



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

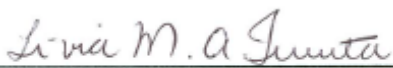


CONCORDÂNCIA DO ORIENTADOR

Declaro que a aluna Eloá Cristina Bícego Pereira, RA 104845, esteve sob minha orientação para a realização do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "pH salivar após o uso de soluções de ácido cítrico com diferentes graus de acidez titulável" no ano de 2013.

Concordo com a submissão do trabalho apresentado à Comissão de Graduação pelo aluno, como requisito para aprovação na disciplina DS833 - Trabalho de Conclusão de Curso.

Piracicaba, 30 de Setembro de 2013.



Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



Eloá Cristina Bícego Pereira

“pH salivar após o uso de soluções de ácido cítrico com diferentes graus de
acidez titulável”

Monografia apresentada ao Curso de Odontologia da
Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP) –
UNICAMP, para obtenção do diploma de Cirurgiã-dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Lívia Maria Andaló Tenuta

Co-orientador: Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

Piracicaba

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARILENE GIRELLO – CRB8/6159 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

P414p Pereira, Eloá Cristina Bícego, 1991-
 pH salivar após o uso de soluções de ácido cítrico
 com diferentes graus de acidez titulável / Eloá Cristina
 Bícego Pereira. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2013.

 Orientador: Lívia Maria Andaló Tenuta.
 Coorientador: Jaime Aparecido Cury.
 Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) –
 Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
 Odontologia de Piracicaba.

 1. Saliva. 2. Dentes - Erosão. 3. Citratos. I.
 Tenuta, Lívia Maria Andaló, 1976- II. Cury, Jaime
 Aparecido, 1947- III. Universidade Estadual de
 Campinas. Faculdade de Odontologia de
 Piracicaba. IV. Título.

Dedico este trabalho aos meus pais,
por serem meu maior exemplo, e meu referencial de honestidade, fé e
determinação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado forças,
e porque me ensinou o valor da vida,
me ajudando tanto em todos os momentos difíceis.

Aos professores e funcionários do departamento,
em especial a minha orientadora Livia,
pela dedicação e paciência, por ter me incentivado a
estudar, compreender e pensar.

Aos meus pais Luis Estevão e Ersone e irmãos Estéfani e Luis Maiolini,
pelo amor incondicional, apoio e compreensão.

A toda minha família:
Vovô Gerson, Vovó Edna, Vovó Silvia, tios, tias e primos,
por estarem sempre ao meu lado.

Aos meus queridos amigos,
pelos momentos de descontração e apoio,
sem os quais não seriam os mesmos.

Ao meu namorado que me deu tanto apoio
em todos os momentos

Aos meus professores do ensino Fundamental e Médio,
por terem contribuído no processo de minha formação.

Ao PIBIC pelo apoio financeiro.

RESUMO

O potencial erosivo de bebidas ácidas parece estar relacionado não apenas ao seu pH, mas também à capacidade de manutenção do baixo pH, conhecida como capacidade tampão ou acidez titulável. No entanto, a neutralização dos ácidos de bebidas com diferentes capacidades tampão na cavidade bucal não tem sido explorada na literatura. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o pH salivar após o uso de soluções de ácido cítrico com diferentes pHs e graus de acidez titulável. O experimento foi do tipo cruzado, duplo cego, *in vivo* e realizado em 6 fases. Inicialmente foi determinado o pH e a acidez titulável das soluções testadas: ácido cítrico nas concentrações de 0, 25 ou 100 mM (inclui as concentrações de ácido cítrico encontradas em sucos de laranja naturais e industrializados), com pH ajustado para 2,5 (pH de refrigerante tipo cola) ou 3,5 (pH de suco de laranja). Após esta etapa, o fluxo salivar e a capacidade tampão da saliva de 10 voluntários adultos foram determinados. Os voluntários mantiveram, em cada fase experimental, uma das soluções na cavidade bucal por 10 s. Após expectorar a bebida para determinação do pH resultante, saliva foi coletada nos tempos 15, 30, 45, 60, 90 e 120 s, sendo o pH determinado utilizando um mini eletrodo. Os resultados obtidos foram analisados por análise de variância fatorial (fatores pH e acidez titulável). Nas soluções expectoradas, o efeito do pH foi significativo, com valores de pH salivar mais baixos nos grupos com pH inicial de 2,5 ($p < 0,05$). Após 15 e 30 s, pH salivar mais baixo foi observado nos grupos que utilizaram a maior concentração de ácido cítrico, e mais alto nos grupos sem esse tampão ($p < 0,05$). A partir de 60 s, não houve diferença entre os grupos ($p > 0,05$), e todas as médias de pH salivar estiveram acima de 6,5. Os resultados sugerem que tanto o pH quanto a acidez titulável são fatores importantes a serem considerados quando estimamos o potencial erosivos de bebidas ácidas.

PALAVRAS-CHAVE: Saliva, erosão dentária, ácido cítrico

ABSTRACT

The erosive potential of acidic beverages seems to be related not only to their pH, but also to their ability to maintain a low pH, which is known as buffering capacity or titratable acidity. However, the capacity of saliva to neutralize acids from beverages with different titratable acidities has not been explored in the literature. The objective of this study was to evaluate the salivary pH after using citric acid solutions with different pHs and titratable acidities. The experiment was crossover, double blind, conducted in vivo and in 6 phases. Initially the pH and titratable acidity of the tested solutions (citric acid at concentrations of 0, 25 or 100 mM (as found in natural and processed orange juices), with pH adjusted to 2.5 (pH of cola drinks) or 3.5 (pH of orange juice). Following this step, the salivary flow and buffering capacity of the saliva of 10 adult volunteers were determined. Volunteers maintained in each experimental phase, one of the solutions in the cavity oral for 10 s. After expectorating the beverage for pH determination, saliva was collected at 15, 30, 45, 60, 90 and 120 s, and the pH was determined using a micro electrode. Results were analyzed by two-way anova (factors pH and titratable acidity). At the expectorated solutions, the effect of pH was significant, with lower salivary pH values in the groups with lower initial pH ($p < 0.05$). After 15 and 30 s, lower salivary pHs were observed in groups using the highest concentration of citric acid ($p < 0.05$). From 60 s, there was no difference between groups ($p > 0.05$), and all salivary pH means were above 6.5. The results suggest that both pH and titratable acidity are important factors to be considered when estimating the erosive potential of acidic beverages.

KEYWORDS: Saliva, dental erosion, citric acid.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	10
3. PROPOSIÇÃO.....	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
5. RESULTADOS.....	20
6. DISCUSSÃO.....	22
7. CONCLUSÃO.....	23
Referências Bibliográficas.....	24

1. INTRODUÇÃO

O consumo freqüente de bebidas ácidas está relacionado com a dissolução química do esmalte, característica da erosão dental (ten Cate e Imfeld, 1996; Lussi et al., 2004). Em contato com a estrutura dental, bebidas com pH abaixo do considerado crítico para dissolução do esmalte (cerca de 5,5), promovem a perda de minerais, que a longo prazo pode acarretar o sinal clínico de erosão dental. No entanto, não apenas o pH das bebidas interfere com esse processo, mas também a capacidade de manutenção do baixo pH, devido a presença de sistemas tampão em sua composição (Larsen e Nyvad, 1999; Lussi et al., 2004).

Essa capacidade, conhecida como acidez titulável, está relacionada com ingredientes presentes naturalmente ou introduzidos artificialmente em bebidas. Por exemplo, o suco de laranja apresenta um pH em torno de 3,5, porém uma alta capacidade tampão nesse pH, oriunda do ácido cítrico presente naturalmente nas laranjas.

A relação entre a capacidade tampão de bebidas ácidas e seu potencial de causar erosão é bem conhecido na literatura (Larsen e Nyvad, 1999; Lussi et al., 2004). Entretanto, a saliva também apresenta sistemas tampão que tentam manter o pH próximo da neutralidade (Edgar et al., 2004). O fluxo salivar também ajuda a eliminar os ácidos, pela lavagem da cavidade bucal. Considerando que não há estudos clínicos avaliando a capacidade de neutralização do pH ácido de soluções com diferentes graus de acidez titulável, porém o mesmo pH, quando em contato com a saliva na cavidade bucal, este estudo foi idealizado.

Assim, o objetivo deste estudo foi determinar o pH da saliva após o uso de soluções de ácido cítrico com diferentes pHs e graus de acidez titulável.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A saliva é o fluido que banha a cavidade bucal e tem importância fundamental em sua saúde. A saliva é produzida principalmente por 3 pares de glândulas salivares maiores: parótida, submandibular e sublingual, e também por glândulas salivares menores. A secreção salivar é controlada tanto por estímulos parassimpáticos como simpáticos. O parassimpático controla a maior parte da saliva secretada, cujo comando vem do tronco encefálico; portanto mesmo sem estímulo externo, saliva será continuamente produzida. Essa saliva é denominada de “não estimulada”. O estímulo externo predominante para o fluxo salivar são odores e gostos, além do estímulo mastigatório. O fluxo salivar não estimulado médio normal varia entre 0,3 e 0,4 mL/min, enquanto que o fluxo salivar estimulado médio normal varia entre 1 e 3 mL/min (Edgar et al, 2004)

A respeito da sua composição, esta também se altera de acordo com a estimulação, em especial o aumento do bicarbonato na saliva estimulada, pois este é um componente fortemente relacionado ao aumento da capacidade salivar em neutralizar e tamponar os ácidos. No fluxo não estimulado, a concentração de bicarbonato varia de 0,1 a 8mmol/L, e no fluxo estimulado, de 4 a 40mmol/L. O sódio, da mesma forma, aumenta com a estimulação salivar; no fluxo não estimulado é de 2 a 26mmol/L e no fluxo estimulado é de 13 a 80mmol/L. Para outros compostos, a quantidade é independente da estimulação do fluxo (Edgar et al., 2004; Hara et al., 2006).

A saliva promove proteção contra a erosão dental por mecanismos diferentes. Um dos mecanismos é o próprio aumento do fluxo salivar, causado pela estimulação induzida pelo sabor dos alimentos e bebidas, que culminará com a diluição dos ácidos intrínsecos presentes na dieta. Outro efeito protetor da saliva é a formação da película adquirida que exerce a função de barreira para a difusão ácida. Esta deriva da parte orgânica da saliva, que contém proteínas ricas em prolina e mucinas. Além disso, a capacidade tampão salivar, promovida por componentes inorgânicos da saliva, como a presença do tampão bicarbonato, especialmente na saliva estimulada, neutraliza e tampona os ácidos provenientes da dieta. (Lussi et al., 2004; Jager, 2011; Buzalaf et al., 2012)

O potencial erosivo de uma comida ou bebida depende de um complexo conjunto de fatores como o tipo e concentração do ácido, tempo na cavidade oral, temperatura, capacidade tampão da saliva, pH e acidez titulável.(Grobler et al., 1985; Meurman & ten Cate., 1996; Edwards et al., 1999; Larsen & Nyvad., 1999; Lussi et al., 2004). A erosão é uma lesão diretamente ligada à individualidade, já que pesquisas comprovam que a composição de saliva de indivíduos com erosão difere de indivíduos sem erosão. (Bashir et al., 1995). Tendo isto em mente, pesquisas foram feitas para analisar correlações entre a presença da lesão erosiva e a composição da saliva. Costuma-se usar nessas pesquisas o ácido cítrico, já que é um ácido muito presente no cotidiano, como em conservantes de alimentos e também em frutas ácidas, e este ácido tem a maior secreção salivar comparado com outros alimentos e bebidas.(Watanabe & Dawes., 1988)

Em 1995, uma pesquisa foi desenvolvida objetivando descobrir o clearance padrão do ácido cítrico em indivíduos normais. A saliva foi coletada em intervalos após o bochecho deste ácido. Doze voluntários bochecharam 95,2mmol/L de soluções contendo ácido cítrico em diferentes pHs(2,1 e 4,5) por 5 segundos seguido de expectoração. Coletas de saliva foram feitas nos tempos 1, 2, 5, 10 e 15 minutos após a expectoração. A concentração salivar de ácido cítrico foi determinada enzimaticamente.O resultado obtido foi o declínio da concentração salivar de ácido cítrico no primeiro minuto: no pH 2.1 o valor médio foi de 87.7mmol/L/min, no pH 4.5 foi de 85.0 mmol/L/min. Os pHs foram significativamente correlacionados($P<0.01$). Após este tempo, as mudanças foram mais vagarosas, já que no primeiro minuto, mais de 90% da concentração do ácido inicial foi eliminado. O clearance foi altamente individual sendo fortemente significativo($P<0,001$), já que após 10 minutos, a concentração de ácido cítrico diferiu entre os 10 indivíduos. Concluindo portanto que o padrão de clearance do ácido cítrico é uma característica individual. (Bashir et al., 1995)

Com o intuito de estudar o fluxo salivar e pH da superfície dental seguido do consumo de bebidas ácidas, Millward et al., em 1997, utilizaram um eletrodo de pH flexível para monitorar continuamente o pH na superfície dental enquanto 10 indivíduos administravam oralmente a solução de ácido cítrico a 1%. Uma diminuição máxima de pH nos valores de 2 a 3 foi observado após 1

minuto, seguido por uma recuperação mais lenta que foi acima de pH 5,5 dentro do período de 2 a 5 minutos. Um aumento acentuado na taxa de fluxo de saliva da parótida foi visto no primeiro minuto, depois de administrar na cavidade bucal, a mesma concentração de ácido cítrico utilizando um copo de vidro, canudo ou alimentador de copo, que voltou aos níveis de repouso a partir de 6 minutos, embora a queda de fluxo foi mais lento com o alimentador de copo. Assim, após a ingestão do ácido, o pH na superfície da cavidade é abaixo do pH crítico para dissolução de esmalte por períodos mais curtos do que foi sugerido anteriormente, que é, provavelmente, um reflexo de neutralização salivar e lavagem.

Em 1999, houve uma pesquisa que comparou o pH e capacidade tampão de várias bebidas com seu efeito erosivo e a solubilidade da apatita. Dezoito refrigerantes, águas minerais e sucos, pH e concentração de cálcio, fosfato e fluoreto foram determinados. A capacidade tampão foi determinada titulando com NaOH. Cinquenta e quatro dentes humanos foram cobertos com esmalte de unha, exceto por uma janela de 3x4 mm, que foi exposta a 1,5 litros da bebida por 7 dias ou 24 horas sob agitação constante. A profundidade da erosão foi feita com secções longitudinais. A profundidade variou de 3 mm erodidos entre a bebida mais ácida e o suco de laranja natural, a apenas levemente afetados pelas águas minerais. O suco de laranja, pH 4.0, suplementado com 40 mmol/L de cálcio e 30 mmol/L de fosfato não causou erosão, já que o cálcio e fosfato saturaram a bebida com a apatita. Concluiu-se que o efeito tampão do suco foi alto. epara todas as bebidas, não houve influência da concentração de fluoreto.(Larsen & Nyvad., 1999)

Já no ano de 2000, foi realizada uma pesquisa com o objetivo de investigar a relação entre erosão dental, pH oral e hábitos de bebidas em um grupo de adolescentes. O pH oral foi medido simultaneamente na superfície de quatro dentes em 21 voluntários de 10-16 anos, 11 com erosão dental e 10 voluntários controle sem erosão dental, usando eletrodos de antimônio. Medidas foram feitas antes, durante e depois de ingerir 330mL de um refrigerante. O padrão do pH oral diferiu dos voluntários com e sem erosão após a ingestão de bebidas ácidas. Isso pode ser relacionado a diferenças nos hábitos de bebidas que alterou o padrão de erosão nesses voluntários, já que a

quantidade, método e velocidade de ingestão foram significativamente diferentes de um grupo para outro.(Bartlett et al., 2000)

No ano de 2002, outra pesquisa investigou, in vitro, o pH e a acidez titulável de várias bebidas diluídas e seus potenciais efeitos erosivos. Diluições predeterminadas de ácido cítrico e ácido hidrocloreídrico, com pHs similares as bebidas, foram utilizados como grupos controles positivos. Todas as bebidas demonstraram uma grande resistência para o aumento do pH, indicando uma alta capacidade tampão intrínseca. O pH mensurado mudou muito pouco quando comparado com os controles, mesmo aqueles extremamente diluídos. Entretanto, a acidez titulável de cada bebida diminuiu proporcionalmente com o aumento da diluição, com isso reduzindo o seu potencial erosivo. Podendo concluir que há relação entre a diluição e a acidez titulável, sendo mais seguro portanto consumir bebidas diluídas.(Cairns et al., 2002).

Em 2003, mais uma pesquisa foi desenvolvida para o fim de comparar mudanças no pH salivar após a ingestão de suco de maçã e suas várias diluições com água mineral em crianças e adultos. 15 crianças e 15 adultos foram voluntários deste estudo. O pH salivar não estimulado foi medido no mesmo horário do dia. O pH foi novamente medido após a ingestão das bebidas, nos tempos 0, 5, 10, 15 e 25 minutos. Também foi mensurado o fluxo salivar e capacidade tampão da saliva estimulada. O resultado desta pesquisa indicou diferença entre o fluxo salivar estimulado de crianças e adultos que foi estatisticamente significativa. Suco de maçã diluído e não diluído causaram redução do pH. No entanto nos primeiros 10 minutos, diferenças no pH salivar apenas diferiu significativamente entre a água mineral e as outras bebidas. No intervalo de pH de 5.8 a 7.0, a água mineral teve uma capacidade tampão pequena, enquanto que o suco de maçã não diluído teve uma alta capacidade tampão. Portanto, concluíram que em consideração a saúde geral e dental, água mineral é a única bebida que pode ser recomendada a crianças.(Azrad et al., 2003).

Já em 2008, pesquisaram à respeito de possíveis diferenças nas reduções de pH salivar, seguido da ingestão de diferentes bebidas. Doze meninos e treze meninas participaram deste estudo. Suco de laranja, chá instantâneo de erva-doce, leite integral e água mineral foram testados. O pH salivar e capacidade tampão das bebidas foram determinados com um

pHmetro portátil. A saliva foi coletada após a ingestão das bebidas, nos tempos 0, 5, 10, 15 e 25 minutos e o pH foi mensurado novamente. Obtiveram como resultados, que a água mineral levou mais tempo para aumentar significativamente o pH salivar ($P < 0.05$). O suco de laranja causou uma redução significativa do pH salivar nos primeiros 10 minutos. Após a ingestão do chá instantâneo ou leite, reduções significativas foram encontradas nos tempos 5 a 10 minutos. Após a ingestão do chá instantâneo, a redução continuou significativa após 15 minutos. No período entre 5 e 10 minutos, a alteração do pH salivar diferiu significativamente apenas do consumo da água mineral e as outras bebidas ($P < 0.01$). Concluindo portanto que em consideração a saúde dental, o consumo regular de suco de laranja e chás instantâneos devem ser desencorajados. (Azrad et al., 2008).

No entanto, também em 2008, uma pesquisa desenvolvida com o objetivo de descobrir se bebidas ácidas aumentam o risco de uma erosão dental in vitro. O pH de 100% dos sucos, refrigerantes regulares e diet, e isotônicos, e acidez titulável foram mensurados imediatamente após serem abertos e após 60 minutos sob agitação. Esmalte e superfícies radiculares foram expostas individualmente as bebidas por 25 horas, após isto, a erosão foi medida. Todas as bebidas são ácidas; a acidez titulável das bebidas energéticas foi maior que de refrigerantes regulares e diet, que foram maiores que 100% dos sucos e isotônicos. Lesões erosivas no esmalte após exposição foram maiores no Gatorade, seguido pelo Red Bull e Coca-Cola, que foi maior que a Coca-Cola Diet e 100% dos sucos de maçã. Já nas lesões radiculares, o maior foi o Gatorade, seguido por Red Bull, Coca-Cola, 100% dos sucos de maçã, e Coca-Cola Diet. Concluindo, portanto o oposto das outras pesquisas da literatura, que lesões erosivas não estão associadas ao pH e acidez titulável, no entanto estas bebidas podem causar erosão dental. (Ehlen et al., 2008).

Em 2013, foi hipotetizado que a saliva de pacientes com erosão exibiam uma eficácia na proteção menor que quando comparada a saliva de pacientes sem erosão, baseado em pesquisas in vitro. Portanto esta pesquisa utilizou blocos de esmalte, para descobrir a influencia da saliva humana no desenvolvimento de erosões artificiais. Dez voluntários sem erosão e dez com erosão doaram saliva. Alíquotas com 50mL de saliva de cada voluntário foi

misturado com drops ou ácido cítrico, respectivamente. Como controle, foi misturado saliva, drops e ácido cítrico com água. Os espécimes de esmalte foram molhados na mistura por 5 minutos e em seguida incubados com saliva pura por 2 minutos. Este ciclo foi repetido tres vezes, após isto, os espécimes foram mantidos em 100mL de saliva por 8 horas. Foi avaliado a microdureza de superfície no início do experimento e após cada ciclo. Durante os experimentos, a microdureza reduziu significativamente em todos os grupo exceto o grupo de saliva pura. As misturas de drops e ácido cítrico, nos voluntários sem erosão, apresentaram uma maior microdureza final quando comparada com a mistura dos componentes erosivos nos voluntários com erosão. Concluindo portanto que componentes salivares em um papel importante no desenvolvimento de erosão dental.(Hellwig et al., 2013).

3. PROPÓSITO

Considerando a ausência de estudos clínicos sobre a neutralização de bebidas ácidas com diferentes pHs e graus de acidez titulável quando em contato com a saliva na cavidade bucal, o presente estudo teve como objetivo determinar o pH da saliva após exposição a soluções com diferentes concentrações de ácido cítrico 0, 25 e 100 mM, com pH 2,5 ou pH 3,5.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Delineamento experimental

O estudo foi *in vivo*, do tipo cruzado, duplo cego, realizado em 6 fases experimentais, do qual participaram 20 voluntários adultos. Esta pesquisa foi conduzida após a aprovação do Comitê de Ética da FOP-UNICAMP (protocolo número 119/2010) e a participação dos voluntários foi feita de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº 196/96), após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os voluntários colocaram na cavidade bucal 15 mL de soluções de ácido cítrico nas seguintes concentrações: 0, 25 e 100 mM, com pH 2,5 ou 3,5 ajustado com HCl ou NaOH. Após 10 s, a solução foi expectorada e o pH da mistura de saliva e solução foi determinado. Em seguida, alíquotas de saliva foram coletadas a cada 15 s até completar 1 minuto, e a cada 30 s até completar 2 minutos, para determinação do pH. Apenas uma das soluções foram testada em cada dia de experimento, no período da tarde, no mesmo horário, para evitar influência de variabilidade no fluxo salivar.

3.2. Determinação da acidez titulável das soluções

A acidez titulável das soluções foi determinada utilizando um peagômetro previamente calibrado com tampões pH 4,0 e 7,0 sobre agitação. Cinquenta mililitros de cada solução foram adicionados em um béquer, sendo acrescentado 1 mL de NaOH 0,1 M para aferição do pH final obtido. Tal procedimento foi repetido até que se atingisse o $\text{pH} \geq 7,0$, observando assim a quantidade de base adicionada a cada uma das concentrações. Devido à ausência de sistema tampão na solução sem ácido cítrico (0 mM), o mesmo procedimento foi realizado, mas o volume de NaOH acrescentado foi de 50 μL .

3.3. Determinação do fluxo salivar e capacidade tampão da salivar estimulada dos voluntários

Determinamos o fluxo salivar da saliva não estimulada e estimulada, durante 5 minutos. Com a diferença de utilizar um pedaço de filme de parafina na saliva estimulada. Durante os 30 segundos iniciais, a saliva estimulada

produzida foi deglutida, sendo coletada nos 5 minutos posteriores, em um copo plástico previamente pesado. O copo contendo a saliva foi novamente pesado, obtendo-se assim, o fluxo salivar (mL/min), considerando 1 mL = 1 g saliva. Como demonstrado na figura abaixo.



Figura 1: Coleta de saliva.

Após esse procedimento, 0,5 mL de saliva estimulada foi adicionado a 1,5 mL de HCl 0,005 M em um tubo plástico, que ficou em repouso durante 5 minutos para a liberação de CO₂ oriundo da reação do tampão bicarbonato da saliva com o ácido. O pH final dessa mistura foi determinado em peagômetro previamente calibrado em pH 4,0 e 7,0, como estimativa da capacidade tampão da saliva.

3.4. Etapa experimental

Saliva não estimulada dos voluntários foi coletada em um tubo de microcentrífuga para determinação do pH inicial, antes do teste das soluções. Quinze mililitros da solução testada foram mantidos na cavidade bucal dos voluntários por 10 segundos, em repouso. Após esse período, a solução foi expectorada e coletada no copo plástico para determinação do pH resultante, utilizando um peagômetro previamente calibrado com tampões pH 4,0 e 7,0. Em seguida, saliva foi coletada após 15, 30, 45, 60, 90 e 120 segundos, para determinação do pH utilizando um mini eletrodo (devido ao volume reduzido de saliva coletado em cada tempo), também previamente calibrado com tampões pH 4,0 e 7,0. Como demonstrado na figura abaixo.

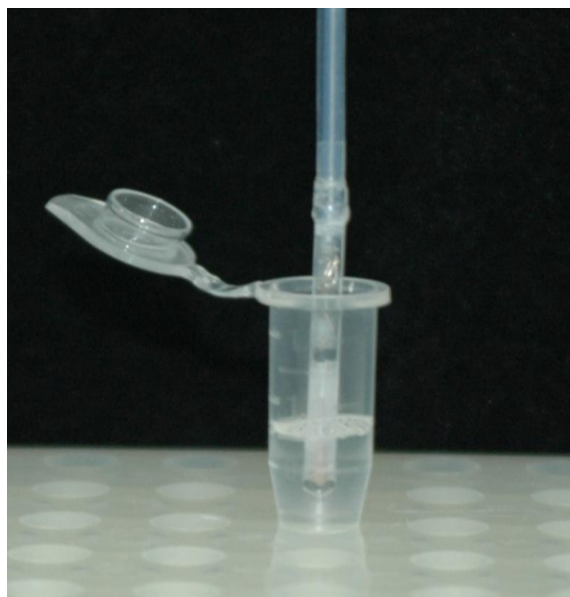


Figura 2: Determinação do pH com mini eletrodo.

Considerando o delineamento cruzado, todos os voluntários participaram do teste com todas as soluções, sendo que em cada fase experimental todas as soluções foram testadas.

5. RESULTADOS

O fluxo salivar não estimulado, estimulado e a capacidade tampão foi medido em todos os voluntários e em cada uma das fases, e não obtivemos grandes variações, como podemos ver no gráfico seguinte.

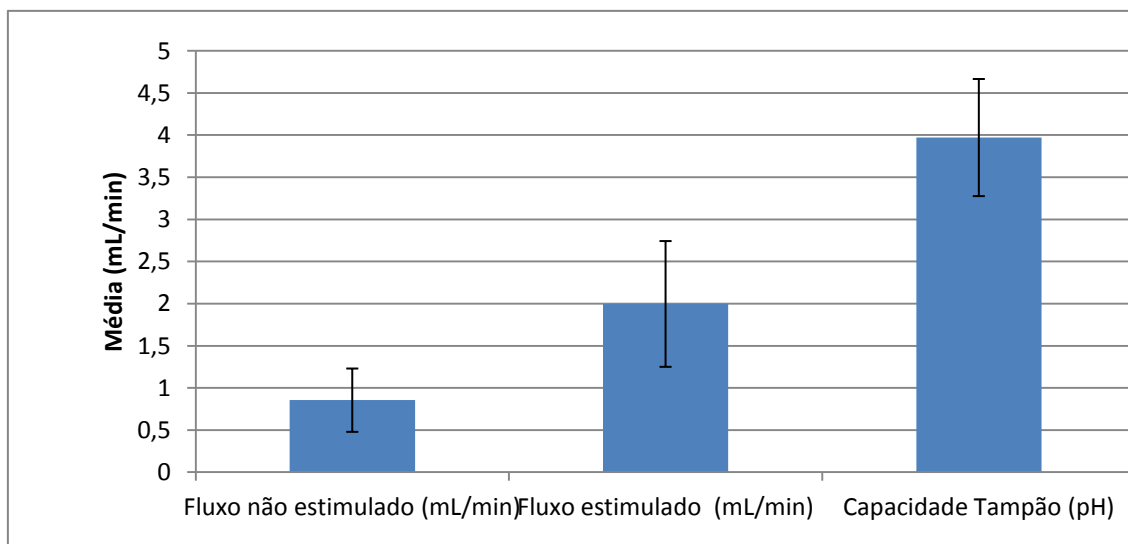


Figura 3: Fluxo salivar não estimulado e estimulado, e capacidade tampão da saliva estimulada dos voluntários (média $\pm$ DP, n=20)

Análise de variância demonstrou que, nas soluções expectoradas, o efeito do pH foi significativo, com valores de pH salivar mais baixos nos grupos com pH inicial de 2,5 ($p < 0.05$). Após 15 e 30 s, pH salivar mais baixo foi observado nos grupos que utilizaram a maior concentração de ácido cítrico, e mais alto nos grupos sem esse tampão ($p < 0.05$). A partir de 60 s, não houve diferença entre os grupos ($p > 0,05$), e todas as médias de pH salivar estiveram acima de 6,5. Como ilustrado na figura seguinte.

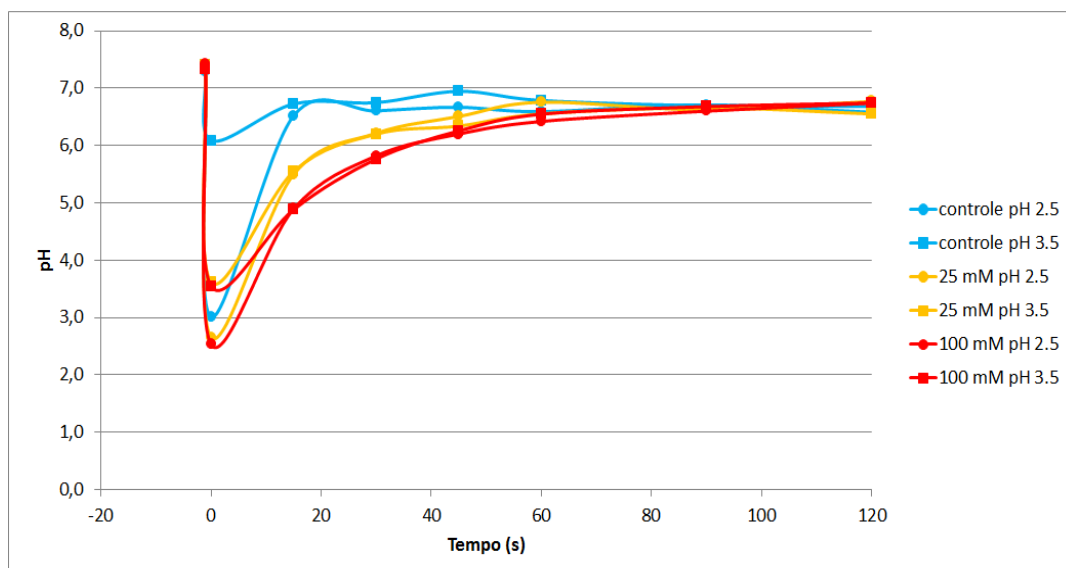


Figura 4: pH salivar no controle e depois da exposição às soluções testadas com os diferentes pHs e acidez titulável (média, n=20)

Os resultados sugerem que tanto o pH (durante a manutenção de bebidas ácidas na boca) quando o grau de acidez titulável (mantendo o pH ácido por mais tempo após sua ingestão) são importantes para seu potencial erosivo.

6. DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, medimos o fluxo salivar estimulado e não estimulado dos voluntários, para que conseguíssemos padronizar os voluntários. A saliva tem a capacidade tampão que neutraliza os ácidos, com o seu principal componente o bicarbonato (ten Cate & Imfeld., 1996). Também na saliva faz o clearance, que seria uma lavagem da cavidade bucal ligada individualmente.

Não apenas o pH das bebidas interfere com o processo de erosão dental, mas também a capacidade de manutenção do baixo pH, devido a presença de sistemas tampão em sua composição (Larsen e Nyvad, 1999; Lussi et al., 2004). Esta capacidade, conhecida como acidez titulável, está relacionada com ingredientes presentes naturalmente ou introduzidos artificialmente em bebidas. Por exemplo, o suco de laranja apresenta um pH em torno de 3,5, porém uma alta capacidade tampão nesse pH, oriunda do ácido cítrico presente naturalmente nas laranjas, por isso utilizamos em nosso objeto de estudo o valor de pH de 3,5 e concentração de ácido cítrico de 25mM, para simular uma ingestão de suco de laranja, o clearance da saliva e retorno do pH para o normal.

A relação entre a capacidade tampão de bebidas ácidas e seu potencial de causar erosão é bem conhecido na literatura (Larsen e Nyvad, 1999; Lussi et al., 2004). Considerando este presente estudo, e analisando a capacidade de neutralização do pH ácido de soluções com diferentes graus de acidez titulável, porém o mesmo pH, quando em contato com a saliva na cavidade bucal, vimos que o pH foi importante nos primeiros segundos, no entanto entre 15 e 30 segundos a capacidade tampão foi mais significativa à respeito da erosão. No entanto após 60 segundos eles se igualaram, indo ao pH basal, concordando também o que já tinha sido estudado por Edgar et al., 2004 que a saliva também apresenta sistemas tampão que tentam manter o pH próximo da neutralidade e que O fluxo salivar também ajuda a eliminar os ácidos, pela lavagem da cavidade bucal.

7. CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que o pH é um fator importante para o efeito erosivo da bebida quando está sendo ingerida, e a capacidade tampão acentua este efeito atrasando o retorno do pH salivar para os níveis basais.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Azrak B, Callaway A, Knozinger S, Willershausen B. Reduction of the pH values of Whole Saliva after the Intake of apple Juice containing Beverages in children and adults. *Oral Health & Prev Dent* 1. 2003, 3: 229-236.
- Azrak B, Willershausen B, Meyer N, Callaway A. Course of changes in salivary pH-values after intake of different beverages in young children. *Oral Health Prev Dent*. 2008, 6(2): 159-64.
- Bartlett DW, Moazzez R, Smith BGN. Oral pH and drinking habit during ingestion of carbonated drink in a group of adolescents with dental erosion. *Journal of Dentistry*. 2000; 28, 395-397.
- Bashir E, Ekberg O, Lagerlöf. Salivary clearance of citric acid after an oral rinse. *Journal of Dentistry*. 1995; 23(4) : 209-212.
- Bashir E, Lagerlöf F. Effect of citric acid clearance on the saturation with respect to hydroxyapatite in saliva. *Caries Res*. 1996; 30: 213-217.
- Buzalaf M, Hannas A, Kato M. Saliva and dental erosion. *J. Appl. Oral Sci*. 2012: 20(5).
- Cairns AM, Watson M, Creanor SL, Foye RH. The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion. *Journal of Dentistry*. 2002; 30(7-8): 313-17.
- Edgar M, Dawes C, O'Mullane D. *Saliva and Oral Health*. 3 ed. Londres, British Dental Association, 2004.
- Edwards M, Creanor SL, Foye RH, Gilmour WH. Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion. *J Oral Rehabil*. 1999; 26: 923-27.
- Ehlen LA, Marshall TA, Qian F, Wefel JS, Warren JJ. Acidic beverages increase the risk of in vitro tooth erosion. *Nutrition Res*. 2008; 28(5): 299-303.
- Grobler SR, Jenkins GN, Kotze D. The effects of the composition and method of drinking of soft drinks on plaque pH. *Br Dent J*. 1985; 158: 293-96.
- Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. *Monogr Oral Sci*. 2006; 20: 88-99.
- Hellwig E, Lussi A, Goetz F. Influence of human saliva on the development of artificial erosions. *Caries Res*. 2013; 47: 553-58.

Jager DH, Vieira AM, Ligtenberg AJ, Bronkhorst E, /Huysmans MC, Vissink A. Effect of salivary factors on the susceptibility of hydroxyapatite to early erosion. *Caries Res.* 2011; 45(6): 532-7.

Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res.* 1999; 33:81-87.

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004; 38(suppl 1): 34-44.

Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci.* 1954; 104: 199-206.

Millward A, Shaw L, Harrington E, Smith AJ. Continuous monitoring of salivary flow rate and pH at the surface of the dentition following consumption of acidic beverages. *Caries Res.* 1997; 31: 44-49.

ten Cate JM, Imfeld. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(2(Pt 2)): 241-4.

Watanabe S, Dawes C. The effects of different foods and concentrations of citric acid on the flow rate of whole saliva in man. *Arch Oral Biol.* 1988; 33(1):1-5.



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"pH salivar após o uso de soluções de ácido cítrico com diferentes graus de acidez titulável"**, protocolo nº 119/2010, dos pesquisadores Livia Maria Andaló Tenuta, Eloá Cristina Bicego Pereira e Jaime Aparecido Cury, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 09/03/2012.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"Saliva pH after use of citric acid solutions with different titratable acidities"**, register number 119/2010, of Livia Maria Andaló Tenuta, Eloá Cristina Bicego Pereira and Jaime Aparecido Cury, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 03/09/2012.

Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta
Secretária
CEP/FOP/UNICAMP

Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

CÓPIA DO PARECER DE APROVAÇÃO DO RELATÓRIO FINAL DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA PELOS ASSESSORES ad hac do CNPq

21/09/12 Bolsas de Iniciação Científica

Sistema Institucional de Bolsas
de Iniciação Científica da UNICAMP
Parecer sobre Relatório Final de Atividades
Quota 01 de agosto de 2011 a 31 de julho de 2012

Bolsista: ELOÁ CRISTINA BÍCEGO PEREIRA - RA: 104845

Orientador: LIVIA MARIA ANDALO TENUTA - Matrícula: 292534

Título do Projeto:

pH salivar após o uso de soluções de ácido cítrico com diferentes graus de acidez titulável

Parecer do Assessor sobre o Relatório Final:

A bolsista teve melhorado seu desempenho acadêmico de acordo com o visualizado no CR. O relatório está muito bem confeccionado com tabelas e gráficos. Destaca-se que a aluna fez apresentação de parte dessa pesquisa em congresso Internacional (IADR) e apresenta outro resumo a ser submetido ao Congresso da IADR que acontecerá em Seattle, USA em março 2013. Creio que a bolsista sente-se motivada e adquiriu senso crítico, pois apresentar trabalho em evento internacional é sempre um desafio. Parabenizo a bolsista e orientadora pelo feito.

Conclusão do Parecer do Assessor sobre o Relatório Final:

Aprovar (SIM)

Reformular (NÃO)

Rejeitar (NÃO)