

# ESTUDO DOS EFEITOS DE DIFERENTES MEIOS DE ARMAZENAMENTO EM PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE ESPÉCIMES DE DENTINA

**Palavras-Chave:** Dentina, tempo, manejo de espécimes

**Autores(as):**

**Jaqueline Nunes Martins (pesquisadora), FOP – UNICAMP**

**Laís Siqueira Barbieri (pesquisadora associada), FOP – UNICAMP**

**Rafaela Caires Santos (pesquisadora associada), FOP – UNICAMP**

**Samuel da Silva Palandi (pesquisador associado), FOP – UNICAMP**

**Profa. Dra. Talita Tartari (orientadora), FOP - UNICAMP**

---

## INTRODUÇÃO:

Espécimes de dentina, obtidos a partir de dentes humanos, são comumente empregados em estudos *in vitro*, a fim de testar e identificar diferentes tratamentos ou materiais que possam ser utilizados em diversas áreas da odontologia. No entanto, após o preparo, esses espécimes frequentemente necessitam ser armazenados até o início dos experimentos. É de suma importância compreender se as condições de armazenamento podem alterar as características físico-químicas dessas amostras, uma vez que isso poderia influenciar os resultados dos experimentos, introduzindo viés nos dados obtidos. No entanto, a literatura apresenta informações divergentes para orientar a escolha do meio de armazenamento mais apropriado e o intervalo de tempo seguro para a preservação desses espécimes antes do início das análises experimentais. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo analisar os efeitos de diferentes meios de armazenamento em propriedades físico-químicas de espécimes de dentina.

## METODOLOGIA:

Essa pesquisa foi submetida à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas, sendo aprovada sob CAAE 82824624.1.0000.5418.

Dentes pré-molares e terceiros molares humanos hígidos, com rizogênese completa e extraídos por indicação clínica, foram utilizados neste estudo. Fatias de dentina com 1,8 mm de espessura foram seccionadas da superfície oclusal das coroas desses dentes por meio de corte com disco diamantado

em uma cortadora metalográfica Isomet low speed saw (Buehler Ltd., Lake Bluff IL, USA. Discos de dentina com tamanho padronizado foram obtidos dessas fatias com uma trefina de 4,5 mm de diâmetro interno. A face do disco voltada para a superfície oclusal do dente foi polida com lixas de silicone carbide nas granulações 2000 e 4000 (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) e em seguida com discos de feltro com suspensão de alfa alumina com 1 e 0.3 microns (Struers, Ballerup, Dinamarca). Após, os discos de dentina foram imersos em água destilada e levados em cuba ultrassônica por 3 minutos para remover resíduos do polimento. Os espécimes foram então distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos experimentais (n=5), de acordo com o meio de armazenamento: G1 – solução salina, G2 – timol, G3 – saliva artificial, G4 – leite esterilizado e G5 – meio seco.

Antes do armazenamento, as características iniciais dos espécimes foram avaliadas por meio de ensaios de microdureza Knoop e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR). Primeiramente, a análise espectroscópica foi realizada utilizando o acessório de reflectância total atenuada (ATR – Smart Miracle™) acoplado ao espectrômetro FTIR IR Prestige 21 (Shimadzu, Japão). Espectros de absorvância da superfície polida dos espécimes foram obtidos em três pontos distintos, na faixa de 4000–400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 32 varreduras, por meio do software IR Resolution. Um espectro inicial de absorvância obtido por ATR/FTIR a partir de um disco de dentina é apresentado na Figura 1. A razão amida III/fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) foi utilizada para avaliar a proporção inicial entre matéria orgânica e inorgânica da dentina, sendo calculada uma média dos valores obtidos para cada espécime.

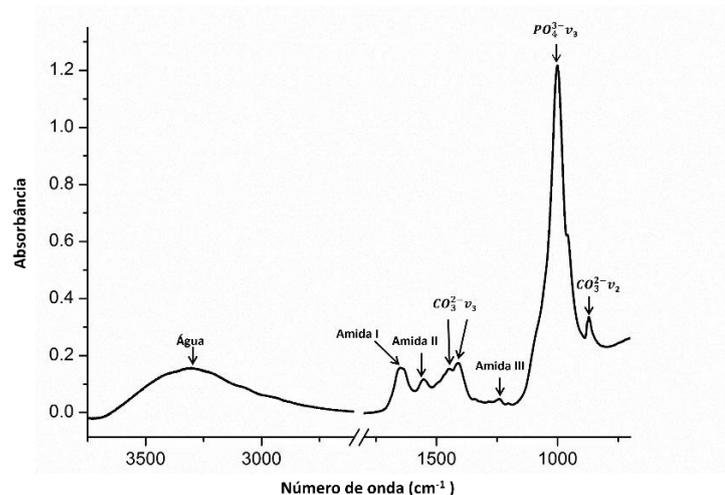


Figura 1 – Espectro de absorvância inicial com os picos de absorção dos principais componentes da dentina.

Para a microdureza, foi utilizado, um indentador Knoop do microdurômetro Tester FM-100 (Future Tech, Kanagawa, Japão), empregando uma carga de 10g e um tempo de permanência de 15 segundos. Em cada amostra, foram feitas três indentações no centro, seguindo uma linha reta e adjacentes uma à outra. A média desses valores foi utilizada para calcular a microdureza antes do armazenamento.

Após essas análises iniciais, os espécimes foram armazenados individualmente em potes de acrílico de 15 mL contendo 10 mL de seus respectivos meios. As avaliações de microdureza e ATR-

FTIR foram repetidas após 7, 15 e 30 dias.

Além disso, três espécimes por grupo foram destinados à análise por espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS), acoplada ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), com o objetivo de realizar a caracterização química semiquantitativa dos principais elementos presentes na superfície dentinária, antes e após 30 dias de armazenamento. No entanto, essas amostras foram comprometidas, pois na véspera da análise final houve indisponibilidade de nitrogênio líquido, essencial para o funcionamento do sistema, o que levou ao cancelamento da coleta de dados. Devido à alta demanda pelo equipamento, não foi possível reagendar a análise no período previsto. Esse ensaio será repetido, e as soluções líquidas utilizadas no armazenamento dos espécimes também serão submetidas à análise por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido (ICP-OES), visando à quantificação dos íons cálcio liberados. Amostras iniciais de cada meio de armazenamento serão analisadas para fins de comparação e determinação da variação na concentração desse íon após o período experimental.

Os dados obtidos nos ensaios de microdureza Knoop e da razão amida III/fosfato foram convertidos em valores percentuais relativos ao tempo inicial (T<sub>0</sub>, considerado como 100%), com o intuito de expressar quantitativamente a magnitude das alterações ao longo do tempo. Esses valores percentuais foram inicialmente submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, que indicou distribuição normal dos dados. Diante disso, as comparações entre os diferentes meios de armazenamento em cada intervalo de tempo foram realizadas por meio de ANOVA one-way, com post-hoc de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ). Para a avaliação intragrupo, considerando os diferentes tempos de armazenamento, empregou-se ANOVA para dados repetidos com o mesmo post-hoc ( $\alpha < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os valores de média (X), desvio padrão (DP) e variação percentual em relação ao valor inicial (T<sub>0</sub>) da razão amida III/fosfato das amostras ao longo do período imersão nos diferentes meios de armazenamento estão apresentados na Tabela 1.

Na análise da razão amida III/fosfato obtida por ATR-FTIR, observou-se aumento significativo dessa razão nos grupos G1 – solução salina, G2 – timol e G3 – saliva artificial ( $p < 0,05$ ), indicando desmineralização dentinária. No grupo G1 – solução salina, o aumento foi mais pronunciado, com elevação de aproximadamente 110% em relação ao valor inicial e diferenças significativas após 15 e 30 dias ( $p < 0,05$ ). O grupo G3 – saliva artificial também apresentou elevação progressiva da razão com diferenças significativas para T<sub>0</sub> após 15 e 30 dias ( $p < 0,05$ ), sendo essa variação de 70% ao final do período total de imersão. Essa desmineralização também foi observada no G2 – timol, porém a diferença foi significativa apenas em 30 dias ( $p < 0,05$ ). Os grupos G4 – leite e G5 – meio seco por sua vez não apresentaram alterações estatisticamente significativas para esta razão ao longo do tempo ( $p > 0,05$ ).

Tabela 1 – Média (X), desvio padrão (DP) e variação percentual em relação ao valor inicial (T<sub>0</sub>) da razão amida III/fosfato ( $\times 10^3$ ) das amostras nos tempos T<sub>0</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>15</sub> e T<sub>30</sub> dias, após imersão nos diferentes meios de armazenamento. Os valores da razão devem ser multiplicados por  $10^{-3}$ .

Grupos	T 0d X ± DP	% em T0	T 7d X ± DP	Variação para T0 (%)	T 15d X ± DP	Variação para T0 (%)	T 30d X ± DP	Variação para T0 (%)
G1- Solução salina	13,4 ± 2,6	100 <sup>Aa</sup>	22,0 ± 7,0	165,0 <sup>Aab</sup>	25,1 ± 5,1	192,2 <sup>Ab</sup>	27,8 ± 1,1	209,8 <sup>Ab</sup>
G2- Timol	15,9 ± 0,8	100 <sup>Aa</sup>	18,3 ± 3,2	115,6 <sup>Bab</sup>	22,9 ± 4,4	143,6 <sup>ABab</sup>	22,7 ± 2,7	143,2 <sup>BCb</sup>
G3- Saliva	16,4 ± 1,7	100 <sup>Aa</sup>	14,7 ± 2,3	89,5 <sup>Ba</sup>	21,4 ± 2,8	131,1 <sup>Bb</sup>	25,3 ± 3,5	155,0 <sup>Bb</sup>
G4- Leite	13,5 ± 1,9	100 <sup>Aa</sup>	12,7 ± 1,4	94,9 <sup>Ba</sup>	13,7 ± 2,3	102,1 <sup>Ba</sup>	14,0 ± 3,0	104,3 <sup>Ca</sup>
G5 - Seco	12,6 ± 3,1	100 <sup>Ab</sup>	11,2 ± 0,8	93,7 <sup>Ba</sup>	13,6 ± 2,7	109,4 <sup>Ba</sup>	13,3 ± 2,8	107,1 <sup>Ca</sup>

ANOVA one-way com Tukey ( $p < 0,05$ ): letras maiúsculas distintas nas colunas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os meios de armazenamento no mesmo intervalo de tempo. ANOVA one-way para medidas repetidas com Tukey ( $p < 0,05$ ): letras minúsculas distintas nas linhas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de avaliação dentro de um mesmo meio de armazenamento.

A tabela 2 apresenta os valores de média (X), desvio padrão (DP) e variação percentual em relação ao valor inicial (T0) da microdureza Knoop das amostras ao longo do período imersão nos diferentes meios de armazenamento.

Tabela 2 – Média (X), desvio padrão (DP) e variação percentual em relação ao valor inicial (T0) da microdureza Knoop das amostras nos tempos T 0d, T 7d, T 15d e T 30d, após imersão nos diferentes meios de armazenamento.

Grupos	T 0d X ± DP	% em T0	T 7d X ± DP	Variação para T0 (%)	T 15d X ± DP	Variação para T0 (%)	T 30d X ± DP	Variação para T0 (%)
G1- Solução salina	75,8 ± 12,8	100 <sup>Aa</sup>	56,5 ± 6,65	75,9 <sup>Aa</sup>	39,6 ± 16,4	54,3 <sup>Aab</sup>	30,2 ± 3,6	40,6 <sup>Ab</sup>
G2- Timol	71,5 ± 15,4	100 <sup>Aa</sup>	51,1 ± 14,8	76,4 <sup>Aab</sup>	45,9 ± 16,9	70,5 <sup>Aab</sup>	45,6 ± 12,2	65,2 <sup>ABb</sup>
G3- Saliva	79,4 ± 10,6	100 <sup>Aa</sup>	70,3 ± 14,5	91,4 <sup>Aa</sup>	60,4 ± 13,2	78,7 <sup>Aa</sup>	61,9 ± 9,0	79,0 <sup>BCa</sup>
G4- Leite	64,7 ± 16,4	100 <sup>Aa</sup>	62,1 ± 10,7	97,9 <sup>Aa</sup>	65,6 ± 14,7	100,8 <sup>Aa</sup>	64,3 ± 10,0	101,6 <sup>Ca</sup>
G5 - Seco	19,2 ± 9,0	100 <sup>Aa</sup>	71,0 ± 10,3	90,9 <sup>Aa</sup>	70,2 ± 8,3 <sup>c</sup>	89,0 <sup>Aa</sup>	78,8 ± 9,3	100,2 <sup>Ca</sup>

ANOVA one-way com Tukey ( $p < 0,05$ ): letras maiúsculas distintas nas colunas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os meios de armazenamento no mesmo intervalo de tempo. ANOVA one-way para medidas repetidas com Tukey ( $p < 0,05$ ): letras minúsculas distintas nas linhas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de avaliação dentro de um mesmo meio de armazenamento.

A análise estatística dos dados de microdureza Knoop revelou que os diferentes meios de armazenamento promoveram alterações distintas na resistência mecânica da dentina ao longo do tempo. O grupo G1 – solução salina apresentou a maior redução da microdureza, com reduções progressivas em todos os intervalos de tempo analisados, atingindo apenas 40,6% do valor inicial após 30 dias ( $p < 0,05$ ). O grupo G2 – timol também apresentou queda significativa ao longo do tempo, com microdureza reduzida para 65,2% do valor inicial ao final do experimento ( $p < 0,05$ ). Já o grupo G3 – saliva artificial apresentou uma redução mais moderada, mantendo 79,0% da microdureza inicial após 30 dias, sem diferença significativa entre os tempos avaliados ( $p > 0,05$ ). Os grupos G4 – leite esterilizado e G5 – meio seco mantiveram os valores de microdureza estáveis ao longo de todo o período experimental, sem diferenças estatisticamente significativas entre os tempos avaliados, mesmo após 30 dias de armazenamento ( $p > 0,05$ ).

Os dados revelam uma relação inversa entre o aumento da razão amida III/fosfato e a manutenção da microdureza dentinária. Meios como solução salina (G1), timol (G2) e saliva artificial (G3) promoveram aumento significativo da razão amida III/fosfato, acompanhado por redução expressiva da microdureza, sugerindo um processo de desmineralização da matriz inorgânica da dentina. Essas

alterações foram mais acentuadas nos primeiros períodos de avaliação (7 e 15 dias), provavelmente devido à ação direta das soluções sobre a superfície exposta dos espécimes, favorecendo a perda mineral. No entanto, após a modificação da camada superficial, as alterações em profundidade parecem ser dificultadas. Em contraste, os grupos G4 – leite esterilizado e G5 – meio seco apresentaram estabilidade tanto na composição química (razão amida III/fosfato) quanto nos valores de microdureza ao longo do tempo ( $p > 0,05$ ), indicando maior compatibilidade com o tecido dentinário. O leite, possivelmente devido à presença de cálcio, pode exercer efeito tamponante e contribuir para a manutenção do equilíbrio iônico da dentina. Já o meio seco, quando associado à reidratação prévia às análises, mostrou-se eficaz na preservação das propriedades físico-químicas do substrato dentinário, por evitar a solubilização dos componentes da matriz.

## CONCLUSÕES:

Esses resultados indicam que o tipo de meio de armazenamento impacta significativamente a integridade estrutural da dentina ao longo do tempo. A escolha inadequada do meio pode comprometer a validade de análises laboratoriais subsequentes. Assim, para estudos *in vitro* com espécimes dentinários, o uso de leite esterilizado ou armazenamento a seco (com reidratação antes das análises) parece ser a estratégia mais segura para preservar as características mecânicas e composicionais da dentina.

---

## BIBLIOGRAFIA

- Aydın B, Pamir T, Baltacı A, et al. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *Eur J Dent* 2015;9:262-6.
- Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook A, Jr., et al. Using extracted teeth for research: the effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *J Am Dent Assoc* 2007;138:1599-603.
- Fritz UB, Finger WJ, Uno S. Resin-modified glass ionomer cements: bonding to enamel and dentin. *Dent Mater* 1996;12:161-6.
- Nawrocka A, Łukomska-Szymańska M. Extracted human teeth and their utility in dental research. Recommendations on proper preservation: A literature review. *Dent Med Probl* 2019;56:185-90.
- Jameson M, Tidmarsh B, Hood J. Effect of storage media on subsequent water loss and regain by human and bovine dentine and on mechanical properties of human dentine *in vitro*. *Arch Oral Biol* 1994;39:759-67.
- Strawn SE, White JM, Marshall GW, et al. Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions--short term. *J Dent* 1996;24:417-23.