



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO PARÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO PROFISSIONAL EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

NAAMA WALÉRIA ALVES SOUSA

**INFLUÊNCIA DO TUCUPI NA RUGOSIDADE SUPERFICIAL,  
MICRODUREZA, ULTRAMORFOLOGIA E VARIAÇÃO DE  
MASSA DO ESMALTE DENTAL**

BELÉM – PARÁ  
2019

NAAMA WALÉRIA ALVES SOUSA

**INFLUÊNCIA DO TUCUPI NA RUGOSIDADE SUPERFICIAL,  
MICRODUREZA, ULTRAMORFOLOGIA E VARIAÇÃO DE  
MASSA DO ESMALTE DENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa  
de Mestrado Profissional em Clínica  
Odontológica como requisito para a  
obtenção do título de mestra.

Orientador: Prof. Dr. Sandro  
Cordeiro Loretto.

BELÉM – PARÁ  
2019

CENTRO UNIVERSITÁRIO DO PARÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO PROFISSIONAL EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

**Naama Waléria Alves Sousa**

TRABALHO DE CONCLUSÃO INFLUÊNCIA DO TUCUPI NA  
RUGOSIDADE SUPERFICIAL, MICRODUREZA,  
ULTRAMORFOLOGIA E VARIAÇÃO DE MASSA DO ESMALTE  
DENTAL

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Conceito: \_\_\_\_\_

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Sandro Cordeiro Loretto  
Centro Universitário do Pará/ CESUPA – Orientador

---

Profª. Dra. Renata Antunes Esteves  
Centro Universitário do Pará/ CESUPA – Examinadora interna

---

Prof. Dr. Mário Honorato Silva e Souza Jr  
Universidade Federal do Pará/ UFPA – Examinador externo

---

## RESUMO

O estudo avaliou a influência do tucupi na rugosidade superficial, microdureza, ultramorfologia e variação de massa do esmalte dental. Foram utilizados 90 dentes incisivos bovinos hígidos da espécie *Bos taurus indicus*. Após confeccionados os corpos de prova (CPs), estes foram divididos nos seguintes grupos: G1 - tucupi, G2 - refrigerante a base de cola, G3 - água destilada, todos avaliados nos tempos T0 (antes de qualquer intervenção), T10 (10 dias após os tratamentos propostos), T20 (20 dias após os tratamentos propostos) e T30 (após 30 dias dos tratamentos propostos). Para avaliação das propriedades do esmalte tratado, foram realizadas análises de microdureza, rugosidade superficial, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e variação de massa, nos 4 tempos supracitados. Após a confirmação da normalidade dos dados (Teste de Shapiro-Wilk) das análises de microdureza, rugosidade e variação de massa, foi realizada uma Análise de Variância a 2 fatores para medidas repetidas ( $\alpha=5\%$ ), seguido de pós teste de Sidak, com resultados descritos em média e desvio-padrão. As médias de rugosidade aumentaram para todos os grupos testados, sem diferença estatística somente no G3 para todos os tempos avaliados. Em relação a microdureza, todos os grupos tiveram perda com a menor média observada no G1 em T30. Na avaliação da variação de massa do esmalte, a menor média foi em G2 no tempo T30, só não havendo diferença estatística entre T10 e T20 para ao grupo em questão. Em relação à MEV, todos os grupos tratados em meios ácidos (G1 e G2) demonstraram desorganização da camada superficial de esmalte. Foi possível concluir que o tucupi possui baixo pH e alta acidez total titulável, sendo capaz de diminuir de forma gradativa a microdureza do esmalte, aumentando a rugosidade superficial e causando perda de esmalte dental.

**Palavras chave:** *manihot esculenta*; erosão; esmalte dental; dureza; acidez; propriedades de superfície.

## ABSTRACT

The study evaluated the influence of tucupi on surface roughness, microhardness, ultra morphology and variation of dental enamel. Ninety healthy bovine incisor teeth of the species *Bos taurus indicus* were used. After the specimens were made, they were divided into the following groups: G1- tucupi, G2- cola-based refrigerant, G3-distilled water, all evaluated at times T0 (before any intervention), T10 (10 days after the proposed treatments), T20 (20 days after the proposed treatments) and T30 (after 30 days of the proposed treatments). In order to evaluate the properties of the treated enamel, microhardness, surface roughness, scanning electron microscopy (SEM) and mass variation analyzes were performed at the 4 times mentioned above. After confirming the normality of the data (Shapiro-Wilk test) of microhardness, roughness and mass variation analyzes, a 2-factor analysis of variance for repeated measures ( $\alpha = 5\%$ ) was performed, followed by Sidak post-test. , with results described as mean and standard deviation. The roughness means increased for all groups tested, with no statistical difference only in G3 for all evaluated times. Regarding microhardness, all groups had loss with the lowest average observed in G1 in T30. In the evaluation of enamel mass variation, the lowest average was in G2 at time T3, with no statistical difference between T10 and T20 for the group in question. Regarding MEV, all groups treated with acid media G1 and G2 showed disorganization of the enamel surface layer. It was concluded that tucupi has low pH and high titratable total acidity, being able to gradually decrease enamel microhardness, increasing surface roughness and causing loss of dental enamel.

**Keywords:** *manihot esculenta; erosion; dental enamel; hardness; acidity; surface properties.*

## LISTA DE SIGLAS

CPs	Corpos de prova
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
PET	Poli tereftalato de etila
HA	Hidroxiapatita
HCN	Ácido cianídrico
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
NaOH	Hidróxido de sódio
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
SOCIPE	Cooperativa da Indústria Agropecuária do Pará
pH	Potencial hidrogeniônico
KHN	Knoop Hardness Number (Knoop)
ANOVA	Análise de variância
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Descrição da confecção dos corpos de prova para cada teste.

**Figura 2.** Descrição dos grupos experimentais para quanto à intervenção realizada.

**Figura 3.** Descrição da análise de microdureza.

**Figura 4.** Variação média do pH no decorrer do tempo.

**Figura 5.** Variação média da acidez no decorrer do tempo.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Descrição dos materiais utilizados no experimento, contendo seus nomes comerciais, fabricantes e composição (segundo os respectivos fabricantes).

**Tabela 2.** Médias (desvio padrão) da rugosidade superficial de acordo com os tempos de exposição para os grupos testados.

**Tabela 3.** Médias (desvio padrão) da microdureza de acordo com os tempos de exposição para os grupos testados.

**Tabela 4.** Médias (desvio padrão) da variação de massa de acordo com os tempos de exposição para os grupos testados.

## SUMÁRIO

### LISTA DE SIGLAS

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE TABELA

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>15</b>
2.1. Biocorrosão (erosão) dental	15
2.2. Biocorrosão dental vs. consumo de bebidas ácidas	16
2.3. Tucupi	16
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>22</b>
4.1. Caracterização da acidez do tucupi	22
4.1.1. Determinação do pH	22
4.1.2. Determinação da acidez total titulável	22
4.2. Obtenção, caracterização da amostra e aspectos éticos	23
4.3. Obtenção dos fragmentos dentais	23
4.4. Confecção dos corpos-de-prova para análise de microdureza e rugosidade superficial	24
4.5. Confecção dos corpos-de-prova para análise da variação de massa e da ultramorfologia em microscopia eletrônica de varredura (MEV)	24
4.6. Divisão dos grupos	25
4.7. Exposição às soluções testadas	27
4.8. Avaliação de microdureza	28
4.9. Avaliação de rugosidade	29
4.10. Mensuração da variação de massa	29
4.11. Análise da ultramorfologia em microscopia eletrônica de	

varredura (MEV)	30
4.12 Análise estatística	30
<b>5. RESULTADOS</b>	32
<b>6. DISCUSSÃO</b>	37
<b>7. CONCLUSÃO</b>	40
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	41
<b>ANEXO</b>	

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho primeiramente à Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, a minha vó Fátima Costa (in memorian), a minha bisavó Expedita, a minha mãe Waléria Alves, ao meu tio Jefferson Goldenberg, meu irmão Erlon e meu namorado André que me incentivaram sempre na busca do conhecimento e crescimento profissional e pessoal. E a todas as pessoas que convivi: aos meus amigos, aos mestres que não mediram esforços em compartilhar conhecimentos ao longo desses anos.*

*Naama Waléria Alves Sousa*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por tudo que me tem oferecido e por ter me dado condições de chegar até aqui.

À minha família e amigos, pela paciência, incentivo, compreensão e apoio oferecido.

À minha mãe, que nunca mediu esforços para que eu realizasse meus sonhos, pela compreensão nos momentos de ausência quando precisei para realizar esse estudo, pelo incansável apoio oferecido ao longo da minha vida e durante meus estudos.

Ao meu namorado André que esteve comigo me ajudando, dando força, orientando, ensinando, fazendo análises, tendo paciência em todos os momentos e fases vividas durante essa trajetória.

Ao Professor Renan Chisté e alunos do laboratório da Engenharia de Alimentos, pela experiência oferecida, dedicação, disponibilidade e ajuda.

Ao Prof.a Dr. Sandro Cordeiro Loretto, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela ajuda na elaboração das ideias e estratégias para a coleta dos dados desta pesquisa, pela confiança durante o curso e colaboração na revisão deste trabalho.

A minha amiga Mara Ribeiro, que desde o início esteve presente não medindo esforços para me ajudar, acompanhar, ensinar e aprender junto.

A minha turma de mestrado do MPCO, que sempre estiveram juntos me apoiando.

## 1. INTRODUÇÃO

O termo biocorrosão (erosão), segundo Grippo e colaboradores (2012), caracteriza a desmineralização dos tecidos duros dentais por um fenômeno de dissolução, que ocorre por meio de produtos químicos exógenos e/ou endógenos de natureza ácida, sem incluir ácidos da natureza bacteriana. Além disso, outros fatores biológicos e/ou comportamentais são determinantes multifatoriais para o desenvolvimento do desgaste dental biocorrosivo (LUSSI, 2006). Quando a dissolução do esmalte camada a camada ocorre até a exposição da dentina subjacente, a perda não é mais reversível (LUSSI et al., 2011), visto que a erosão inicial começa com um amolecimento de superfície em estágio inicial, mas a exposição prolongada aos ácidos pode dissolver a camada externa do esmalte e promover a perda permanente da estrutura (ADDY e SHELLIS, 2006, CHENG et al., 2009, YOUNG e TENUTA, 2011).

É considerável o crescimento da prevalência de biocorrosão dentária (KREULEN et al., 2010), e esta parece estar fortemente relacionada com o grande consumo mundial de alimentos e bebidas ácidas, especialmente bebidas carbonatadas e não-carbonatadas (GONÇALVES et al., 2012). É necessário, no entanto, identificar se possíveis constituintes alimentares regionalmente consumidos em grande escala podem explicar a ocorrência do desgaste dentário biocorrosivo (erosivo) em determinados grupos de pacientes, visto não se encontrarem dados suficientes na literatura sobre a biocorrosão dental nessas populações.

No norte e nordeste do Brasil se destaca o expressivo consumo da mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) (IBGE, 2009). Estima-se que a quantidade de mandioca produzida no Brasil em 2009 foi de 24,4 milhões de toneladas, sendo o Pará o

principal estado produtor (IBGE, 2009). A mandioca ocupa lugar de destaque na dieta da população, sendo consumida, principalmente, na forma de farinha, mas também sendo utilizada como matéria-prima para a elaboração de diversos pratos típicos (CHISTÉ, COHEN e OLIVEIRA, 2007).

Durante o processo de fabricação da farinha, as raízes de mandioca são trituradas e prensadas para a remoção do seu líquido. A massa prensada segue para a torração e o resíduo líquido, denominado de manipueira, é descartado ou transformado no tucupi. Após a etapa de decantação e remoção do amido, é realizada uma fervura adicionando-se condimentos, obtendo-se assim o tucupi, o qual é acondicionado em garrafas plásticas do tipo PET (CHISTÉ e COHEN, 2011).

Informações na literatura científica com relação ao tucupi ainda são escassas, embora o consumo desta iguaria possa trazer consequências às estruturas dentárias, já que se trata de um alimento com pH abaixo do crítico (5.5) para ocorrência da desmineralização do esmalte dental. Apenas o estudo de Martins *e* colaboradores (2016) verificou a influência do tucupi sobre a microdureza esmalte dental, observando que este, assim como um refrigerante à base de cola, reduziu significativamente a microdureza do esmalte.

Sendo assim, o objetivo deste estudo é caracterizar a acidez de uma marca comercial de tucupi e avaliar sua influência na rugosidade superficial, microdureza, ultramorfologia e variação de massa do esmalte dental.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – Biocorrosão (erosão) dental

O esmalte é o tecido mais mineralizado do corpo humano, constituído por 96%-98% de conteúdo mineral e de 2%-4% de matéria orgânica e água (TEN CATE, 1994). O seu conteúdo mineral é composto por cristais de hidroxiapatita inorgânica (HA), de fórmula química:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , incorporados numa matriz proteica orgânica. Este mineral está presente no esmalte na sua forma não pura ( $\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x(\text{PO}_4)_6-y(\text{CO}_3)_z(\text{OH})_{2-u}\text{Fu}$ ), também designada por HA carbonatada, o qual é deficiente em cálcio. Assim, a ocorrência de substituições iónicas na matriz de HA é um processo regular: alguns ions de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) podem ser substituídos por outros ions, como o de sódio ( $\text{Na}^+$ ), magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ), estrôncio ( $\text{Sr}^{2+}$ ), entre outros, sendo estes denominados elementos traço da composição elementar do esmalte. O grupo hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) pode ser substituído por flúor (fluorapatita, FAP) e o grupo fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) pelo grupo carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ). Todas as substituições que ocorrem na rede cristalográfica mineral do esmalte, especialmente a substituição do grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  pelo grupo  $\text{CO}_3^{2-}$ , alteram a sua estrutura tornando-o mais solúvel que a HA pura, quando exposto a substâncias ácidas. Por sua vez, a HA pura é muito mais solúvel que a FAP, de fórmula química:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$  (FEATHERSTONE E LUSSI, 2006).

Quanto ao seu conteúdo orgânico, o esmalte é composto por diversas proteínas e lipídios. As proteínas estão presentes principalmente como uma cobertura muito fina dos cristais de HA e compreendem aproximadamente metade do material orgânico, sendo a outra metade lipídica. Embora reduzido, o teor em água presente no esmalte é suficiente para promover a difusão de ácidos e outros componentes para o interior do dente, assim como a libertação dos ions cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para fora da rede cristalina, durante o processo de erosão dentária (FEATHERSTONE E LUSSI, 2006)..

Não apresentando células no seu arranjo estrutural, ao contrário do restante dos tecidos conjuntivos mineralizados do organismo, o esmalte não apresenta capacidade de regeneração. As únicas alterações que se podem observar na estrutura cristalina ocorrem a nível superficial pelo fato da superfície do esmalte se encontrar em contato com a saliva, um fluído supersaturado em fosfato de cálcio

(AMERONGEN E VEERMAN, 2002). Desta forma, as modificações que ocorrem a nível da superfície do esmalte tornar-se-ão irreversíveis caso a capacidade remineralizante da saliva não supere o dano provocado ao esmalte dentário (GODINHO, 2013).

A literatura atual relacionada à Odontologia declara que “erosão” é a perda de esmalte e dentina causada pela ação de ácidos não relacionados à ação bacteriana. No entanto, esta definição de “erosão” não reconhece a proteólise e os efeitos piezoelétricos que também estão envolvidos na bioquímica e na degradação eletroquímica da estrutura dentária. Erosão, na verdade é um fenômeno físico, a qual causa desgaste por fricção a partir do movimento de líquidos (GRIPPO et al., 2012; SOARES E GRIPPO, 2017).

Em Odontologia, corrosão seria definida como a perda de estrutura dentária por meio de ácidos químicos exógenos e bioquímicos endógenos, por enzimas proteolíticas bioquímicas, e pelos efeitos piezoelétricos que atuam sobre a matriz orgânica da dentina, composta principalmente de colágeno (SOARES et al., 2018).

A partir desse momento, o termo que será utilizado nesse trabalho é o de biocorrosão.

## **2.2 – Biocorrosão dental vs. consumo de bebidas ácidas**

A prevalência da biocorrosão dental aumentou nos últimos anos, e parece estar associada a mudanças no estilo de vida e do padrão de dieta, relacionada diretamente ao aumento do consumo de bebidas e sucos de frutas de natureza ácida (FRANKLIN et al., 2014). Existem publicações *in vitro* e *in situ* evidenciando que vinho e refrigerantes possuem potencial para causar biocorrosão dentária (JÄRVINEN et al., 1991), e o risco é maior quando essas bebidas são consumidas com frequência de duas ou mais vezes por semana ou diariamente (Johansson et al., 2002).

O refrigerante é uma bebida muito popular mundialmente (WANG et al., 2014), e a literatura é vasta em afirmar o poder erosivo desta. O potencial corrosivo dos refrigerantes pode ser previsto baseando-se no tipo do ácido presente, valor do pH, acidez total titulável e concentração de íons (WANG et al., 2014). Um refrigerante à base de cola foi utilizado neste estudo como controle positivo, pois é bem descrito na literatura o principal ácido presente (ácido fosfórico) em sua composição, apresentando-se como uma bebida de baixo pH ( $\pm 2,5$ ) e acidez total titulável em torno 0,25% (TENUTA et al., 2015). Nesse sentido, a literatura afirma,

que a atuação do ácido fosfórico na superfície do esmalte causa uma zona desmineralizada que pode ser perdida permanentemente (CARSTENSEN et al., 1992) demonstrando danos severos em longo prazo ao esmalte dental.

### **2.3 - Tucupi**

O alto consumo, ou incomum, de alimentos picantes, molhos picantes, iogurte, vinho e frutas cítricas também foram relatados como possíveis de danificar as superfícies dos dentes (CHAUDHRY et al., 1997 E SOARES et al., 2018). Quando observamos a alimentação das populações amazônicas identificamos o tucupi (produto final do líquido gerado durante a produção da farinha de mandioca) como produto de alto risco a integridade dos tecidos duros dentais, pois ele apresenta baixo pH e alta acidez titulável (CHISTÉ et al., 2007; CAMPOS et al., 2017; BRITO et al., 2019).

A atuação dessa iguaria sobre os tecidos duros dentais ainda não é bem elucidada na literatura científica, havendo até o momento um estudo (MARTINS et al., 2016) nesse sentido, o qual avaliou os efeitos do seu consumo sobre a dureza do esmalte dental, concluindo que o tucupi foi tão biocorrosivo quanto um refrigerante à base cola.

O tucupi deriva da mandioca (*Manihot esculenta Crantz*), e esta por sua vez é a quinta colheita mais importante no mundo, com uma produção de cerca de 285 milhões de toneladas de raízes por ano (FAOSTAT, 2017). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), a produção de mandioca brasileira em 2017 foi de 21 milhões de toneladas, principalmente da região norte, onde é amplamente utilizado na dieta, principalmente como farinha de mandioca. Ainda, a mandioca é a terceira mais importante fonte de calorias na África, Ásia e América Latina (após arroz e milho), e caracteriza-se como uma cultura de segurança alimentar nessas regiões, onde a maioria dos cultivos é frequentemente realizada por pequenos agricultores em terras marginais (CASSAVA, 2008). A mandioca também é usada na produção de vários pratos típicos no Brasil e no mundo (BRITO et al., 2019).

Tucupi é um subproduto obtido a partir do processamento da farinha de mandioca. A primeira etapa do processo para a obtenção do tucupi se inicia ao descascar as mandiocas previamente colhidas. Na segunda etapa do processo, as mandiocas já descascadas são transferidas um recipiente retangular onde serão moídas, e obtém-se então a massa da mandioca. A etapa seguinte é constituída da transferência desta massa para uma prensa (um aparato em formato de cubo, revestido

com uma tela fina de náilon). Nesse momento a massa é prensada por aproximadamente 12 horas e o líquido obtido através desse processo é denominado manipueira, um resíduo líquido que é rico em açúcares, amidos, proteínas, linamarina, sais e outras substâncias (DUARTE et al, 2013). Uma das substâncias que estão presentes em índices elevados na manipueira é o HCN (ácido cianídrico) que é extremamente nocivo à saúde humana, e portanto, deve passar por outros processos fundamentais para a diminuição gradativa dessa toxicidade.

A fermentação da manipueira é essencial para reduzir os níveis de ácido cianídrico, de forma que ela possa resultar em um produto apropriado para o consumo. O fator determinante nesse processo de redução dos níveis de ácido é que a fermentação diminui gradativamente o processo de hidrólise do cianeto livre, diminuindo assim sua toxicidade de forma natural. O processo de fermentação ocorre em aproximadamente 72 horas em temperatura ambiente. Durante esse repouso, ocorre a decantação do amido que também estava presente no líquido, popularmente conhecido e comercializado como goma.

Nesse momento, um composto chamado linamarina, que é responsável pela liberação do HCN, é hidrolisada pela enzima linamarase, e aos poucos tem sua atividade reduzida devido ao meio fortemente ácido promovido pela fermentação. Vale ressaltar que o glicosídeo em si não é tóxico, e sim o ácido cianídrico que é gerado a partir dessa hidrólise enzimática. Tendo em vista que esses compostos glicosídeos fazem parte do sistema de defesa das plantas que os contém, funcionando como metabólitos secundários destas, e têm como característica específica certa facilidade de sofrer reações de hidrólise. Essa reação de hidrólise nos glicosídeos cianogênicos produz glicose e alfa-hidroxinitrilas, que por sua vez, ao ser catalisada por uma hidroxinitrilaliase, transforma-se em ácido cianídrico e nas cetonas correspondentes”. (AMORIM, 2005). Essas reações serão as responsáveis pela liberação de açúcares e cianidrina, que poderão ou não ter suas atividades tóxicas inibidas, dependendo da ocorrência ou não do processo de fermentação. Concluída essa etapa, ainda resta uma quantidade relevante de HCN no produto, que é então drasticamente reduzida pela desativação da linamarase (CHISTÉ e COHEN, 2011). Quando o produto - o tucupi - é então submetido ao processo de cocção por cerca de uma hora e meia, e só então é embalado e comercializado.

Para a comercialização do tucupi, este precisa seguir a Instrução Normativa nº 001/2008 da ADEPARÁ (Agência de Defesa Agropecuária do Pará), a qual define o

tucupi como um produto e/ou subproduto obtido da raiz de mandioca (*Manihot esculenta*) e suas variedades, por meio de processo tecnológico adequado, apresentando características físico-químicas variando de 2,5 g a 6,5 g/100g para sólidos totais, 3,5 a 4,3 para o pH, e 0,1 g a 0,8 g de ácido láctico/100mL de acidez titulável total (AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DO PARÁ, 2008).

Em relação ao seu gosto azedo, este é atribuído à presença de ácidos orgânicos formados durante a fermentação láctica. A fermentação é uma prática comum para a mandioca, inclusive na África (WESTBY, 2002). É uma maneira de produzir um produto seguro que tenha uma longa vida útil, bem como atender às preferências do consumidor (gosto azedo). A fermentação baixa o pH de meio, inibindo assim o crescimento da maioria dos patógenos bacterianos. Durante fermentação, os açúcares são convertidos em ácidos orgânicos tais como láctico, acético, propiônico e ácidos pirúvicos (OWUAMANAM et al., 2010).

Cientificamente, observa-se uma escassez de estudos sobre o tucupi, onde as principais informações disponíveis estão relacionadas com alterações de pH, acidez total, sólidos solúveis, qualidade e ácido cianídrico total e livre (HCN) (CAMPOS, CARMO, CARVALHO E MATTIETTO, 2016; CAMPOS, CARMO, CARVALHO E MATTIETTO, 2017; CHISTÉ ET AL., 2007; CHISTÉ & COHEN, 2011). Se faz necessário mais estudos sobre sua composição, em especial o sobre os seus ácidos presentes e como eles podem agir sobre a estrutura dental.

### **3. OBJETIVOS:**

#### *Objetivo geral*

Caracterizar a acidez de uma marca comercial de tucupi e avaliar sua influência na rugosidade superficial, microdureza, ultramorfologia e variação de massa do esmalte dental.

#### *Objetivos específicos:*

- a) Determinar a acidez do tucupi através das análises de pH e acidez total titulável.
  
- b) Mensurar a rugosidade superficial, microdureza , ultramorfologia e a variação de massa do esmalte dental, exposto ao tucupi, refrigerante a base de cola e água destilada, nos tempos:
  - T0 (baseline) – antes da exposição a qualquer das soluções testadas;
  - T10 – após 10 dias de imersão nas soluções testadas;
  - T20 – após 20 dias de imersão nas soluções testadas;
  - T30 – após 30 dias de imersão nas soluções testadas;
  
- c) Analisar qualitativamente, através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), a ultramorfologia superficial do esmalte bovino exposto ao tucupi, refrigerante a base de cola e água destilada, nos tempos:
  - T0 (baseline) – antes da exposição a qualquer das soluções testadas;
  - T10 – após 10 dias de imersão nas soluções testados;

- T20 – após 20 dias de imersão nas soluções testados;
- T30 – após 30 dias de imersão nas soluções testados;

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 – CARACTERIZAÇÃO DA ACIDEZ DO TUCUPI

Para a caracterização da acidez do tucupi utilizado no presente estudo (Vovó da Floresta, Agroindústria São Francisco do Itá Ltda, Santa Isabel, Pará, Brasil) foram realizadas mensurações de pH e acidez total titulável, conforme descritas abaixo.

#### 4.1.1 - DETERMINAÇÃO DO pH

Foram procedidas 11 avaliações de pH, realizadas de 3 em 3 dias. Todas as avaliações foram feitas em triplicata e o valor era determinado através de leitura direta em potenciômetro (Tecnal, TEC-51, China) devidamente calibrado com as soluções tampões pH 7,0 e 4,0 a 20 °C, segundo o método nº 981.12 da AOAC (Association of Analytical Chemists, 1997). Foram utilizados 20 ml de tucupi (Vovó da Floresta) em temperatura ambiente, inserido no frasco de Erlenmeyer, seguido do registro do pH em cada análise, totalizando 33 dias de análise de pH.

#### 4.1.2 - DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL

A acidez total titulável foi determinada através da titulação da amostra com NaOH 0,1 N, sendo o pH da solução monitorado por potenciômetro, segundo o método nº 942.15 da AOAC. O resultado final foi expresso em g/100 mL.

Para a determinação da acidez total titulável foi utilizado 50 ml de tucupi (Vovó da Floresta), os quais foram submetidos inicialmente a um processo de fervura. Após esta etapa, e com o tucupi já em temperatura ambiente, realizou-se o processo de triplicata, onde foi pipetado 5 ml do tucupi, diluído com 50 ml de água destilada em frasco de Erlenmeyer, e adicionadas 3 gotas de fenolftaleína em cada frasco. Após essa etapa, a bureta foi então carregada com a solução NaOH 0,1M para iniciar a titulação das amostras até atingir a coloração rosa claro (por pelo menos 30 segundos), e feita a anotação do volume gasto de NaOH.

Após os procedimentos de titulação, foram tabulados os dados mensurados e aplicados na fórmula  $\frac{V_{NaOH} \times M_{NaOH} \times MM_{ácido} \times FC}{V_{amostra} \times 1000} \times 1000$ , e assim obtidos os resultados em g/100ml por cada titulação realizada.

#### *4.2 - OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA E ASPECTOS ÉTICOS*

Esta pesquisa teve início após aprovação junto a Comissão de Ética no Uso Animais (CEUA) da Universidade Federal do Pará (processo nº 552912091800) (ANEXO 1). Foram utilizados 90 dentes incisivos bovinos hígidos da espécie *Bos taurus indicus* (com idade média de 24 meses) obtidos de animais abatidos na Cooperativa da Indústria Agropecuária do Pará (SOCIPE - Belém, Pará, Brasil). Foram incluídos na pesquisa os dentes bovinos que se apresentavam irrompidos na cavidade oral, com coroa hígida e formação completa da raiz.

Os dentes foram inicialmente imersos, por uma semana, em solução de timol 0,1% (A Fórmula, Belém, PA, Brasil) para desinfecção, seguido de remoção do tecido periodontal aderido e profilaxia com pasta de pedra-pomes. Em seguida, os dentes foram analisados em lupa estereoscópica (40x) para avaliação do esmalte vestibular da porção média coronal, sendo descartados os dentes que apresentassem trincas na superfície do esmalte. Após, foram armazenados em água destilada (4°C) renovada semanalmente.

#### *4.3 – OBTENÇÃO DOS FRAGMENTOS DENTAIS*

As coroas dentais passaram por duas secções transversais. O primeiro corte foi feito a uma distância de 15mm, mensurado com paquímetro digital (DIN 862; Mitutoyo, São Paulo, SP, Brasil), da junção amelocementária e paralela à borda incisal. O segundo corte foi realizado a 5mm da junção amelocementária, obtendo-se, desse modo, amostras da porção média da coroa dental com uma altura de 10 mm.

#### *4.4 - CONFECÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA PARA AS ANÁLISES DE MICRODUREZA E RUGOSIDADE SUPERFICIAL*

Para os ensaios de microdureza e rugosidade superficial, cada fragmento dental teve sua face vestibular inserida em cera nº 7, e estes foram incluídos em resina acrílica ativada quimicamente (JET, Clássico, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil), utilizando matrizes de tubo em acrílico transparente com altura 1 cm. Após 24 horas,

foi realizada a planificação da superfície vestibular dos espécimes, utilizando-se lixas de carbo de silício de granulação decrescente, sendo: #320 por 15 segundos, #600 por 30 segundos, #1200 por 60 segundos e #2000 por 90 segundos (MARTINS et al., 2016), em politriz horizontal (Aropol-E – Arotec, Cotia, SP, Brasil), sob refrigeração constante, realizando lavagem em banheira ultrassônica (TD30 Plus, Bio-Art, São Carlos, SP, Brasil) com água destilada por 3 minutos a cada troca de lixa, e a cada 10 corpos de prova as lixas foram substituídas. Este procedimento foi realizado para se obter corpos-de-prova com uma superfície vestibular regular, plana e de aspecto vítreo. Após, foi feita a verificação de uma possível exposição acidental do tecido dentinário, realizada através de lupa estereoscópica (40X), sendo descartados os dentes que apresentaram trincas na superfície do esmalte, seguido de lavagem em banheira ultrassônica (TD30 Plus, Bio-Art, São Carlos, SP, Brasil) com água destilada por 20 minutos.

#### *4.5 - CONFECÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA PARA ANÁLISE DA VARIAÇÃO DE MASSA E DA ULTRAMORFOLOGIA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)*

Para a mensuração da variação de massa e a análise da ultramorfologia em MEV, a porção média da coroa recebeu, além do descrito anteriormente (item 4.3), uma secção longitudinal no sentido mésio-distal, a fim de separar as porções vestibular e lingual da coroa dental. As porções linguais foram desprezadas, e a camada de dentina vestibular foi removida com o auxílio de pontas diamantadas tronco-cônicas nº 4138 (KG Sorensen - Cotia, SP, Brasil) em alta rotação e sob refrigeração constante, sendo substituídas a cada 10 corpos de prova, restando apenas o esmalte dental vestibular (RIBEIRO et al, 2019). Por fim, todos os espécimes foram levados a cuba ultrassônica com água destilada durante 20 minutos. Cada espécime de esmalte foi colocado, individualmente, em frascos enumerados.

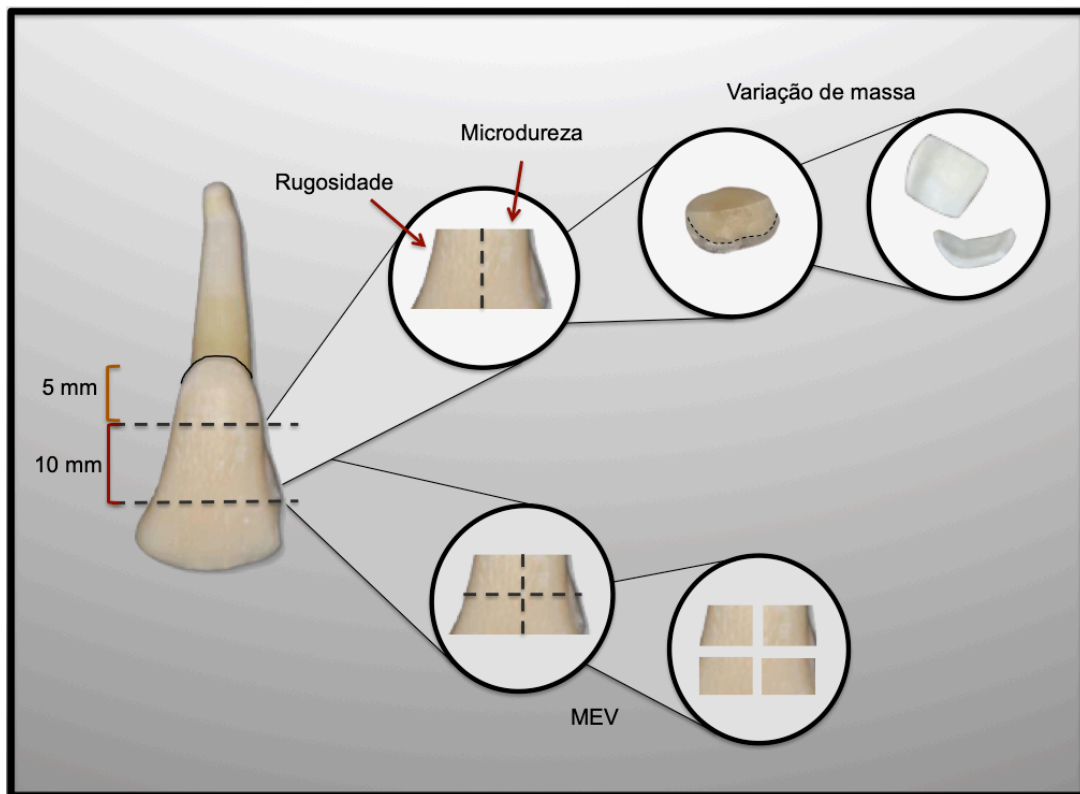


Figura 1. Descrição da confecção dos corpos de prova para cada teste.

#### 4.6 - DIVISÃO DOS GRUPOS

O total de espécimes (90) foi dividido aleatoriamente em 3 grupos (n=30), de acordo com as soluções aos quais foram expostos: Tucupi, Refrigerante a base de cola e água destilada (Figura 1).

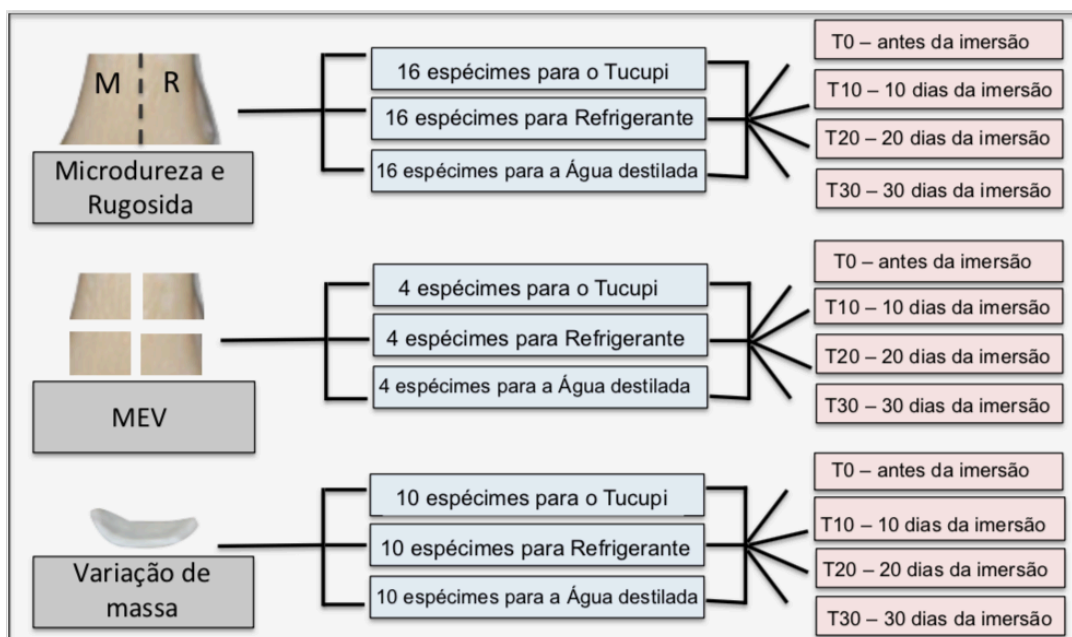


Figura 2. Descrição dos grupos experimentais para quanto à intervenção realizada.

Tabela 1. Descrição dos materiais utilizados no experimento, contendo seus nomes comerciais, fabricantes e composição (segundo os respectivos fabricantes).

Nome	Fabricante	Classificação	Composição
Saliva Artificial	A fórmula - Farmácia de Manipulação, Belém, PA, Brasil.		Bicarbonato de sódio 2190mg, fosfato de potássio 1270mg, cloreto de magnésio 125mg, cloreto de cálcio 441mg, cloreto de potássio 820mg, fluoreto de sódio 4,5mg, nipazol 100mg, sorbitol 24mg, carboximetilcelulose 8mg, água destilada 3000ml.
Tucupi vovó da floresta	Agroindustria são francisco do itá ltda. Rodovia pa 140, km 15. Santa Isabel. do Pará – Pa.	100% natural	Seiva de mandioca amarela, água, cipó d’alho, chicória, sal e alfavaca.

Refrigerante a base de cola	The Coca-cola Company	Concentrado de Xarope.	Água gaseificada, açúcar, extrato de noz de cola, cafeína, corante caramelo IV, acidulante ácido fosfórico, aroma natural.
Água destilada	ASFER Indústria Química Ltda		Água quimicamente pura isenta de sais solúveis.

#### 4.7 - EXPOSIÇÃO ÀS SOLUÇÕES TESTADAS

Após 24 horas da confecção dos corpos de prova, estes foram mergulhados em cerca de 30 ml de refrigerante a base de cola (controle positivo), 30 ml de tucupi e 30 ml de água destilada (controle negativo) à temperatura ambiente em frascos tipo Becker estéril e o pH foi obtido através de um phmetro com eletrodo de vidro e mostrador digital antes das imersões. Os ciclos de imersão ocorreram sob leve agitação manual por 20 minutos, de modo que as soluções não decantassem, este processo foi realizado por 30 dias. Após cada ciclo de imersão, os espécimes foram lavados com água destilada por 1 minuto em seringa tríplice a uma distância aproximada de 5 cm, foram secos com papel absorvente, imersos em 15 ml de saliva artificial e mantidos em estufa a 37°C, durante 24 horas até o próximo ciclo de imersões. Foi realizada troca diária da saliva artificial em todos os grupos. As bebidas (tucupi, refrigerante a base de cola e água destilada) ficaram em temperatura ambiente. Descrição dos materiais na **tabela 1**.

#### *4.8 - AVALIAÇÃO DE MICRODUREZA*

Para a avaliação da microdureza Knoop (KHN) foi utilizado um microdurômetro FM 700 (FutureTech, Kanagawa, Japão). A superfície do espécime foi dividida em 2 metades iguais, sendo uma utilizada para a avaliação da microdureza, e a outra metade destinada para as leituras de rugosidade superficial. A metade do espécime destinada as leituras da microdureza foi subdividida em três partes iguais, sendo uma para cada tempo de leitura. Foi aplicada uma carga de 50 gramas durante 5 segundos (MARTINS et al., 2016), nos tempos zero (sem exposição às soluções testadas), ao final do 10º dia do ciclo de imersão (T10), ao final do 20º dia do ciclo de imersão (T20) e ao final do 30º dia do ciclo de imersão (T30). Foram realizadas 3 endentações com uma distância de 100µm entre elas, as quais ficaram dispostas uma ao lado da outra a partir do centro do espécime. Em seguida, foi obtida uma média de dureza Knoop para cada amostra a partir da aplicação dos valores obtidos com as endentações.

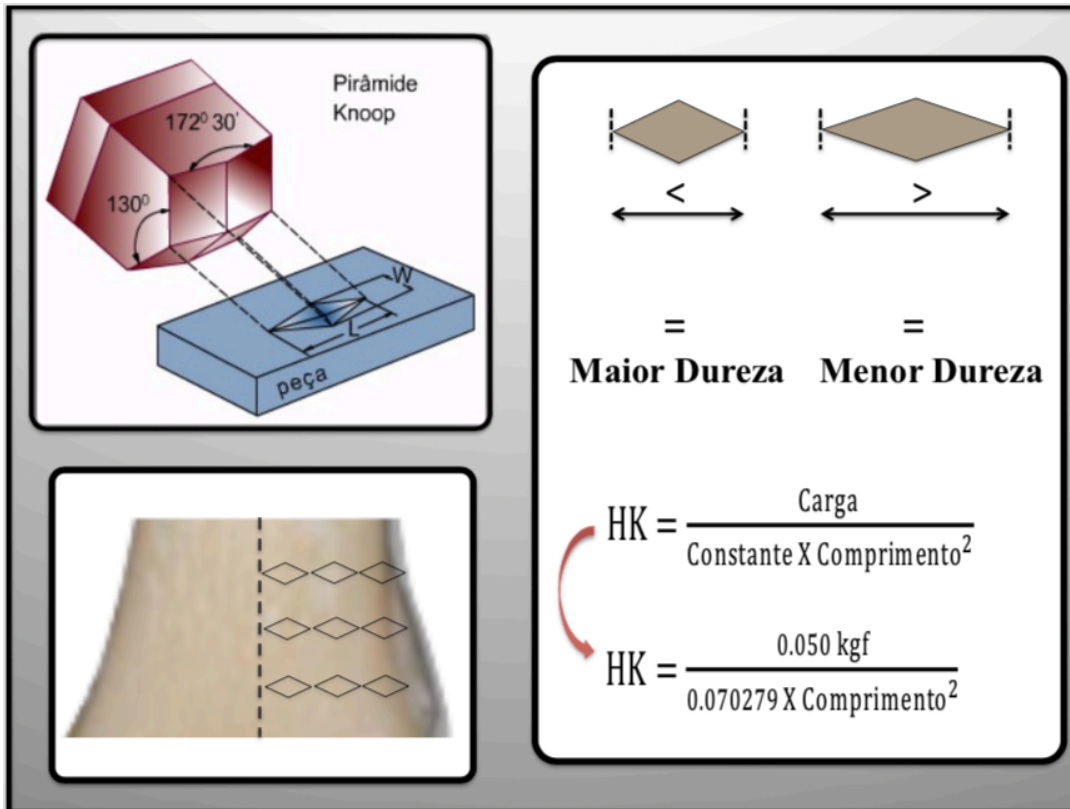


Figura 3. Descrição da análise de microdureza.

#### 4.9 - AVALIAÇÃO DE RUGOSIDADE SUPERFICIAL

A avaliação da rugosidade superficial (Ra) foi realizada por um rugosímetro (SJ-301; Mitutoyo, Los Angeles, CA, Estados Unidos da América). O parâmetro adotado para a consecução da rugosidade superficial foi a rugosidade aritmética (Ra) determinada pela média de 3 leituras, com um limite de tracejamento (Lt) de 5mm e com comprimento de amostragem ou *cut-off* (La) de 0,25mm. As leituras foram realizadas nos tempos zero (sem exposição às soluções testadas), ao final do 10º dia do ciclo de imersão (T10), ao final do 20º dia do ciclo de imersão (T20) e ao final do 30º dia do ciclo de imersão (T30).

#### 4.10 - MENSURAÇÃO DA VARIAÇÃO DE MASSA

Para as pesagens dos espécimes, estes foram primeiramente secos com secador Philco Titanium Travel (Philco - Joinville, SC, Brasil) por dois minutos, tempo

necessário para que não houvesse mais mudança no peso dos espécimes. A verificação da massa dos corpos de prova foi realizada por pesagem antes das intervenções (T0) e ao final do 10º dia do ciclo de imersão (T10), do 20º dia do ciclo de imersão (T20) e do 30º dia do ciclo de imersão (T30) em uma balança analítica eletrônica (Quimis-AS 210, Diadema-SP-Brasil), com precisão de 0,0001, que fornece os valores em gramas (ZIMMER et al., 2015; RIBEIRO et al., 2019). Os espécimes a cada ciclo de imersão foram alocados em seus respectivos recipientes, com o meio de armazenamento renovado (saliva artificial), sendo mantidos em estufa biológica (37°C) por 24h até o próximo ciclo de imersões.

#### *4.11 - ANÁLISE DA ULTRAMORFOLOGIA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)*

Os corpos de prova foram secos previamente em sílica por 24 horas, para então receberem a aplicação da cobertura metálica em metalizadora Denton, modelo DESK II (DentonVaccum – Tóquio, Japão), a fim de permitir a visualização em microscópio eletrônico JSM – 6360 (Tóquio, Japão), em aumento de até 1500 vezes. Para a análise foi utilizado- 1 corpo de prova para cada tempo, no qual foi avaliado: antes das imersões (T0), final do 10º dia do ciclo de imersão (T10), final do 20º dia do ciclo de imersão (T20) e do 30º dia do ciclo de imersão (T30).

#### *4.12 - ANÁLISE ESTATÍSTICA*

Os cálculos estatísticos foram realizados com o programa SPSS versão 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, EUA). Os resultados obtidos nas análises de microdureza, rugosidade superficial e variação de massa, após verificação da normalidade (Teste de Shapiro-Wilk), foram submetidos a ANOVA de duas vias para amostras repetidas, seguido de pós teste de Sidak, com resultados descritos em média e desvio-padrão. O

nível  $\alpha$  de significância de 5% ( $p \leq 0.05$ ) foi adotado para todas as análises empreendidas.

## 5. RESULTADOS

A **tabela 2** mostra os resultados da microdureza dos corpos de prova imersos nos meios líquidos em comparação nos diferentes tempos avaliados. Para o tucupi, a menor média da microdureza foi observada no T30 (109.67 KHN), onde a comparação entre os tempos T0 (sem tratamento) e T10 (10 dias) foi a única que não houve diferença estatística ( $p = 0,06$ ). No grupo do refrigerante a base de cola, a menor média foi no T2 (107.53 KHN), havendo diferença estatística entre T0 (sem tratamento) e T20 (20 dias) ( $p = 0,03$ ). Para o grupo da água destilada só houve diferença estatística entre T0 (sem tratamento) e T10 (10 dias) ( $p = 0,04$ ), com a menor média presenciada em T10 (10 dias) (242.47 KHN).

**Tabela 2.** Médias (desvio padrão) da microdureza de acordo com os tempos de exposição para os grupos testados.

Tratamento x Tempo	T0	T10	T20	T30
<b>Tucupi</b>	283.39 ( $\pm 78.17$ ) <sub>a</sub>	213.08 ( $\pm 53.69$ ) <sub>a</sub>	152.88 ( $\pm 70.22$ ) <sub>b</sub>	109.67 ( $\pm 36.44$ ) <sub>c</sub>
<b>Refrigerante a base de cola</b>	208.16 ( $\pm 106.81$ ) <sub>a</sub>	155 ( $\pm 41.18$ ) <sub>ab</sub>	117.53 ( $\pm 36.28$ ) <sub>b</sub>	124.94 ( $\pm 48.20$ ) <sub>ab</sub>
<b>Água</b>	308.14 ( $\pm 73.66$ ) <sub>a</sub>	242.37 ( $\pm 35.57$ ) <sub>b</sub>	258.17 ( $\pm 61.31$ ) <sub>ab</sub>	261.01 ( $\pm 38.88$ ) <sub>ab</sub>

Letras diferentes indicam diferença estatística intragrupos ( $p \geq 0,05$ ) (na mesma linha).

A **tabela 3** mostra os resultados de rugosidade superficial ( $R_a$ ) dos corpos de prova imersos nos meios líquidos nos diferentes tempos avaliados. Para o tucupi, a maior média da rugosidade foi observada no T30 (30 dias) (0.1625  $R_a$ ), havendo diferença estatística somente entre os tempos T0 (sem tratamento) e T30 (30 dias) ( $p = 0,02$ ). Em relação ao grupo do refrigerante a base de cola, a maior média para a rugosidade foi observada em T30 (30 dias) ( $R_a=0.2862$ ), havendo diferença estatística somente nas comparações entre T0 (sem tratamento) e T30 (30 dias) ( $p = 0,008$ ), e para os tempos T10 (10 dias) e T30 (30 dias) ( $p = 0,01$ ). Para o grupo da água destilada não houve diferença estatística entre todos os tempos avaliados ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 3.** Médias (desvio padrão) da rugosidade superficial de acordo com os tempos de exposição para os grupos testados.

Tratamento x Tempo	T0	T10	T20	T30
--------------------	----	-----	-----	-----

<b>Tucupi</b>	0.0994 ( $\pm 0.05$ ) <sub>a</sub>	0.1565 ( $\pm 0.08$ ) <sub>ab</sub>	0.1299 ( $\pm 0.05$ ) <sub>ab</sub>	0.1625 ( $\pm 0.04$ ) <sub>b</sub>
<b>Refrigerante a base de cola</b>	0.1959 ( $\pm 0.09$ ) <sub>a</sub>	0.2335 ( $\pm 0.06$ ) <sub>a</sub>	0.2545 ( $\pm 0.03$ ) <sub>ab</sub>	0.2862 ( $\pm 0.04$ ) <sub>b</sub>
<b>Água Destilada</b>	0.1933 ( $\pm 0.07$ ) <sub>a</sub>	0.2016 ( $\pm 0.03$ ) <sub>a</sub>	0.2107 ( $\pm 0.03$ ) <sub>a</sub>	0.2124 ( $\pm 0.02$ ) <sub>a</sub>

Letras diferentes indicam diferença estatística intragrupos ( $p \geq 0,05$ ) (na mesma linha).

A **tabela 4** mostra os resultados da variação de massa dos corpos de prova imersos nos meios líquidos nos diferentes tempos avaliados. Para o grupo do tucupi (G1), a média de variação de massa no tempo T0 (sem tratamento) apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) em relação aos demais tempos. As comparações entre os tempos T10 (10 dias) e T20 (20 dias) ( $p = 0,40$ ), e T10 (10 dias) e T30 (30 dias) ( $p = 0,09$ ) não demonstraram diferenças significativas. Para G2 (refrigerante a base de cola) houve diferença estatística entre todos os tempos comparados com exceção entre T10 (10 dias) com T20 (20 dias) ( $p = 0,23$ ) sendo a maior média observada em T0 (sem tratamento) (0.3524g) e a menor média observada em T30 (30 dias) (0.3449g). No G3 (água destilada) não houve diferença estatística entre as médias testadas ( $p > 0.05$ ).

**Tabela 4.** Médias (desvio padrão) da variação de massa de acordo com os tempos de exposição para os grupos testados.

<b>Tratamento X Tempo</b>	<b>T0</b>	<b>T10</b>	<b>T20</b>	<b>T30</b>
<b>Tucupi</b>	0.3931 ( $\pm 0.039$ ) <sub>a</sub>	0.3897 ( $\pm 0.038$ ) <sub>bcd</sub>	0.3856 ( $\pm 0.038$ ) <sub>c</sub>	0.3832 ( $\pm 0.038$ ) <sub>d</sub>
<b>Refrigerante a base de cola</b>	0.3524 ( $\pm 0.072$ ) <sub>a</sub>	0.3493 ( $\pm 0.072$ ) <sub>bc</sub>	0.3479 ( $\pm 0.071$ ) <sub>c</sub>	0.3449 ( $\pm 0.071$ ) <sub>d</sub>
<b>Água</b>	0.4010 ( $\pm 0.043$ ) <sub>a</sub>	0.3938 ( $\pm 0.040$ ) <sub>a</sub>	0.3978 ( $\pm 0.042$ ) <sub>a</sub>	0.3971 ( $\pm 0.041$ ) <sub>a</sub>

Letras diferentes indicam diferença estatística intragrupos ( $p \geq 0,05$ ) (na mesma linha).

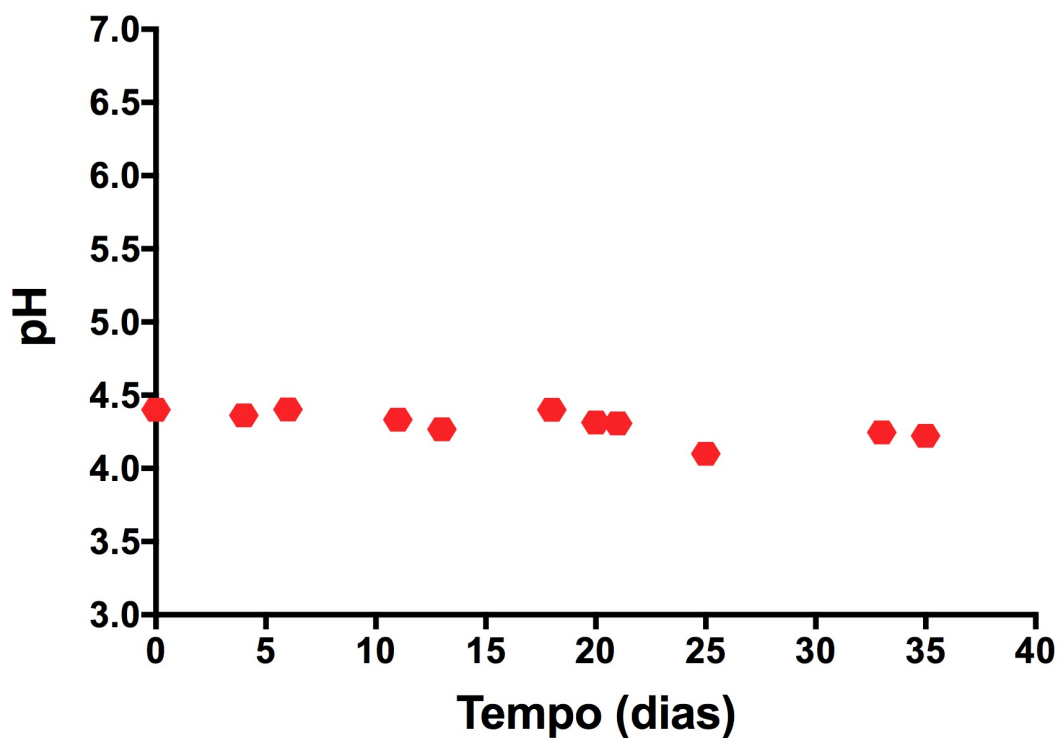


Figura 4. Variação média do pH no decorrer do tempo

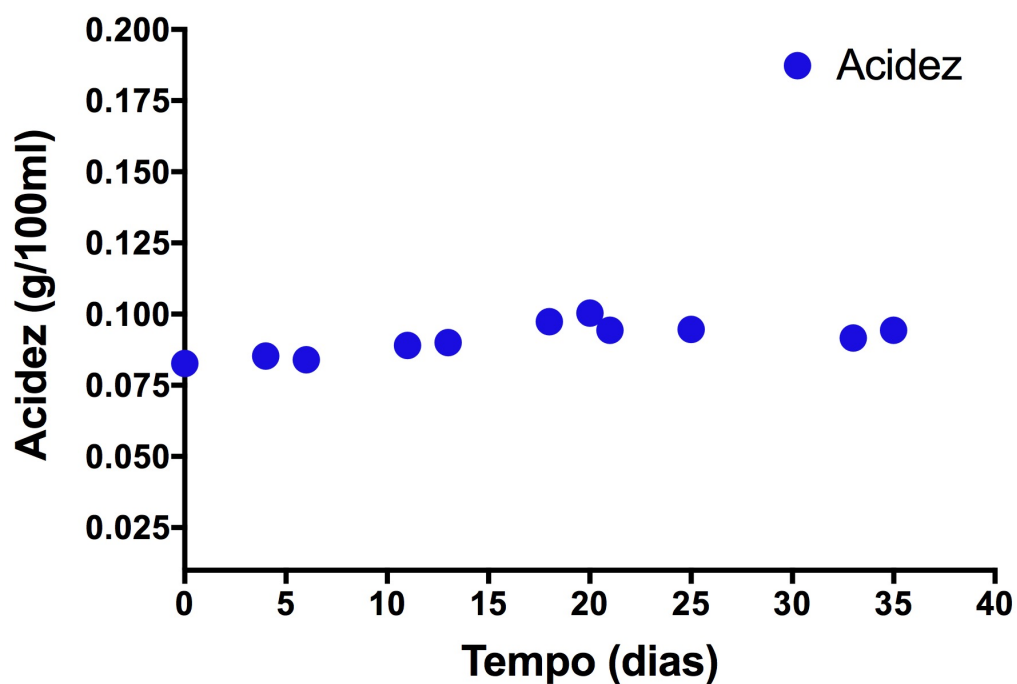
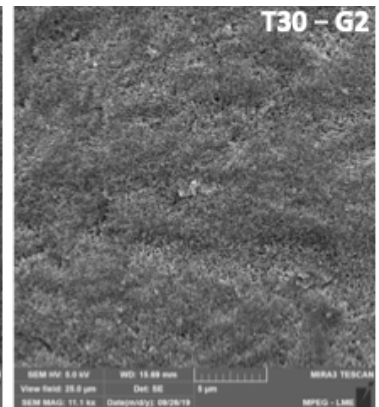
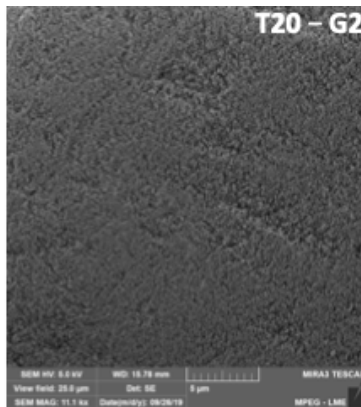
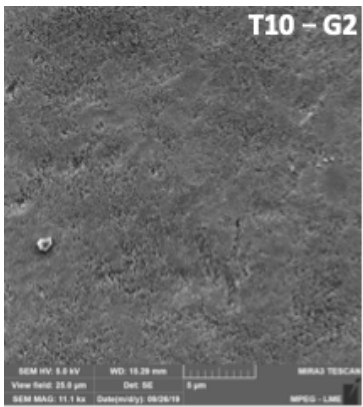
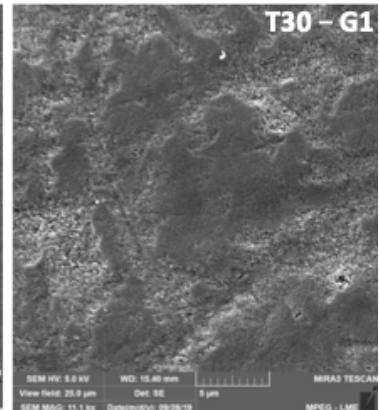
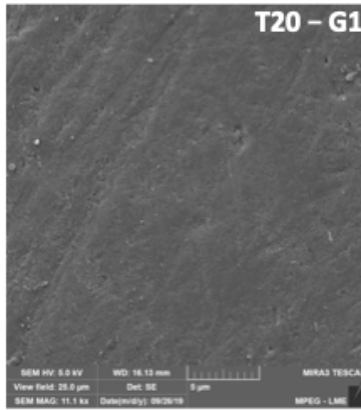
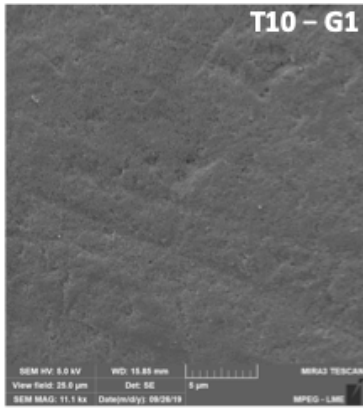
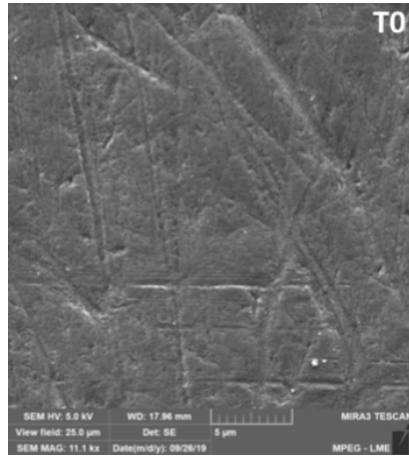


Figura 5. Variação média da acidez no decorrer do tempo

Na **figura 4** observamos a mudança de pH ao longo do tempo, onde a média das 11 leituras foi de 4.3. Na **figura 5** observamos os valores de acidez total titulável, sendo a média de 0,090 (g/100mL).



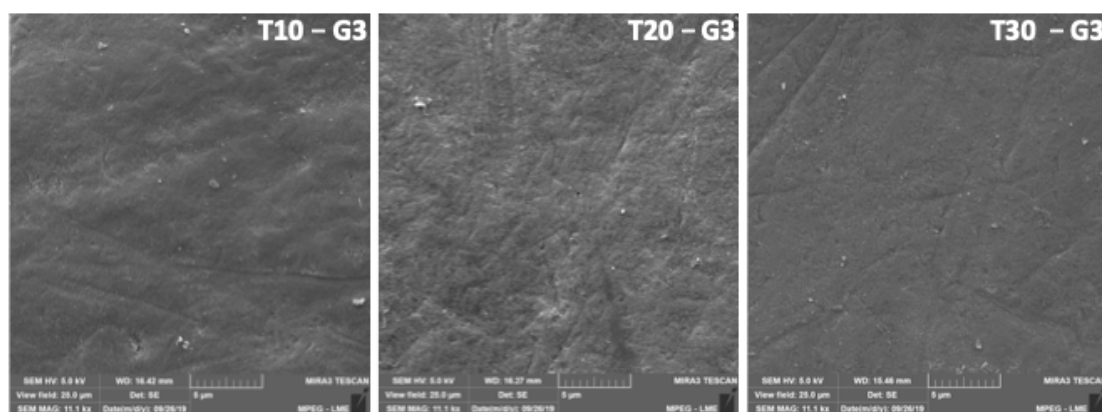


Figura 6. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) representativas da ação dos seguintes tratamentos ao longo do tempo no esmalte dental: T0 sem tratamento, T10-G1 Tucupi por 10 dias, T20-G1 Tucupi por 20 dias, T30-G1 tucupi por 30 dias, T10-G2 Refrigerante a base de cola por 10 dias, T20-G2 Refrigerante a base de cola por 20 dias, T30-G2 Refrigerante a base de cola por 30 dias, T10-G3 Água destilada por 10 dias, T20-G3 Água destilada por 20 dias e T30-G3 Água destilada por 30 dias.

Na **figura 6** estão as fotomicrografias com magnificação de 11.000x, onde a figura em T0 (sem tratamento) é caracterização do esmalte dental sem exposição a nenhum dos tipos de tratamentos propostos nos grupos. No sentido horizontal, podemos observar os grupos avaliados nos diferentes tempos. Em G1 (Tucupi) as maiores mudanças visíveis ocorreram em T30 (30 dias), onde se observa a exposição de camada subjacente a aprismática. Em G2 (Refrigerante a base de cola) observamos uma superfície porosa desde T10 (10 dias) e essa característica vai se acentuando ao longo do tempo. Em G3 (Água destilada), observamos original do início ao fim do tempo, observando apenas as ranhuras causadas pelo polimento dos corpos de prova.

## 6. DISCUSSÃO

Os achados do presente estudo mostraram que as bebidas tucupi e refrigerante a base de cola influenciaram de forma semelhante a rugosidade superficial do esmalte, enquanto que para a microdureza o tucupi se mostrou mais deletério ao esmalte quando comparado ao primeiro. No entanto, o refrigerante a base de cola foi o que mais evidenciou variação (maior perda) de massa ao longo do tempo. A microscopia eletrônica de varredura evidenciou um desorganização do esmalte superficial em G1 (Tucupi) e G2 (Refrigerante a base de cola), mas sem alterar a superfície em G3 (água destilada).

Segundo Lussi e colaboradores, quanto maior a acidez titulável da bebida, maior o tempo que a saliva leva para neutralizar o ácido, dessa forma o ácido tem uma ação mais prologando sobre o dente (LUSSI et al., 2004). Logo, associamos a maior perda dureza do grupo exposto ao tucupi por conta do seu maior valor de acidez total titulável ( $\cong 0,80$ ), quando comparado ao grupo do refrigerante utilizado neste estudo ( $\cong 0,57$ ) (TENUTA et al., 2015).

Existe uma correlação direta entre a prevalência da erosão e o consumo de bebidas carbonatadas (refrigerantes) (LUSSI et al., 2004), logo justifica-se a utilização nesse modelo de um refrigerante a base de cola para o controle positivo do presente estudo. No entanto, por mais que a bebida a base cola tenha o pH menor que o do tucupi, esta não demonstrou maior poder erosivo, e podemos associar isto a sua menor acidez titulável quando comparada a do tucupi.

Estudo afirmam que um ataque ácido leva à desmineralização do esmalte dental, causando um “amolecimento” da superfície do dente, e sua diminuição na resistência ao desgaste da superfície (SCARAMUCCI et al., 2011; RIOS et al., 2011). Nesse sentido, a análise por MEV demonstrou um dano progressivo ao longo do tempo ao esmalte superficial exposto aos meios ácidos, evidenciando um esmalte mais poroso e com cavidades rasas, evidenciando perda dessa camada mais “amolecida”.

A erosão dentária ocorre quando há um desequilíbrio entre o consumo da bebida (de natureza ácida) e a capacidade protetora do organismo, mais especificamente a capacidade de tamponamento da saliva, e não apenas pelo tipo de ácido presente na composição das bebidas (DEVLIN et al., 2006). Logo, o meio saturado da saliva artificial contendo elementos químicos como o cálcio, fosfato e

flúor, utilizada como meio de armazenamento no presente estudo para todos os meios testados (tucupi, refrigerante a base de cola e água destilada), possa ter colaborado para que valores mais baixo de microdureza não fossem observados.

Outro fator importante é a agitação da solução durante a imersão dos espécimes, pois foi demonstrado que (MAUPOMÉ et al., 1998, MAUPOMÉ et al., 1999 e LARSEN e RICHARDS, 2002) a imersão sob agitação pode aumentar o grau de erosão produzido pelas bebidas ácidas no esmalte dentário primário e permanente, no entanto ela se faz necessário por ser uma situação mais próximo da clínica. Logo, no modelo de erosão utilizado neste estudo, foi feita agitação manual dos líquidos testados, durante as imersões nas soluções testadas.

Embora todas as etapas experimentais deste estudo tenham sido conduzidas de maneira criteriosa e estritamente de acordo com o protocolo, os estudos *in vitro* apresentam limitações e, portanto, seus resultados devem ser extrapolados para condições clínicas com cuidado, pois sabemos que nas condições clínicas temos a escovação dental e a saliva natural. A escovação está ausente nesse delineamento de estudo por se tratar do primeiro estudo em tecidos duros dentais desenvolvido nessa linha de pesquisa (modelo de erosão *in vitro* com tucupi), logo se fez necessário ver a influência isolada do tucupi sobre o esmalte dental.

A erosão dentária associada ao consumo de bebidas ácidas é um potencial problema de saúde bucal à população da região Norte do Brasil (MARTINS et al., 2016). O tucupi como demonstrado no presente estudo é um fator de risco para erosão dental nessa região, pois está presente em vários pratos típicos e em molhos consumidos diariamente por essa população. Logo, mais pesquisas devem ser realizadas para ampliar os escopos e conhecimentos neste campo de pesquisa.

## **7. CONCLUSÃO**

Com base nos resultados deste estudo, foi possível concluir que o tucupi utilizado possui baixo pH e alta acidez total titulável, sendo capaz de diminuir de forma gradativa a microdureza do esmalte em função do tempo de exposição, elevar a rugosidade superficial, permitir a perda de massa do substrato, além de demonstrar perda parcial da superfície de esmalte ao longo do tempo.

## REFERÊNCIAS

1. ADDY, M; SHELLIS, R.P: **Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear**; in Lussi A (ed): Dental Erosion: From Diagnosis to Therapy. Monogr Oral Sci. Basel, Karger, 2006, vol 20, pp 17–31.
2. AMERONGEN, A.V.N; VEERMAN, E.C.I. **Saliva - the defender of the oral cavity**. Oral Diseases, 2002; 8, 12- 22. issn: 1354-523X.
3. AMORIM S. L , MEDEIROS R.M.T & RIET-CORREA F. **INTOXICAÇÕES POR PLANTAS CIANOGENICAS NO BRASIL**. Ciência Animal, 16(1):17-26, 2006.
4. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16. ed., 3. rev. Gaithersburg, 1997. v. 2.
5. BRITO, B.D.N.D.C; CHISTÉ, R.C; LOPES, A.S; GLÓRIA, M.B.A; PENA, R.D.S, **Influence of spontaneous fermentation of manipueira on bioactive amine and carotenoid profiles during tucupi production**, Food Research International, 2019. Jun;120:209-216.
6. CAMPOS, A. P. R.; CARMO, J. R. do; CARVALHO, A. V.; MATTIETTO, R. de A. **Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas de tucupi comercial**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2016. 25 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 112).
7. CAMPOS, A. P. R.; CARMO, J. R. do; MATTIETTO, R. de A.; CARVALHO, A. V. **Caracterização físico-química do tucupi durante as etapas de processamento**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2017. 20 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 114).
8. CARSTENSEN, W. **The effects of different phosphoric acid concentrations on surface enamel**. *Angle Orthod*. 1992; 62: 51–58.
9. CATE, A.R.T.. **Oral Histology**. 4ª. St Louis, Missouri: Mosby-Yearbook, Inc., 1994, pp. 239–245. isbn: 0-8016-7966-4).
10. CHAUDHRY, S.I; HARRIS, J.L; CHALLACOMBE, S.J. **Dental erosion in a wine merchant: an occupational hazard?** Br Dent J 1997;182:226-228 .
11. CHENG Z-J, WANG X-M, CUI F-Z, GE F, YAN J-X: **The enamel softening**

- and loss during early erosion studied by AFM, SEM and nanoindentation.** Biomed Mater 2009;4:1–7.
12. CHISTÉ, R.C; COHEN K.O. **Total and free cyanide contents determination during the processing steps for preparing tucupi.** Revista do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, v.1, n. 70. p.41-46, 2011.
  13. CHISTÉ, R.C; COHEN, K.O; OLIVEIRA, S.S. **Study of tucupi physicochemical properties.** Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v. 3, n. 27. p. 437–440, 2007.
  14. DEVLIN, H; BASSIOUNY, M.A; BOSTON, D. **Hardness of enamel exposed to Coca-Cola and artificial saliva.** J Oral Rehabil 2006;33:26-30.
  15. ENGLE, K; HARA, A.T; MATIS, B; ECKERT, G.J; ZERO, D.T. **Erosion and Abrasion of Enamel and Dentin Associated with At-Home Bleaching: An In Vitro Study.** JADA. 2019; 141(5): 546-551.
  16. FEATHERSTONE, J.D.B E LUSSI A. **Understanding the Chemistry of Dental Erosion.** Monogr Oral Sci. Basel, Karger, 2006, vol 20, pp 66–76.
  17. FRANKLIN S, MASIH S, THOMAS AM. **An in-vitro assessment of erosive potential of a calcium-fortified fruit juice.** Eur Arch Paediatr Dent. 2014; 15(6): 407-11.
  18. GODINHO, J. **“Espetroscopia de Raios X na Detecção de Alterações Elementares no Esmalte Dentário Após Branqueamento”.** Tese de Mestrado. Universidade de Lisboa, 2013, p. 21.
  19. GONÇALVES, G.K; GUGLIELMI, C.A; CORRÊA, F.N; RAGGIO, D.P; CORRÊA, M.S. **Erosive potential of different types of grape juices.** Brazilian Oral Research. São Paulo.,v. 26, n.5. p. 457–463, 2012.
  20. GRANDO, L.J; TAMES, D.R; CARDOSO, A.C; GABILAN, N.H. **In vitro study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in deciduous teeth analysed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy.** Caries Res 1996;30:373-378.
  21. GRIPPO J.O, SIMRING M, COLEMAN T.A. **Abfraction, abrasion, biocorrosion, and the enigma of non carious cervical lesions: a 20-year perspective.** J EsthetRestorDent. 2012;24(1):10-23.
  22. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Culturas temporárias e permanentes.** Produção Agrícola Municipal. Brasil; 2009; 36:1-90.

23. JÄRVINEN, V.K, RYTÖMAA I, HEINONEN, O.P. **Risk factors in dental erosion.** J Dent Res 1991;70:942-947.
24. JOHANSSON AK, LINGSTROM P, BIRKHED D. **Comparison of factors potentially related to the occurrence of dental erosion in high- and low-erosion groups.** Eur J Oral Sci 2002; 110: 204-211.
25. KREULEN, C.M.; VAN 'T SPIJKER, A; RODRIGUEZ, J.M; BRONKHORST, E.M; CREUGERS, N.H.J; BARTLETT, D.W. **Systematic Review of the Prevalence of Tooth Wear in Children and Adolescents.** Caries Res 2010;44:151–159.
26. LARSEN, M.J; RICHARDS, A. **Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks.** Caries Res 2002;36:75-80.
27. LUSSI, A. **Dental erosion: from diagnosis to therapy.** Community Dentistry and Oral Epidemiology. v. 34 n..5. p., 398–399, 2006.
28. LUSSI, A; JAEGGI, T; ZERO, D. **The Role of Diet in the Aetiology of Dental Erosion.** Caries Res 2004;38(suppl 1):34–44.
29. LUSSI, A; SCHLUETER, N; RAKHMATULLINA, E; GANSS, C. **Dental erosion—an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects.** Caries Research. v. 45 n. Suppl. 1.p. 2–12, 2011.
30. MARTINS, L.M; FRANCISCONI-DOS-RIOS, L.F; MEIRA, G.D.F; BERTOCCO, V.P.L; SILVA, L.M, REBELO, M.A.B. **Amazonian delicacy tucupi is as erosive as a cola-based soft drink.** Arch Oral Biol. v.61. p. 84-88 2016.
31. MAUPOMÉ, G; AGUILAR-AVILA, M; MEDRANO-UGALDE, H; BORGES-YANEZ, A. **In vitro quantitative microhardness assessment of enamel with early salivary pellicles after exposure to an eroding cola-type soft drink.** Caries Res 1999;33:140-147.
32. MAUPOMÉ, G; DIEZ-DE-BONILLA, J; TORRES-VILLASENOR, G; ANDRADE-DELGADO, L.C; CASTANO, V.M. **In vitro quantitative assessment of enamel microhardness after exposure to eroding immersion in a cola-type soft drink.** Caries Res 1998;32:148-153.
33. OWUAMANAM, C. I.; IWOUNO, J. O.; IHEDIOHANMA N. C.; BARBER L. I. **Cyanide Reduction, Functional and Sensory Quality of Gari as Affected by pH, temperature and fermentation time.** Journal of Nutrition, v. 9; p. 980-986, Nigéria, 2010.

34. PARÁ. Ofício ADEPARÁ N°001/2008, 26 de junho de 2008
35. RIBEIRO, M. E. S.; SANTOS, H. S. B.; BAIA, J. C. P.; OLIVEIRA, R. P.; SOUZA JÚNIOR, M. H. S. & LORETTO, S. C. **Influence of prolonged tooth bleaching on enamel mass variation.** Int. J. Odontostomat., 13(3):305-309, 2019.
36. RIOS, D; HONÓRIO, H.M; MAGALHÃES, A.C; SILVA, S.M.B; DELBEM, A.C.B; MACHADO, M.A.A.M; BUZALAF, M.A.R. **Scannig electrónico microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel.** Braz Res Oral. 2008; 22 (2): 132-8.
37. SCARAMUCCI T, HARA AT, ZERO DT, FERREIRA SS, AOKI IV & SOBRAL MA. **Development of an Orange Juice Surrogate for the Study of Dental Erosion** Brazilian Dental Journal. 2011; 22(6): 473-478.
38. SOARES P.V, TOLENTINO, A.L E COTO, N.P. **Corrosão Dentária em Atletas: Fatores de Risco Associados ao estilo de vida.** Revisão Crítica. REV ASSOC PAUL CIR DENT 2018;72(4):624-30
39. SOARES, P.V E GRIPPO, J.O. **Non carious Cervical Lesions and Cervical Dentin Hypersensitivity: Etiology, Diagnosis, and Treatment.** 1ª Ed. United States. Ed. Quintessence, 2017.
40. TENUTA, L.M.A; FERNÁNDEZ, C.E; BRANDÃO, A.C.S; CURY, J.A. **Titrateable acidity of beverages influences salivary pH recovery.** Braz Oral Res [online]. 2015;29(1):1-6
41. WANG, Y.L; CHANG, C; CHI C.W; CHANG, H.H; CHIANG, Y.C; CHUANG Y. **Erosive potential of soft drinks on human enamel: an in vitro study.** J Formos Med Assoc. 2014; 113(11): 850-6.
42. WESTBY, A. **Cassava utilization, storage and small-scale processing** R.J. Hillocks, J.M. Thresh, A.C. Bellotti (Eds.), Cassava: Biology, Production and Utilization, CAB International (2002), pp. 281-300.
43. YOUNG A, TENUTA LM. **Initial erosion models.** Caries Res 2011;45 Suppl 1:33-42.
44. ZIMMER S, KIRCHNER G, BIZHANG M, BENEDIX M. **Influence of Various Acidic Beverages on Tooth Erosion.** Evaluation by a New Method. PLoS One. 2015; 10(6).

## ANEXO



**UFPA**  
Universidade Federal do Pará

**Comissão de Ética no  
Uso de Animais**

Belém, 18 de setembro de 2018  
CEUA N [5529120918](#)

### COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE PROPOSTA À COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CPF: [604.094.012-34](#)

Título do projeto: [Influência da Manihot esculenta \(tucupi\) na rugosidade superficial, microdureza, ultramorfologia e variação de massa do esmalte dental](#)

Responsável: [Sandro Cordeiro Loretto](#)

Equipe: [Mara Eliane Soares Ribeiro, Naama Waléria Alves Sousa](#)

Telefone: [\(91\)98122-3477](#) e-mail: [sandroloretto@hotmail.com](mailto:sandroloretto@hotmail.com)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará, avaliará os documentos seguindo calendário de reuniões vigentes. Todo o processo poderá ser acompanhado no sistema (<http://ceua.ufpa.br/>) por meio da sua senha de acesso.

*M<sup>a</sup> Viviana B. Monteiro*

Profa. Dra. Maria Viviana Barros Monteiro  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Pará

*Vanessa Joia de Mello*

Profa. Dra. Vanessa Joia de Mello  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Pará

