

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

GUSTAVO ADROALDO BLACK LUMMERTZ
RODRIGO ISAAC MAY

ANÁLISE CRISTALOGRÁFICA DO ESMALTE
DENTAL BOVINO E HUMANO ATRAVÉS
DA DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X.

Porto Alegre

2012

GUSTAVO ADROALDO BLACK LUMMERTZ
RODRIGO ISAAC MAY

ANÁLISE CRISTALOGRÁFICA DO ESMALTE
DENTAL BOVINO E HUMANO ATRAVÉS
DA DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Myriam Pereira
Kapczinski

Porto Alegre
2012

CIP- Catalogação na Publicação

Lummertz, Gustavo Adroaldo Black

Análise cristalográfica do esmalte dental bovino e humano através da difratometria de raios-x / Gustavo Adroaldo Black Lummertz, Rodrigo Isaac May. – 2012.

24 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

Orientadora: Myriam Pereira Kapczinski

1. Odontologia. 2. Esmalte dental. 3. Difratometria. I. May, Rodrigo Isaac. II. Kapczinski, Myriam Pereira. III. Título.

Elaborada por Ida Rossi - CRB-10/771

“Aos nossos pais, que sempre nos apoiaram, sobretudo, em momentos difíceis. Aos nossos familiares e amigos que não mediram esforços em nos ajudar. Aos professores, que nos ensinaram que não há limites para o conhecimento, o qual se renova a todo instante.”

AGRADECIMENTOS

Aos nossos pais. Cada ato deles nos instigou a crescer e a nos tornarmos no que somos.

Aos nossos irmãos e amigos pelo apoio e amor incondicional e que, felizmente, podemos afirmar reciprocidade.

À Professora e amiga Myriam Pereira Kapczinski pelo tempo e paciência a nós dedicados. Ao espírito crítico dela, que esperamos, por meio da convivência, tê-lo adquirido.

Ao colega e amigo Vinicius Kothe pelo companheirismo e participação ativa no projeto, a qual foi de suma importância para o desenvolvimento e desfecho.

Ao Sr. Otelo José Machado devido à solicitude para as análises de DRX.

Ao pesquisador Éder Julio Kinast pelo empenho e mente ilustrada, que tornou possível exame minucioso dos dados.

Aos laboratórios Mössbauer (do Instituto de Física da UFRGS) e de Materiais Dentários (da Faculdade de Odontologia da UFRGS), os quais nos facultaram condições de elucidar este trabalho.

RESUMO

LUMMERTZ, Gustavo Adroaldo Black; MAY, Rodrigo Isaac. **Análise cristalográfica do esmalte dental bovino e humano através da difratometria de raios-x.** 2012. 24f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

A pesquisa odontológica necessita, frequentemente, do uso de material biológico para experimentos. Os dentes humanos foram até há alguns anos os mais materiais utilizados. No entanto, foram surgindo limitações ao uso deles em razão de considerações éticas e da disponibilidade para pesquisas, uma vez que os avanços nas técnicas preventivas e restauradoras em Odontologia diminuíram muito o número de exodontias. Alternativa à utilização dos dentes humanos em estudos são os dentes bovinos. É importantíssimo o conhecimento das características e das propriedades desses tecidos para que possa ser proposto uso em substituição aos dentes humanos em métodos de análise científica. Destaca-se que é dado escasso na literatura o comparativo da composição cristalográfica do esmalte, tanto bovino quanto humano, com nível de precisão e de detalhamento proporcionado pela Difratometria de Raios-X (DRX). Neste estudo, realizou-se DRX em amostras de esmalte bovino e de humano, no qual foi encontrado mesmo grau de cristalinidade, (95%) e mesma estrutura cristalina hexagonal. A microdureza dos dois tipos de esmaltes foi diferente ($\alpha < 0,05$), sendo os valores médios para o esmalte bovino $289,2 \pm 14,34$ e para o humano $349,9 \pm 9,09$. A superfície de ambos, analisada por microscopia eletrônica de varredura mostrou similaridade.

Palavras-chave: Odontologia. Esmalte dental. Difratometria de Raios-X.

ABSTRACT

LUMMERTZ, Gustavo Adroaldo Black; MAY, Rodrigo Isaac. **Crystallographic analysis of human and bovine dental enamel by x-ray diffraction**. 2012. 24 f. Final Paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

The dental research often requires the use of biological material for experiments. Human teeth were until a few years ago one of the most used materials. However limitations to its use arose due to relevant ethical considerations and decreasing availability of the same, since the technical advances in preventive and restorative dentistry decreased the number of extractions. An alternative to the use of human teeth in research is the use of bovine teeth. Is very important to know the characteristics and properties of these tissues that might be proposed for use in replacement of human teeth. It is noteworthy, that the comparative composition crystallographic enamel both bovine and human, with the level of precision and detail provided by X-ray diffraction (XRD) have a few data in the literature. In this study the DRX in samples of bovine and human showed the same degree of crystallinity (95%) and hexagonal crystal structure. The microhardness of both types of enamel was different ($\alpha < 0.05$) and the average values for the bovine enamel were 289.2 ± 14.34 and 349.9 ± 9.09 for human enamel. The surface of both analyzed by scanning electron microscopy showed similarity.

Keywords :Dentistry. Enamel. Diffractometry.

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 7 |
| 1.2 | OBJETIVOS..... | 9 |
| 1.3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 9 |
| 1.4 | TESTE DE DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X (DRX) | 10 |
| 1.5 | CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS | 11 |
| 1.5.1 | Microdureza | 11 |
| 1.5.2 | Microscopia eletrônica de varredura e análise de energia dispersiva EDS | 12 |
| 1.6 | ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 12 |
| 1.7 | LABORATÓRIOS PARA DESENVOLVIMENTO DO PROJETO..... | 12 |
| 1.8 | CONSIDERAÇÕES ÉTICAS..... | 12 |
| 1.9 | RESULTADOS..... | 12 |
| 1.9.1 | Difratometria de raios-x | 12 |
| 1.9.2 | sonda de energia dispersiva (EDS) | 16 |
| 1.9.3 | Microdureza Knoop | 17 |
| 1.9.4 | Microscopia Eletrônica de Varredura | 19 |
| 2 | DISCUSSÃO | 20 |
| 3 | CONCLUSÃO | 22 |
| | REFERÊNCIAS | 23 |

1 INTRODUÇÃO

A obtenção de dentes humanos leva à necessidade do conhecimento da origem deles. Infelizmente, para uso científico, entre outras situações não bem esclarecidas, foram relacionadas situações de comércio e ausência de documentação que certifique doação por parte de cirurgião dentista responsável pelas exodontias. Já a obtenção de dentes bovinos pode ser, facilmente, certificada em termos de origem por meio de documentação e de registro do frigorífico responsável pelo abate. Destaca-se que esses elementos dentais são materiais descartados no processo de comercialização de rebanhos. Entre as vantagens de emprego, podem ser arroladas a possibilidade de padronização dos elementos dentais por raça, idade, alimentação. Já, nos humanos, há enormes diferenças de dieta, experiência de cárie, exposição ao flúor entre outros fatores (WEGENHAUPT, 2010).

Existem estudos que fazem o comparativo entre as características desses tecidos. Microdureza, erosão, adesão e polimento são áreas que já possuem alguns dados relatados (MATTOS et al., 2008; TURSSI et al., 2010; REIS et al., 2004; WHITE et al., 2010; REEH, 1995; PUTT et al., 1980; EISENBURGER, ADY, 2002; WEGENHAUPT, WIDMER, 2009; ATTIN et al., 2007). Contudo, para a justificativa dos resultados, é importante o conhecimento de características químicas e estruturais do esmalte.

O esmalte é o tecido mais mineralizado do corpo humano, consistindo de 96% de mineral suportado por 4% de material orgânico e água. O conteúdo inorgânico do esmalte consiste de fosfato de cálcio cristalino, conhecido como hidroxiapatita. Ademais, vários íons, tais como estrôncio, magnésio, chumbo e fluoreto, quando presentes durante a formação do esmalte, podem ser incorporados ou adsorvidos pelos cristais de hidroxiapatita (NANCI, 2008; BHAKAR, 1978). Boyde (1965), Whithaker, Green (1988), Reeh (1995) relatam diferenças histológicas entre esmalte bovino e humano como a organização prismática e a dimensões da área interprismática.

Krejci *et al.* (1997), apresentam a seguinte composição para o esmalte dental humano: 95% de mineral, sendo este hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$), 4% H_2O e 1% de matriz orgânica. As diferenças existentes entre os cristais de hidroxiapatita de humanos e de bovinos é assunto, pobremente, relatado (GONÇALVES, 2010).

Segundo VanVlack (1984), por meio da Difractometria de Raios-X (DRX), é possível determinar as estruturas cristalinas dos materiais. Essencialmente, em todos os metais, relevante parte dos cerâmicos e certos polímeros se cristalizam quando solidificam. Com isso, conclui-se que os átomos se arranjam em modelo tridimensional ordenado e repetido. Quando ondas eletromagnéticas de alta frequência alcançam comprimento de onda menor que o espaçamento interplanar dos cristais, difratam-se de acordo com leis físicas muito exatas. Os ângulos de difração nos permitem descrever a estrutura dos cristais com alto grau de precisão e de segurança.

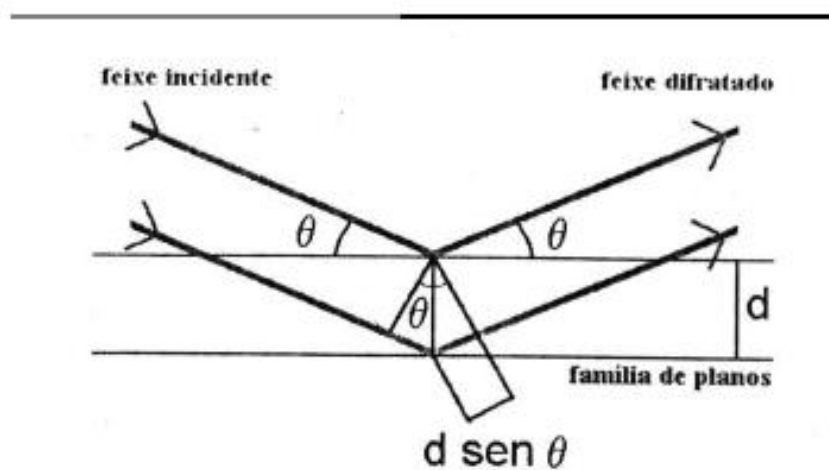
Comumente, para a realização de análise por meio de DRX, empregam-se amostras na forma de pó muito fino do material em estudo. Não sendo possível a

utilização na forma de pó, pode-se também empregar amostras que possuam superfícies planas e polidas.

Kinast (2000) relata que os elementos básicos da técnica de DRX são constituídos de um feixe incidente na amostra. Ele servirá de rede de difração. O feixe difratado está representado na Figura 1.

Para a análise dos difratogramas são utilizados métodos de refinamento tal como o método Rietveld, que é utilizado para a caracterização estrutural do material em estudo (KINAST, 2000).

Figura 1 - Representação esquemática da DRX.



Fonte: KINAST, 2000.

A análise por DRX promove exame minucioso dos compostos cristalinos, sobretudo, quanto à distribuição espacial, necessitando-se, previamente, à DRX, realizar investigação dos elementos do material em estudo, por meio de outros ensaios específicos tais como o de Espectroscopia de Raios-X por Dispersão de Energia (CATTELL et al., 2001; DELLA BONA, ANUSAVICE, 2002).

Gonçalves (2010) caracterizou o esmalte humano normal e fluorótico por meio da DRX por Síncroton, concluindo que é técnica poderosa no estudo da cristalografia e da microestrutura do esmalte dental. Além disso, pode ser utilizada em outros tecidos biológicos mineralizados e em biomateriais sintéticos.

A DRX apresenta, inclusive, a possibilidade de detectar variações na estrutura de cristais. Reyes-Gasga, Martinez-Piñeiro, Bres (2012) discutiram a possibilidade da hidroxiapatita ser formada por duas fases: uma hexagonal; outra, monoclinica. Concluíram estar presente, somente, a fase hexagonal. Neste estudo, discutiu-se também a presença de elementos como Na, Mg, Cl e C, que não fazem parte da fórmula clássica da hidroxiapatita.

Jalevik et al. (2000), utilizaram microanálise por raios-x para analisar elementos presentes no esmalte humano normal e no hipomineralizado. Essa técnica é, particularmente, útil no estudo de rotina de elementos da matriz, tais como na investigação do fósforo (*P*), do carbono (*C*) e na do cálcio (*Ca*). Em última análise, esses pesquisadores relataram encontrar no esmalte hipomineralizado maiores concentrações de *C*, menores de *P* e de *Ca*.

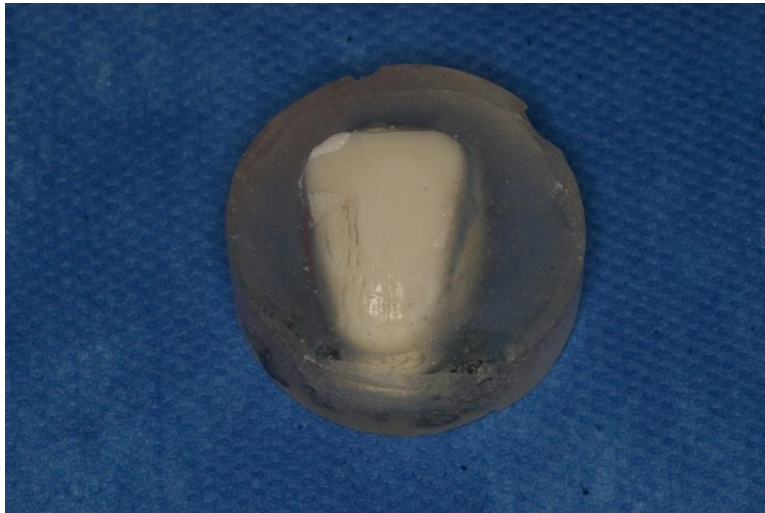
1.2 OBJETIVO

Quantificar a presença de estrutura cristalina da hidroxiapatita nos dois tecidos estudados por meio da técnica de difratometria de raios-x.

1.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram confeccionadas 10 amostras de esmalte dental bovino (incisivos permanentes inferiores) e 10 amostras de esmalte humano (molares e caninos permanentes). As coroas dos elementos dentais foram separadas de suas raízes com o uso de pontas diamantadas (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) refrigeradas com água/ar em alta rotação (Kavo, Chapecó, SC, Brasil), a seguir foram embutidas em resina acrílica autopolimerizável Jet (Artigos Odontológicos Clássico Ltda - São. Paulo – SP, Brasil), polidas em politriz com lixas de granulação 600 a 1200 (3M do Brasil, Campinas, SP, Brasil), para obtenção de superfícies planas (MONASKI, TAYLOR, 1971; KAPCZINSKI, KINAST, SANTOS, 2000; TURSSI et al., 2010). Essas amostras foram utilizadas nas caracterizações da dureza, sonda EDS e microscopia eletrônica de varredura. Para a realização da DRX, removeu-se o esmalte incisal dos elementos dentais com a utilização de pontas diamantadas sem o uso de refrigeração. Desse modo, foi obtido pó necessário para a análise, sendo confeccionadas duas amostras de pó: uma de esmalte bovino; outra, de esmalte humano (REYES-GASGA et al., 2012).

Figura 2_Amostra de esmalte embutida em resina - utilizada para testes de microscopia eletrônica de varredura, sonda e EDS e teste de microdureza KNOOP.



Fonte: do autor

1.4 TESTE DE DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X (DRX)

Os difratogramas foram obtidos com o uso de um difratômetro Siemens D500, operando nas seguintes condições: 1s por ponto e separação de $0,05^\circ$ entre pontos, na faixa de 5° a 100° . Foram utilizadas as radiações $K\alpha$ do cobre $\lambda(K_{\alpha 1})=1,54056 \text{ \AA}$ e $\lambda(K_{\alpha 2})= 1.54439 \text{ \AA}$. A análise estrutural a partir dos dados experimentais foi feita com o programa FULLPROF (RODRIGUES, CARVAJAL, 1993; KINAST, 2000) Esse software pode ser obtido com licença livre a partir do site: <http://www.ill.eu/sites/fullprof/>. Essa análise estrutural é do tipo “refinamento” ou *ab initio*, o que significa que valores iniciais próximos dos parâmetros de rede e das posições atômicas devem ser refinados para a sua estimativa final. Para esses ajustes cristalográficos, foram utilizados os valores iniciais do trabalho de Wilson *et al.* 1999; descritos para a estrutura ideal da hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

De acordo com Naiki *et al.*, 2000, a cristalinidade (x_c) de uma amostra analisada pode ser estimada de acordo com a fórmula:

$$x_c = \frac{A_c}{A_c + A_A}$$

Na qual A_c e A_A são as áreas dos picos cristalinos e amorfos, determinados computacionalmente no gráfico da difração. Entretanto, por envolverem interpolações matemáticas com o “erro de fundo” dos picos de raios-X, os erros envolvidos na determinação da cristalinidade podem chegar a 10%. Assim, estas estimativas devem ser, prioritariamente, consideradas para comparar as amostras entre si, mais do que os seus valores absolutos.

A qualidade das análises realizadas são verificadas com os chamados “fatores de qualidade de ajuste Rietveld”, denominados pelos símbolos R_{wp} e R_B (Rietveld, 1969). As fórmulas destes fatores são:

$$\text{Fator R ponderado de ajuste } R_{wp} = 100 \left[\frac{\sum_i w_i |y_i(\text{obs}) - y_i(\text{calc})|^2}{\sum_i w_i |y_i(\text{obs})|^2} \right]^{1/2}$$

$$\text{Fator R de Bragg } R_B = 100 \frac{\sum_k |I_k(\text{obs}) - I_k(\text{calc})|}{\sum_k |I_k(\text{obs})|}$$

Os valores destes fatores são fornecidos pelo programa de refinamento ao final dos cálculos numéricos. Quanto menores forem estes valores, melhor será o ajuste numérico dos parâmetros e, conseqüentemente, mais confiáveis são os resultados apresentados. Tipicamente, valores de R_{wp} abaixo de 20% e de R_B abaixo de 5% são tidos como adequados para as análises.

1.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

A caracterização das amostras foi realizada por meio dos testes de microdureza, de microscopia eletrônica de varredura e de análise de energia dispersiva EDS.

1.5.1 Microdureza

O teste de microdureza Knoop foi realizado com o Indentador Knoop Shimadzu HMV2 (*Shimadzu Corporation*, Kyoto, Japão) com a carga de 200g durante 15 segundos. Tres medidas foram realizadas em cada amostra e o valor médio do grupo foi calculado (SHORTALL, HU, MARQUIS; 2002).

A dureza Knoop é calculada por meio da equação:

$$HK = \frac{1.450,6 \cdot 10^3 \cdot F}{l^2} \cdot 9,807$$

Em que:

HK = Dureza Knoop em MPa

F = Carga aplicada em N (1,961N = 200gf)

l = Comprimento da diagonal maior da impressão, em mm

1.5.2 Microscopia eletrônica de varredura e análise de energia dispersiva EDS

A análise topográfica superficial e a composição de cada amostra foi realizada com microscópio eletrônico de varredura JEOL 5800 (JEOL, Tóquio, Japão) equipado com recurso de sonda de energia dispersiva (EDS). A voltagem utilizada foi de 15kV e o *spot size* 0.78 mm².

1.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizado o Teste de Shapiro-Wilk, no qual as variáveis demonstraram distribuição normal. Seguente a isso, efetuou-se o teste t para amostras independentes.

1.7 LABORATÓRIOS PARA DESENVOLVIMENTO DO PROJETO

Laboratório Mössbauer, Instituto de Física, UFRGS e Laboratório de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia, UFRGS.

1.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Os dentes humanos utilizados foram obtidos por meio de doações do Banco de Dentes da FO-UFRGS. Destaca-se que foram extraídos ou por indicações ortodônticas ou por periodontais. Os elementos dentais bovinos também foram obtidos por meio de doação a partir de gado de abate do Frigorífico do Sul, de Rincão do Sobrado/RS, CISPOA número 274. Não há, portanto, procedimento específico envolvendo contato direto com animais ou seres humanos que seja realizado pelos pesquisadores visando à execução do projeto. A anuência do Comitê de Ética seguiu os trâmites vigentes. O projeto aprovado e cadastrado, recebendo o CAAE: 029979 1 2.0.0000.5347, número do parecer: 55852 Plataformas Brasil - Ministério da Saúde Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Pró-Reitoria de Pesquisa – PROPESQ (Anexo 1).

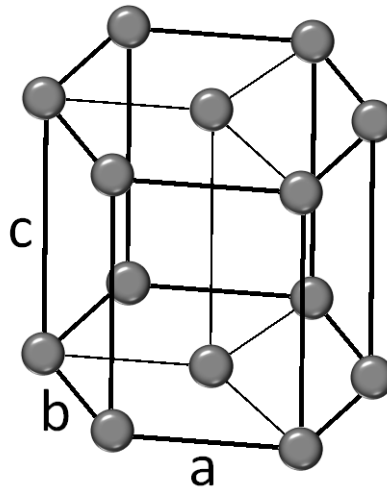
1.9 RESULTADOS

Nos itens seguintes, estão citados os resultados dos testes de Difratomia de Raios-X, Sonda de Energia Dispersiva EDS, Microdureza Knoop, Microscopia Eletrônica de Varredura.

1.9.1 Difratomia de raios-x

Os cristais das duas amostras foram identificados como sendo de hidroxiapatita, de cuja simetria espacial segue padrão hexagonal tal como o da Figura 3.

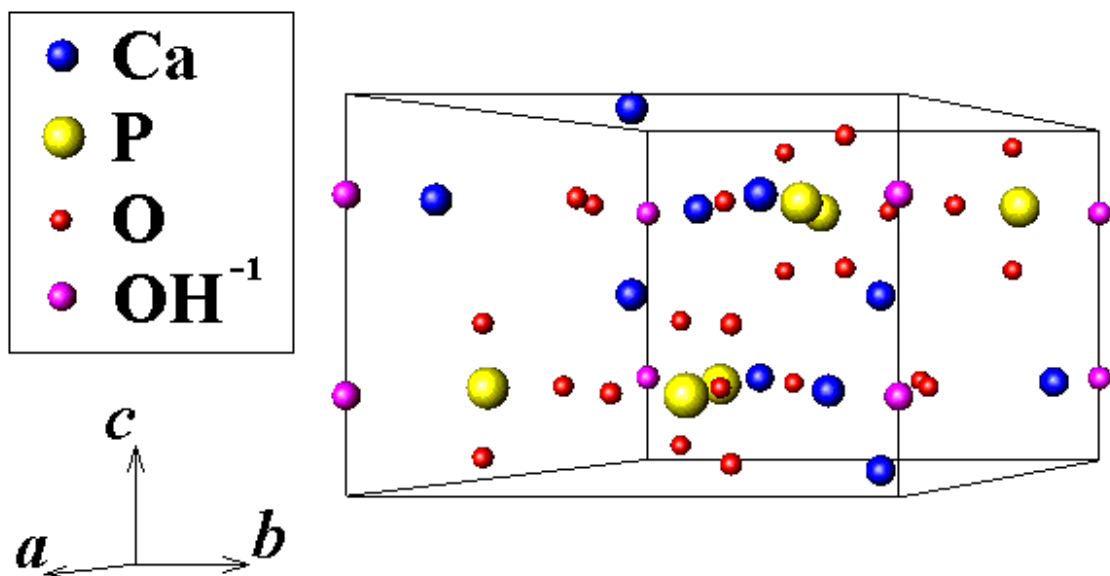
Figura 3– Estrutura cristalográfica hexagonal. Os parâmetros de rede a , b e c também aparecem indicados.



Fonte: KINAST, 2000.

A Figura 4 apresenta a estrutura cristalina da hidroxiapatita identificada no esmalte dental; os elementos constituintes e o sistema de eixos cristalinos aparecem nesta imagem. Esta estrutura é repetida “em espelho” nos cristais que constituem a hidroxiapatita e representa 1/3 da estrutura hexagonal. Destaca-se que o programa Fullprof identifica cálcio, potássio e hidroxilas mas não o hidrogênio isolado.

Figura 4– Estrutura cristalina da hidroxiapatita do esmalte dental.



Fonte: KINAST, 2000.

O quadro 1 mostra os parâmetros de rede obtidos da amostra #1 (esmalte humano) e #4 (esmalte bovino) e o quadro 2 mostra o nível de cristalinidade de cada um, sendo que ambos tecidos apresentaram 95% de cristalinidade.

Quadro 1 – Parâmetros de rede e fatores de qualidade de ajuste obtidos.

| Amostra | a* (Å) | c* (Å) | R _{wp} (%) | R _B (%) |
|--|----------|----------|---------------------|--------------------|
| Amostra #1 – pó de esmalte dental bovino | 9,448(2) | 6,883(4) | 19,9 | 0,5 |
| Amostra #4 – pó de esmalte dental humano | 9,445(0) | 6,881(0) | 15,1 | 1,3 |

* Os números entre parênteses indicam a casa decimal com incerteza de um desvio-padrão ($\pm\sigma$).

Fonte: do autor.

Os valores de R_{wp} próximos (ou abaixo) de 20% e de R_B próximos (ou abaixo) de 5% são considerados adequados para as análises. Neste trabalho, todos os fatores apresentaram essa característica, indicando confiabilidade dos resultados.

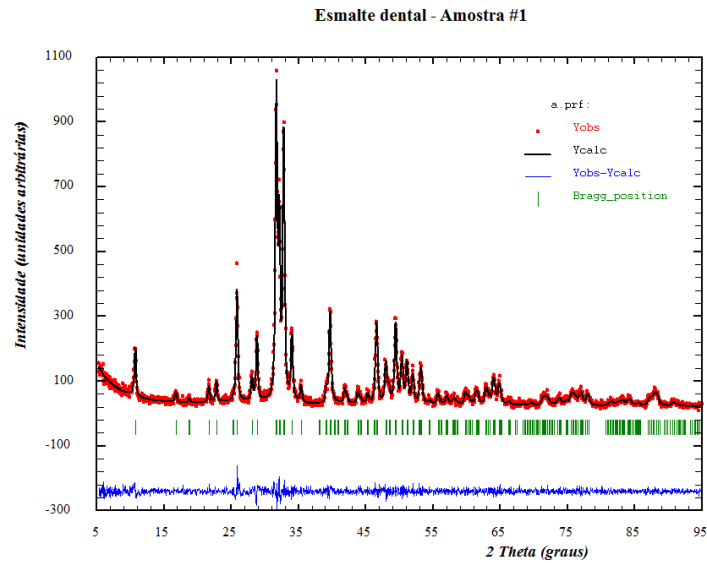
Quadro 2 – Fração cristalina das amostras.

| Amostra | Cristalinidade* |
|--|-----------------|
| Amostra #1 – pó de esmalte dental bovino | 95 % |
| Amostra #4 – pó de esmalte dental humano | 95 % |

* os erros podem chegar a 10%.

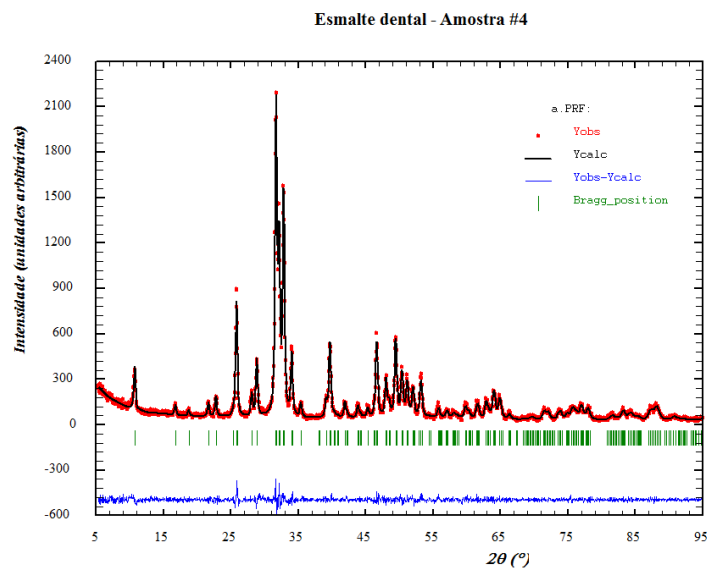
Fonte: do autor.

Gráfico 1 – Gráfico da análise Rietveld dos dados gerados pela difração de raios-X da amostra #1 (pó de esmalte bovino).



Fonte: do autor.

Gráfico 2– Gráfico da análise Rietveld dos dados gerados pela difração de raios-X da amostra #4 (pó de esmalte humano).



Fonte: do autor.

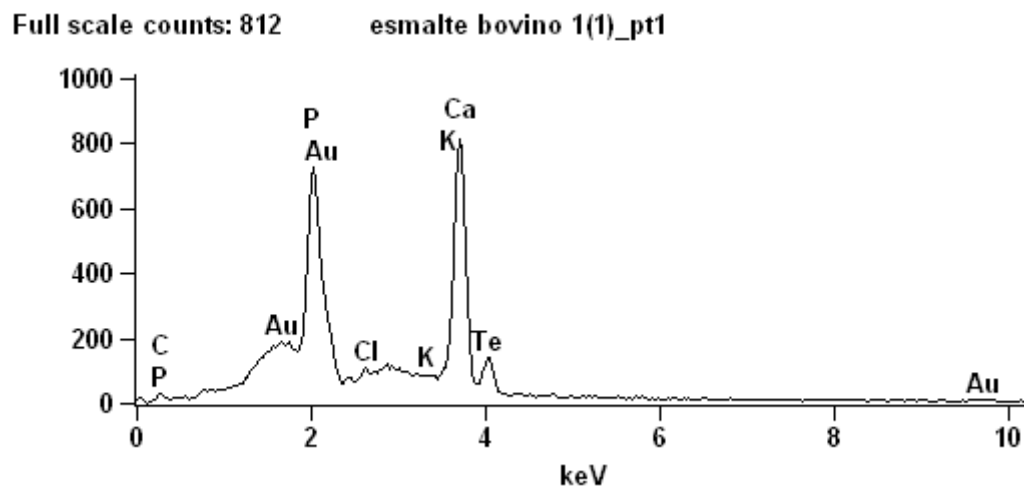
1.9.2 Sonda de energia dispersiva (EDS)

As composições dos materiais observadas por meio da sonda EDS estão apresentadas na Tabela 1. O esmalte dental humano apresentou os elementos *P* (fósforo), *C* (carbono), *Ca* (cálcio), *K* (potássio) e *Au* (ouro) – ao qual se atribui presença devido à metalização da superfície da amostra necessária para essa análise; o esmalte bovino exibiu os elementos *C*, *K*, *P*, *Ca*, *Au*, *Te* (telúrio) e *Cl* (cloro). Os gráficos 3 e 4 resultantes a partir da sonda EDS para cada material estão ilustrados nas figuras para o esmalte dental bovino e para o humano, respectivamente.

Tabela 1– Composição química dos materiais estudados.

| Material | Composição (% do peso) | | | | | | |
|----------|------------------------|------|-------|-------|------|------|------|
| | P | C | Ca | Au | Te | Cl | K |
| E Bovino | 15,22 | 9,22 | 36,07 | 34,43 | 3,07 | 0,82 | 0,17 |
| E Humano | 14,28 | 11,0 | 38,65 | 36,01 | - | - | 0,07 |

Gráfico 3- EDS do Esmalte Bovino

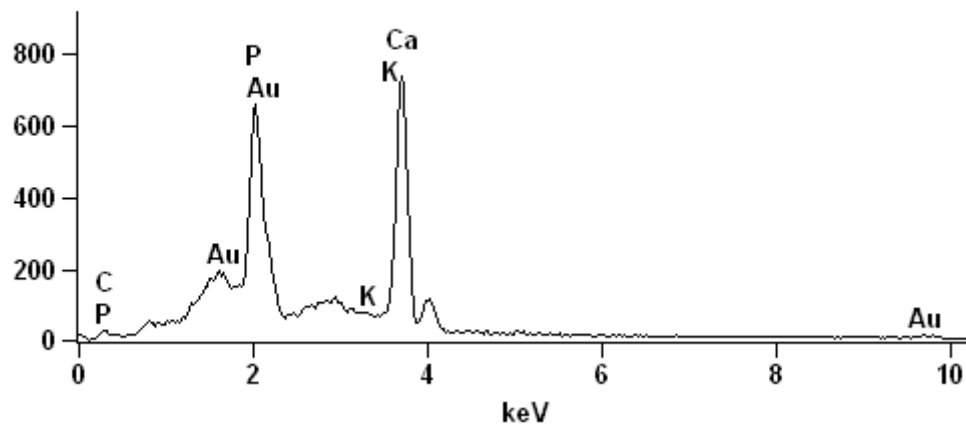


Fonte: do autor.

Gráfico 4- EDS do Esmalte Humano

Full scale counts: 735

esmalte humano 1(3)_pt1



Fonte: do autor.

1.9.3 Microdureza Knoop

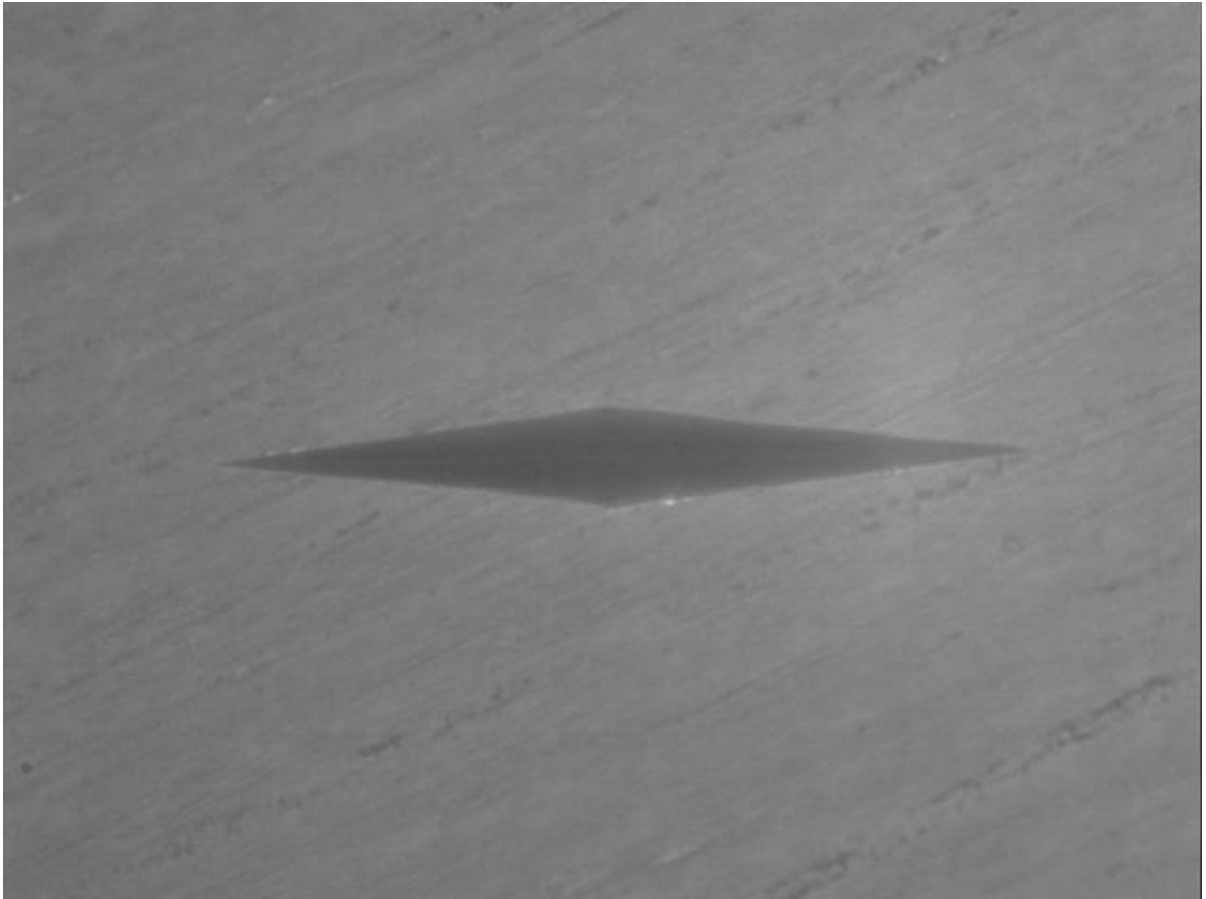
No teste de microdureza Knoop, o esmalte dental humano apresentou o valor médio de $349,9 \pm 9,09$, e o esmalte dental bovino o valor médio de $289,2 \pm 14,34$. Na tabela 2 são apresentados os resultados com os respectivos desvios padrões. As variáveis relativas ao esmalte dental humano e esmalte dental bovino são diferentes significativamente entre si, sendo a média do grupo de esmalte dental humano significativamente superior, com $\alpha < 0,05$.

Tabela 2 – Valores de Microdureza Knoop dos materiais estudados. Aparecem separados os dois conjuntos de valores dentro dos quais são observadas diferenças estatísticas, $\alpha < 0,05$.

| Material | Microdureza Knoop kgf/mm ² | Desvio Padrão |
|-------------------------|--|---------------|
| E Humano ^(A) | 349,09 | 9,09 |
| E Bovino ^(B) | 289,2 | 14,34 |

Na Figura 5, pode ser observada a marca do indentador Knoop sobre a superfície do esmalte bovino.

Figura 5: Marca do indentador Knoop sobre o esmalte:

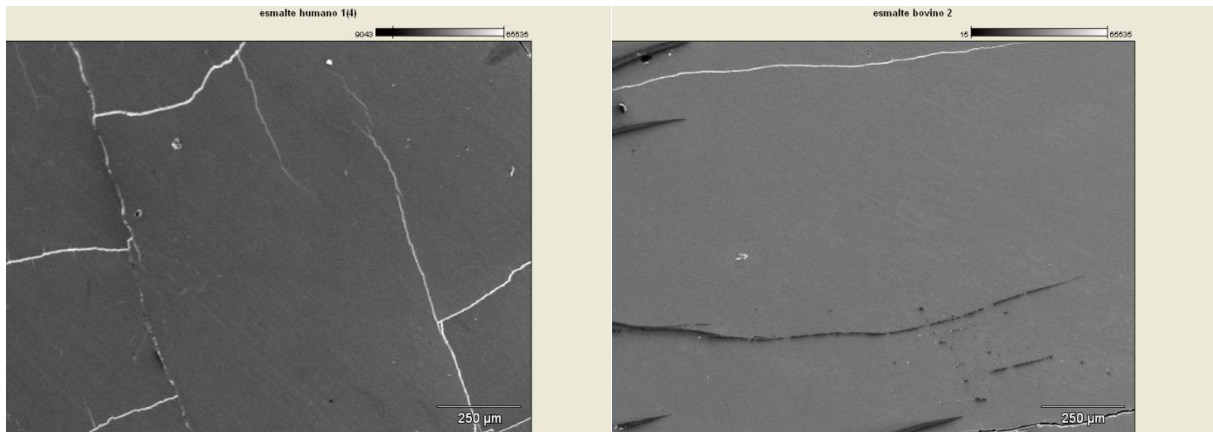


Fonte: do autor.

1.9.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras observadas em 250 aumentos (Figura 6) mostram textura lisa, pouco riscamento e algumas trincas que podem ser atribuídas à técnica de processamento. A lisura superficial é muito similar nas duas imagens.

Figura 6- Imagens do esmalte bovino e do humano em aumento de 250x.



Fonte: do autor.

2 DISCUSSÃO

Considerando-se os resultados encontrados neste estudo, do ponto de vista da cristalinidade, o esmalte humano e o bovino são similares, estruturalmente, em acordo com a análise obtida por meio do software Fullproof, que refina segundo o método de Rietveld (1969) e de Rodriguez-Carvajal (1993). Os parâmetros de rede utilizados para a definição dos espaços interplanares nos cristais de hidroxiapatita apresentaram os seguintes valores para o esmalte humano: $A=9,441$; $C=6,881$ e os fatores de qualidade de ajuste $R_W=15$ e $R_B=1,3$. Esses valores estão em acordo com o descrito por Schuh et al. (2005). Destaca-se, no presente estudo, o fato do ângulo de varredura da amostra (2θ) ter sido realizado de 5° a 100° , o qual confere grande confiabilidade aos resultados obtidos, acordando com Reyes-Gasga et al. (2012). A estrutura cristalográfica encontrada foi a hexagonal. Esse achado corrobora com o descrito pela maioria dos autores. A fase monoclinica da hidroxiapatita relatada em alguns trabalhos parece estar relacionadas com os estágios iniciais da biomineralização, na qual o fosfato octacálcico, fase precursora da hidroxiapatita, poderia gerar, nos difratogramas, os picos identificados como estruturas cristalográficas monoclinicas (BROWN et al., 1962; REYES-GASGA, 2012).

A fórmula clássica da hidroxiapatita $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ não limita a presença somente desses elementos quando feita análise por EDS ou por microanálise de raios-x, visto que os elementos *Na*, *C*, *Cl*, *K*, *P*, *Mg* (*magnésio*) e *Sr* (*estrôncio*) também foram encontrados em pequenas quantias incorporados à matriz ou como contaminantes da amostra (JALEVIK et al., 2001; SCHUH, 2005; REYES-GASGA, 2012). Nesse estudo, foram encontrados, no esmalte humano, os elementos químicos *P*, *C*, *Ca*, *K*, *Au*; no esmalte bovino, *C*, *K*, *P*, *Ca*, *Te*, *Cl* e *Au*. Nota-se que um elemento importante, o oxigênio (*O*), não foi detectado e que o *Au*, elemento não pertencente a composição do esmalte dental, obteve presença notável em termos percentuais (34,43% esmalte bovino e 36,01% no esmalte humano) atribuída à metalização prévia da amostra (BALZARETTI, 2012). Ademais, essa alteração ocorreu devido há alguns elementos conterem pesos atômicos semelhantes. Refinamento nos arquivos digitais de EDS possibilitará a requantificação dos elementos, bloqueando ao *software* do microscópio a inclusão de contaminantes, tais como o *Te*, *Cl*.

A microdureza dos dois tipos de esmalte foi diferente ($\alpha < 0,05$), sendo os valores médios para o esmalte bovino $289,2 \pm 14,34$ e para o humano $349,9 \pm 9,09$. Pode ser considerado, nesse resultado, que os dados encontrados para o esmalte humano estão em acordo com os trabalhos de Donassolo et al., 2007; Schuh et al., 2005. No entanto, a microdureza do esmalte bovino e do humano foi comparável ao obtido nos trabalhos de Reeh (1995) e de Donassolo et al. (2007), se forem consideradas as variações do desvio padrão desses autores. Na literatura consultada, os trabalhos não mostraram consenso relativo à microdureza do esmalte entre humanos e bovinos. Pode ser aventada à hipótese de que as diferenças histológicas justifiquem a diferença dos resultados. Boyde (1965) relata que esses dois tecidos tem mesma orientação cristalina e diferente arranjo prismático. Whitaker, Green (1988) encontraram áreas interprismáticas um pouco mais largas no esmalte bovino.

Na análise qualitativa em microscopia eletrônica de varredura, utilizando 250 aumentos, não foi notada diferença entre as duas superfícies. Putt, Kleber (1980) relataram a mesma resposta frente a condições iguais de polimento, indicando similaridade na resposta superficial.

Ademais, vis-à-vis aos poucos estudos disponíveis, sugerem-se pesquisas adicionais que utilizem a técnica de DRX e que investiguem, conjuntamente, dentes decíduos e tecido dentinário.

3 CONCLUSÃO

Em comparação, considerando-se as limitações deste estudo, a análise por difratometria de raios-x do esmalte dental humano e do bovino mostrou equivalente estrutura cristalográfica hexagonal e grau de cristalinidade em ambas amostras minerais dessas espécies.

REFERÊNCIAS

- ATTIN T, WEGEHAUPT F, GRIES D, WIEGAND A. The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel :erosion abrasion experiments. *J Dent.* 2007 Oct;35(10):773-7.
- BHASKAR SN. *Histologia e embriologia oral de Orban.* 8. ed. Porto Alegre (RS): Artes Médicas; 1978.
- CATTEL MJ, CHADWICK TC, KNOWLES JC, CLARKE RL, LYNCH E. Flexural strength optimization of a leucite re inforced glass ceramic. *Dent Mater.* 2001 Jan; 17(1): 21-33.
- DELLA BONA A, ANUSAVICE KJ. Microstructure, composition and etching topography of dental ceramics. *Int J Prosthodont.* 2002 Mar-Apr; 15(2):159-67.
- EISEMBURGER M, ADDY M. Erosion and attrition of human enamel in vitro. Part II influence of time and loading. *J Dent.* 2002 Sep-Nov; 30(7-8):349-52.
- GONÇALVES MVC. Aplicação da técnica de difração de raios x usando luz síncrotron para caracterização de esmalte dentário humano fluorótico e de controle. 2010. 97 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Física Armando Dias Tavares. 2010.
- KAPCZINSKI MP, GIL C, KINAST EJ, SANTOS CA dos. Surface modification of titanium by plasma nitriding. *Mater Res.* 2003; 6 (2): 265-71.
- KINAST EJ. Refinamento estrutural com o método rietveld: aplicações e ensaios com o programa fullprof. 2000. 89f. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física – Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2000.
- KREJCI I, ALBERT P, LUTZ, F. The influence of antagonist standardization on wear. *J Dent Res.* 1999 Feb;78(2):713-9.
- MATOS IC, SAB TB, JULIBONI NC, GUERRA RF, MIRANDA MS. Utilização de dentes bovinos como possível substituto aos dentes humanos nos testes in vitro: revisão de literatura. *UFES Rev Odontol.* 2008; 10(2):58-63.
- MONASKI GE, TAYLOR DF. Studies on the wear of porcelain, enamel, and gold. *J Prosthet Dent.* 1971 Mar; 25(3):299-306.
- NANCI, A. *Tem Cate Histologia Oral.* 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
- PUTT MS, KLEBER CJ, MUHLER JC. A comparison of the polishing properties of human and bovine enamel. *J Dent Res.* 1980 Jul; 59(7):1177.
- REEH ES, DOUGLAS WH, LEVINE MJ. Lubrication of saliva substitutes at enamel-to-enamel contacts in an artificial mouth. *J Prosthet Dent.* 1996 June;75(6):649-56.

REIS AF, GIANNINI M, KAVAGUCHI A, SOARES JC, LINED SRP. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth J Adhes Dent. 2004 Summer; 6 (2):117-21.

REYES-GASGA J, MARTÍNEZ-PIÑEIRO EL, BRÈS EF. Crystallographic structure of human tooth enamel by electron microscopy and x-ray diffraction: hexagonal or monoclinic? J Microsc. 2012 Oct;248(1):102-9.

RIETVELD HM. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. J Appl Cryst 1969;2:65-71.

RODRIGUEZ-CARVAJAL J. Recent advances in magnetic-structure determination by neutron powder diffraction. J Physica B 1993;192:55-69.

SHORTALL AC, HU XQ, MARQUIS PM. Potential counter sample materials for in vitro simulation wear testing. Dent Mater. 2002 May;18(3):246-54.

SCHUH C, KINAST EJ, MEZZOMO E, KAPCZINSKI MP. Effect of glazed and polished surfaces finishes on the coefficient of friction on two low fusing ceramics. J Prosthet Dent. 2005 Mar; 93(3):245-52.

TURSSI CP, MESSIAS DF, CORONA SM, SERRA MC, Viability of using enamel and dentin from bovine origin as a substitute for human counterparts in an intraoral erosion model. Braz Dent J. 2010; 21(4):332-6.

VAN VLACK, L. Princípios de Ciência e Tecnologia dos Materiais. 3. ed. Rio de Janeiro: Campus; 1984.

WEGEHAUPT FJ, WIDMER R. Is bovine an appropriate substitute in abrasion studies? Clin Oral Investig. 2010 Apr; 14(2):201-5.

WHITE AJ, YORATH C, ENGEL V, LEATY SD, HUYSMANS MC, BARBOUR ME. Human and bovine enamel erosion under single drink conditions. Eur J Oral Sci. 2010 Dec;118(6):604-9.

WILSON RM, ELLIOTT JC, DOWKER SEP. Rietveld refinement of the crystallographic structure of human dental enamel apatites. Am Miner 1999;84:1406-1414.