Nutr.**, London, v.64, n.1, p.273-283, 1990.

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.**, Cape Town, v.37, n.10, p.681-684, 1982.

HANNING, M.; BALZ, M. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. **Caries Res.**, Basel, v.33, n.5, p.372-379, 1999.

HAY, D. I. et al. The protective effect of calcium and phosphate ions against acid erosion of dental enamel and dentine. **Br. Dent. J.**, London, v.112, n.3, p.283-287, 1962.

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

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

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, 1998. Abstract n. 125.

LARSEN, M. J.; BRUNN, C. A química da cárie dentaría e o flúor- mecanismos de ação. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia Clínica**. São Paulo: Santos, 1995. p.231-254.

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, 1999.

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.**, Oxford, v.108, n.2, p.110-114, 2000.

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

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. Odont. Univ. São Paulo**, São Paulo, v.10, n.3, p.161-168, 1996.

MARTINS, A. L. C. F. et al. A cárie dentária. In: CORRÊA, M. S. N. P. **Odontopediatria na primeira infância**. São Paulo: Santos, 1998. p. 195-208.

MAUPOME, 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, 1998.

MCDONALD, J. L.; STOOKEY, G. K. Laboratory studies concerning the effect of acid-contaning beverages on enamel dissolution and experimental dental caries. **J. Dent. Res.**, Washington, v.52, n.2, p.211-216, 1973.

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

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

MEURMAN, J. H.; TEN CATE, J. M. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. **Eur. J. Oral Sci.**, Oxford, v.104, n.2, p.199-206, 1996.

MILLWARD, A. et al. Continuos 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.44-9, Jan./Feb. 1997.

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.**, Oxford, v.4, n.3, p.151-157, 1994.

MILLWARD, A.; SHAW, L.; SMITH, A. J. Dental erosion in four-year-old children socioeconomic backgrounds. **A S D C J. Dent. Child.**, Chicago, v.61, n.4, p.263-66, July/ Aug. 1994.

NÄSE, L. et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. **Caries Res**, Basel, v. 35, p. 412-420, 2000.

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

PINDBORG, J. J. Chemical and physical injuries. In:_____. **Pathology of Dental Hard Tissues**. Philadelphia: Saunders, 1970. p.312-325.

RUGG-GUNN, A. J.; ROBERTS, G. J.; WRIGHT, W. G. Effect of human milk on plaque pH in situ and enamel dissolution in vitro compared with bovine milk, lactose, and sucrose. **Caries Res.**, Basel, n. 4, v. 19, p. 327-334, 1985.

RYTOMAA, I. et al. *In vitro* erosion of bovine enamel caused by acidic drinks and other foodstuffs. **Scand. J. Dent. Res.**, Oslo, v.96, n.4, p.324-333, 1988.

SHAW, L.; O'SULLIVAN, E. Diagnosis and prevention of dental erosion in children. **Int. J. Paediat. Dent.**, Oxford, v.10, n.4, p.356-365, 2000.

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

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, 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.**, Oxford, 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.**, Oxford, v.28, n.9, p.860-864, 2001.

ANEXOS

ANEXO A- Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

Anexo B- Ingredientes presentes no iogurte, sabor morango.

- Leite reconstituído
- Açúcar
- Preparado de morango- polpa de morango, açúcar, estabilizante, pectina cítrica, acidulante ácido cítrico, conservador sorbato de potássio
- Aromatizante
- Vitaminas A, C e E
- Corante natural carmin
- Fermentos lácteos

ANEXO C- Ingredientes presentes no leite fermentado.

- Leite reconstituído
- Xarope de açúcar
- Fermento lácteo
- Aroma natural de frutas cítricas
- Vitaminas

ANEXO D- Informação nutricional do iogurte, sabor morango.

Informação		
Porção de 200g	Quantidade por porção	%VD(*)
Valor Calórico	160 kcal	6
Carboidratos	32,0 g	8
Proteínas	4,0 g	8
Gorduras Totais	2,0 g	2
Gorduras Saturadas	1,0 g	4
Colesterol	6,0 mg	2
Fibra Alimentar	0 g	0
Cálcio	180,0 mg	22
Ferro quantio	dade não sign	ificativa
Sódio	100,0 mg	4
title and Division	D (0	2000

ANEXO E- Informação nutricional do leite fermentado.

Informação	CONTRACTOR AND CONTRA	
Porção de 80g Quantidade	g (1 umidade)	OF VIEWS
	- Commercial Explanation Industrial	YO Y LI
Valor Calórico	50 kcal	
Carboidratos	119	STATE OF THE PARTY
Proteínas Tataia	1,/9	3
Gorduras Totais	U	
Gorduras Saturadas	0	
Colesterol	0	
Fibra Alimentar	0	
Cálcio	45 mg	6
Ferro quant	idade não sign	ificativa
Sódio	0	0
Vitamina A	84 mcg	15
Vitamina E	0,84 mg	15
Vitamina B1	0,12 mg	15
Vitamina B6	0.168 mg	15
Vitamina B12	0.168 mcg	
Vitamina H	3,6 mcg	15
Vitamina PP	1,56 mg	15
Acido Folico	12 mcg	15
* Valores Diários de crianças de a	referência p	ara