

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

CLARISSA GEWEHR STEGUES

EFEITO DA MALTODEXTRINA E SUA ASSOCIAÇÃO COM A SACAROSE NA
ACIDOGENICIDADE E CRESCIMENTO DE STREPTOCOCCUS MUTANS E
LACTOBACILLUS CASEI IN VITRO

Porto Alegre
2014

CLARISSA GEWEHR STEGUES

EFEITO DA MALTODEXTRINA E DA SUA ASSOCIAÇÃO COM A SACAROSE NA
ACIDOGENICIDADE E CRESCIMENTO DE STREPTOCOCCUS MUTANS E
LACTOBACILLUS CASEI IN VITRO

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: Prof^a. Dr^a Lina Naomi Hashizume

Porto Alegre
2014

CIP - Catalogação na Publicação

Stegues, Clarissa Gewehr

Efeito da maltodextrina e da sua associação com a sacarose na acidogenicidade e crescimento de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei* in vitro.

/ Clarissa Gewehr Stegues. -- 2014.

24 f.

Orientadora: Lina Naomi Hashizume.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre,
BR-RS, 2014.

1. Microbiologia. 2. Sacarose. 3. Amido. 4. Cárie
dentária. I. Hashizume, Lina Naomi, orient. II.

Título.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, e minha família por ter me dado todo apoio e incentivo para que este sonho fosse realizado. Agradeço também ao meu namorado, Rubem Oliveira por ter me incentivado em todos os momentos e me ajudado com a maior dedicação. Agradeço às pessoas que de alguma forma participaram na elaboração deste trabalho. Primeiramente, a minha orientadora Prof^a. Dr^a Lina Naomi Hashizume, por toda paciência e experiência a mim dedicada, pelo zelo e pela confiança em minha pessoa. Ao Prof^o. Dr. Rodrigo Alex Arthur, por todo conhecimento compartilhado e dedicação. E também à técnica laboratorista Luisa Mercado por todos os ensinamentos, incentivos e ajuda.

RESUMO

STEGUES, Clarissa Gewehr. **Efeito da maltodextrina e da sua associação com a sacarose na acidogenicidade e crescimento de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei* in vitro.** 2014. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

A maltodextrina é um carboidrato complexo derivado da hidrólise enzimática parcial do amido de milho. Por seu grande poder adoçante é largamente encontrado em muitos alimentos industriais como fonte de carboidrato substituto do açúcar. A maltodextrina tem sido cada vez mais usada associada a outros carboidratos como a sacarose. Entretanto são poucos os estudos encontrados sobre o efeito desta associação sobre os micro-organismos cariogênicos. Portanto o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da maltodextrina e sua associação com a sacarose na acidogenicidade e crescimento de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei* in vitro. Foram utilizadas cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC-UA 159) e *Lactobacillus casei* (ATCC 4646) para a realização das análises de acidogenicidade e crescimento microbiano frente aos seguintes carboidratos: glicose, sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose. Para a análise da acidogenicidade, as culturas crescidas durante 18 horas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) foram centrifugadas e ressuspensas em 50 mM de KCl suplementado com 1 mM MgCl₂, e os carboidratos foram adicionados a uma concentração de 0,1%. Foram construídas curvas de pH e a área sob a curva (AUC) foi calculada a partir destas. Os mesmos micro-organismos foram utilizados para análise do crescimento, através da densidade ótica (DO) durante 24 horas, frente aos mesmos carboidratos na concentração de 2%. A análise da acidogenicidade para *S. mutans*, demonstrou ser menos acidogênico para maltodextrina e, mais acidogênico para os outros carboidratos ($p < 0,01$). Para *L. casei*, mostrou ser mais acidogênico na presença de glicose e menos acidogênico para os outros carboidratos ($p < 0,01$). Na comparação entre os micro-organismos *S. mutans* e *L. casei*, nos diferentes carboidratos, não houve diferença significativa na AUC para a glicose ($p > 0,05$). Entretanto, houve diferença para os carboidratos sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose ($p < 0,01$). Para o crescimento, as médias das DO para *S. mutans* nos meios contendo glicose e maltodextrina obtiveram maiores valores, enquanto que sacarose e maltodextrina associada à sacarose, obtiveram menores valores. A análise do crescimento dos *L. casei*, mostrou valores de DO semelhantes para todos os carboidratos estudados. Conclui-se que a maltodextrina é metabolizada lentamente por *S. mutans* e *L. casei*, entretanto promove crescimento microbiano e, a maltodextrina associada à sacarose possui comportamento semelhante à sacarose quanto à acidogenicidade e crescimento de *S. mutans* e *L. casei*.

Palavras-chave: Microbiologia. Sacarose. Amido. Cárie dentária.

ABSTRACT

STEGUES, Clarissa Gewehr. **Effect of maltodextrin and its association with sucrose on acidogenicity and growth of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei* in vitro.** 2014. 24 f. Final Paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

The maltodextrin is a complex carbohydrate derived from the partial enzymatic hydrolysis of corn starch. For his great sweetening power is widely found in many industrial foods as a source of carbohydrate sugar substitute. Maltodextrin has been increasingly used in association with other carbohydrates such as sucrose. However few studies have been found regarding the effect of this association on the cariogenic microorganisms. Therefore the aim of this study was to evaluate the effect of maltodextrin and its association with sucrose in acidogenicity and growth of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei* in vitro. *Streptococcus mutans* (ATCC-UA 159) and *Lactobacillus casei* (ATCC 4646) were used for the analyzes of acidogenicity and microbial growth compared to the following carbohydrates: glucose, sucrose, maltodextrin and maltodextrin associated with sucrose. For the analysis of acidogenicity, the cultures grown for 18 hours in Brain Heart Infusion (BHI) were centrifuged and resuspended in 50 mM KCl supplemented with 1 mM MgCl₂, and carbohydrates were added to a 0.1% concentration. Areas under curves (AUC) were calculated from pH curves. The same micro-organisms were used for growth analysis by optical density (OD) for 24 hours, compared to the same carbohydrates on 2% concentration. The analysis of *S. mutans* acidogenicity demonstrated to be less acidogenic to maltodextrin and more acidogenic to other carbohydrates ($p < 0.01$). *L. casei*, was more acidogenic in the presence of glucose and less acidogenic to other carbohydrates ($p < 0.01$). Comparing the micro-organisms *S. mutans* and *L. casei*, in different carbohydrates, there was no significant difference in AUC for glucose ($p > 0.05$). However, difference was observed for sucrose, maltodextrin and maltodextrin associated with sucrose ($p < 0.01$). For growth, the DO average for *S. mutans* in a culture media containing glucose and maltodextrin had higher values, whereas sucrose and maltodextrin associated with sucrose, had lower values. The analysis of *L. casei* growth showed OD values similar for all carbohydrates studied. It follows that the maltodextrin is metabolized more slowly than glucose by *S. mutans* and *L. casei* however promotes microbial growth and, maltodextrin associated with sucrose has similar behavior to sucrose regarding the acidogenicity and growth of *S. mutans* and *L. casei*.

Keywords: Microbiology. Sucrose. Starch. Dental caries.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 OBJETIVO	8
2.1 OBJETIVO GERAL.....	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3 MATERIAIS E MÉTODOS	9
3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	9
3.2 LOCAL DE ORIGEM E REALIZAÇÃO DA PESQUISA	9
3.3 MICRO-ORGANISMOS UTILIZADOS	9
3.4 CARBOIDRATOS UTILIZADOS	9
3.5 ANÁLISE DA ACIDOGENICIDADE MICROBIANA	9
3.6 ANÁLISE DO CRESCIMENTO MICROBIANO	10
3.7 PROCESSAMENTO DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	11
4 RESULTADOS	12
5 DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÃO.....	22
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
REFERÊNCIAS	24

1 INTRODUÇÃO

O amido é produzido pelos vegetais como reserva energética. É constituído por uma mistura de dois tipos de polímeros: amilose e amilopectina, polímeros de glicose. Pode ser encontrado em grãos de cereais (arroz, milho, trigo), em raízes (mandioca) e tubérculos (batata). Os amidos naturais são utilizados nos alimentos porque regulam e estabilizam a textura e por suas propriedades espessantes e gelificantes, porém frequentemente não são os mais adequados para processamentos específicos, já que a estrutura nativa do amido pode ser pouco eficiente devido as condições do processo (por exemplo: temperatura, pH e pressão) que limitam seu uso em outras aplicações industriais. Para atender as necessidades na produção industrial de alimentos, amidos modificados ou hidrolisados são produzidos através de métodos químicos, físicos ou enzimáticos. Incluem um importante número de produtos como glicose, maltose, maltotriose, maltodextrinas, frutose, ciclodextrinas, etc. Os hidrolisados apresentam propriedades físicas, funcionais, energéticas e organolépticas que são características de cada tipo de produto. (MARCHAL, 1999; MONTES et al., 2008).

A maltodextrina é um carboidrato complexo derivado da hidrólise enzimática parcial do amido de milho, passando por processo de secagem para obtenção do pó. Eles contêm geralmente glicose, maltose, maltotriose e elevados polímeros de glicose, dependendo do grau e método de hidrólise. Por seu grande poder adoçante é largamente encontrado em muitos alimentos industriais como fonte de carboidrato substituto do açúcar. Podemos encontrar a maltodextrina como ingrediente, por exemplo, de barra de cereais, bolachas, sucos, sopas e fórmulas infantis. Quanto maior a concentração de sacarídeos de baixo peso molecular, maior o teor de doçura e maior a dextrose equivalente (DE). O amido equivale a uma DE zero, enquanto que a dextrose (glicose) equivale a uma DE de 100. (THOMAS; ATWELL, 1997; AL-KHATIB; DUGGAL; TUMBA, 2001).

Alguns estudos vêm demonstrando o potencial acidogênico da maltodextrina associada ou não à sacarose sobre o biofilme dental. Al-Khatib, et al. (2001), investigaram o potencial acidogênico de soluções contendo maltodextrina com diferentes DE no biofilme *in vivo*, e observaram uma queda de pH capaz de desmineralizar dentina e que também esta queda é um pouco menor do que a produzida pela sacarose. Meyerowitz et al. (1996), estudaram os efeitos sobre o pH da placa do uso de adoçantes artificiais (sucralose) sozinho ou com maltodextrina ou com maltodextrina e dextrose em chá gelado. O estudo concluiu que quando a maltodextrina ou maltodextrina e dextrose são adicionados nos produtos, eles se

tornam acidogênicos. Outro estudo avaliou a acidogenicidade de fórmulas infantis a base de leite (lactose e maltodextrina) e soja (maltodextrina) com e sem adição de sacarose. Os autores verificaram que todos os produtos causam queda de pH e desmineralização do esmalte de dentes decíduos, resultados que são agravados quando associados à sacarose. (MAZER et al., 2010).

A doença cárie possui etiologia multifatorial e uma das principais causas é a presença de uma microbiota favorável, associada a uma dieta cariogênica. Nesta microbiota, entre os micro-organismos mais associados ao desenvolvimento das lesões cariosas estão os estreptococos do grupo mutans e os *Lactobacillus spp.* Estes micro-organismos fermentam os carboidratos da dieta alimentar (sacarose, glicose, frutose, lactose, entre outros), utilizam no seu metabolismo de energia celular e tem como consequência a produção de ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático. Esta constante produção de ácidos pelo biofilme bucal produz um desequilíbrio no processo desmineralização-remineralização da superfície dentária, prevalecendo a desmineralização dos dentes. (JOHANSS; BIRKEHED, 1995).

Uma dieta rica em carboidratos fermentáveis aumenta a produção de ácidos, bem como a taxa de crescimento destes micro-organismos que são espécies acidogênicas e acidúricas, predispondo os sítios com acúmulo de biofilme ao desenvolvimento de lesões de cárie. (LEITES; PINTO; SOUSA, 2006; FEJERSKOV; KIDD, 2011; MALTZ; JARDIM; PAROLO, 2012).

O presente estudo justifica-se pelo crescente uso de maltodextrina e de sua associação com a sacarose nos mais variados produtos para consumo alimentício disponíveis no mercado e pela escassez de estudos que abordam seus efeitos sobre a acidogenicidade e o crescimento de micro-organismos cariogênicos.

2 OBJETIVO

O Objetivo foi dividido entre objetivo geral e objetivo específico.

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo é analisar *in vitro* o efeito da maltodextrina e da sua associação com a sacarose sobre o metabolismo de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Analisar o efeito da maltodextrina e de sua associação com a sacarose na acidogenicidade de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*;

b) Analisar o efeito da maltodextrina e de sua associação com a sacarose no crescimento de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*;

c) Comparar os resultados obtidos nas análises de acidogenicidade e crescimento de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei* para maltodextrina e para sua associação com a sacarose.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os itens a seguir tratam dos materiais e métodos utilizados para a realização do presente trabalho.

3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Por se tratar de um estudo *in vitro* não foi necessário aprovação pelo comitê de ética em pesquisa.

3.2 LOCAL DE ORIGEM E REALIZAÇÃO DA PESQUISA

O estudo foi realizado no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na cidade de Porto Alegre, RS.

3.3 MICRO-ORGANISMOS UTILIZADOS

O estudo realizado utilizou cepas de micro-organismos *Streptococcus mutans* ATCC-UA 0159 e *Lactobacillus casei* ATCC 4646 cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz, RJ. Cada cepa foi devidamente reativada e cultivada para a realização do estudo *in vitro*.

3.4 CARBOIDRATOS UTILIZADOS

Para o estudo foram utilizados os seguintes carboidratos: glicose, sacarose e maltodextrina. Dentre as maltodextrinas mais comumente utilizadas na indústria alimentícia, foi escolhida para o estudo a de DE (dextrose equivalente) 13-17 (Sigma-ALDRICH, Saint Louis, EUA).

3.5 ANÁLISE DA ACIDOGENICIDADE MICROBIANA

Para medição dos valores de pH das soluções, foi seguida metodologia semelhante à usada em um estudo prévio de Arthur et al. (2011). Para avaliar a capacidade de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e *Lactobacillus casei* (*L. casei*) em baixar o pH de suspensão através da glicólise, o equivalente a meia alça de inoculação de cada bactéria foi inoculada em 3 tubos tipo falcon contendo 30 mL de solução com caldo Brain Heart Infusion (Caldo BHI) a 1% de glicose, e incubada em aerobiose a 37°C, durante 18 horas. Após esse

período de incubação, o cultivo dos 3 tubos foram reunidos em um vidro estéril, homogeneizado e 10mL deste foi distribuído em 4 tubos para *S. mutans* e 4 tubos para *L. casei*. Os 8 tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e os palets de bactéria foram ressuspensos (1 mL) em 50 mM de KCl suplementado com 1 mM MgCl₂. O conteúdo foi novamente centrifugado a 12.000 rpm por 5 minutos, removido o sobrenadante, ressuspensão em 2 mL de solução tampão fosfato a 20 mM e levados para a estufa a uma temperatura de 37°C por 1 hora. Após nova centrifugação a 12.000 rpm por 5 minutos, o sobrenadante foi removido e os palets de bactéria ressuspensos com 2 mL da solução de KCl/MgCl₂. Novamente o conteúdo foi centrifugado, descartado o sobrenadante e ressuspensão com 2 mL da solução de KCl/MgCl₂. As soluções foram então transferidas para tubos e seus pH ajustados para 7,0.

Cada microrganismo foi submetido a cada um dos seguintes carboidratos com as respectivas concentrações:

1. Glicose a 0,1%;
2. Sacarose a 0,1%;
3. Maltodextrina a 0,1%;
4. Maltodextrina a 0,1% com Sacarose a 0,1%.

Os valores de pH de cada amostra foram mensurados nos tempos 0, 5, 10, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos usando um medidor de pH (Digimed DM-22, São Paulo, Brasil) previamente calibrado com valores padrões de pH (pH 4,0 e 7,0). Em seguida foi confeccionada uma curva de pH e determinada a área sob a curva (AUC) para a queda do pH após 180 min considerando pH 3,0 como ponto de corte. Para a determinação das AUC (cm²), foi utilizado um software (UTHSCSA ImageTool-Version 3.0, EUA). Cada teste foi realizado em triplicata.

3.6 ANÁLISE DO CRESCIMENTO MICROBIANO

Para as análises de crescimento dos micro-organismos, foi utilizada metodologia semelhante ao estudo de Kontiokari, et al. (1995). Amostras de *S. mutans* e *L. casei* foram cultivadas nas soluções contendo os carboidratos estudados para avaliação do crescimento microbiano em função do tempo, através da Densidade Ótica (DO). O equivalente a duas alças de inoculação de cada bactéria foram depositadas em 100mL de caldo BHI a 1% de glicose, e cultivadas aerobicamente a 37°C por 18 horas. Os meios de cultura foram preparados com caldo BHI contendo os seguintes carboidratos:

1. Glicose a 2%;

2. Sacarose a 2%;
3. Maltodextrina a 2%;
4. Maltodextrina a 2% com Sacarose a 2%.

Foram transferidos 20 mL do inóculo cultivado de cada bactéria para os meios de cultura preparados, e colocados na estufa a 37°C. Nos tempos estipulados de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 24 horas de incubação das bactérias, foram coletadas amostras dos meios, sob agitação, para medição da DO. Cada amostra foi medida a um comprimento de onda de 550 nm com um espectrofotômetro (Spectronic 21D, Warminster, United States), contra um meio puro (branco). Para verificar a relação entre a DO e o número total de células viáveis, no tempo de 12 horas de incubação, cada amostra foi semeada em BHI ágar para quantificação de *S. mutans* e *L. casei*. As amostras coletadas foram diluídas serialmente até 10^{-7} em solução salina a 0,9% estéril. Duas alíquotas de 25 µl de cada diluição foram então semeadas em BHI ágar e as placas foram incubadas em microaerofilia a 37°C por 48 horas. Após o período de incubação, *S. mutans* (ATCC-UA 159) e *L. casei* (ATCC 4646) foram identificados e contados através de um estereomicroscópio. As contagens dos micro-organismos foram expressas em unidades formadoras de colônia por mililitro de amostra (UFC/mL amostra). As médias das DO obtidas para o crescimento microbiano foram determinadas para cada solução e microrganismo. Os experimentos foram realizados em duplicata. Treinamentos e testes piloto foram realizados previamente ao estudo.

3.7 PROCESSAMENTO DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação estatística usou para o teste de normalidade, teste de Kolmogorov-Smirnov. Para análise da acidogenicidade para *S. mutans*, foi utilizado ANOVA e teste de Tukey para as comparações entre glicose, sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose. Para *L. casei*, foi utilizado teste de Kruskal-Wallis para as comparações entre glicose, sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose. A comparação entre glicose do *S. mutans* e glicose do *L. casei* foi realizada com teste t de Student. As demais comparações entre os carboidratos foram feitas com teste U de Mann-Whitney. O nível de significância para todos os testes foi de 5% e as análises foram feitas utilizando o software BioEstat 5.3 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Brasil).

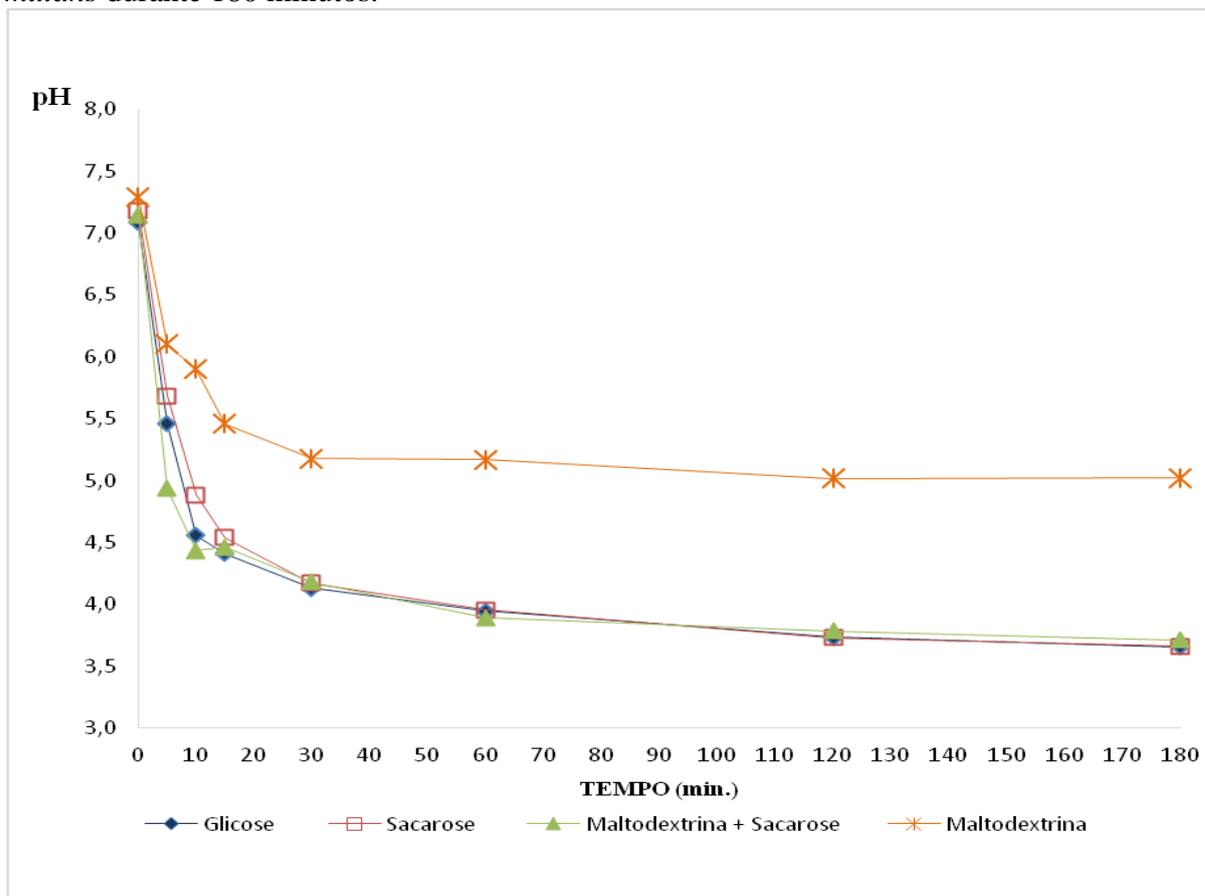
4 RESULTADOS

Para a análise da acidogenicidade, as figuras 1 e 2 mostram os valores médios das curvas de pH das amostras para *S. mutans* e *L. casei* respectivamente, durante 180 minutos, nos três experimentos realizados.

Para *S. mutans*, no meio contendo apenas maltodextrina foram observados valores de pH mais elevados do que os outros grupos (glicose, sacarose e maltodextrina associada à sacarose) apresentando um valor mínimo de 5,02 em 120 minutos de análise. À exceção da maltodextrina, os meios contendo glicose, sacarose e maltodextrina associada à sacarose apresentaram valores de pH semelhantes entre si com valores mínimos de 3,65, 3,66 e 3,77, em 180 minutos, respectivamente.

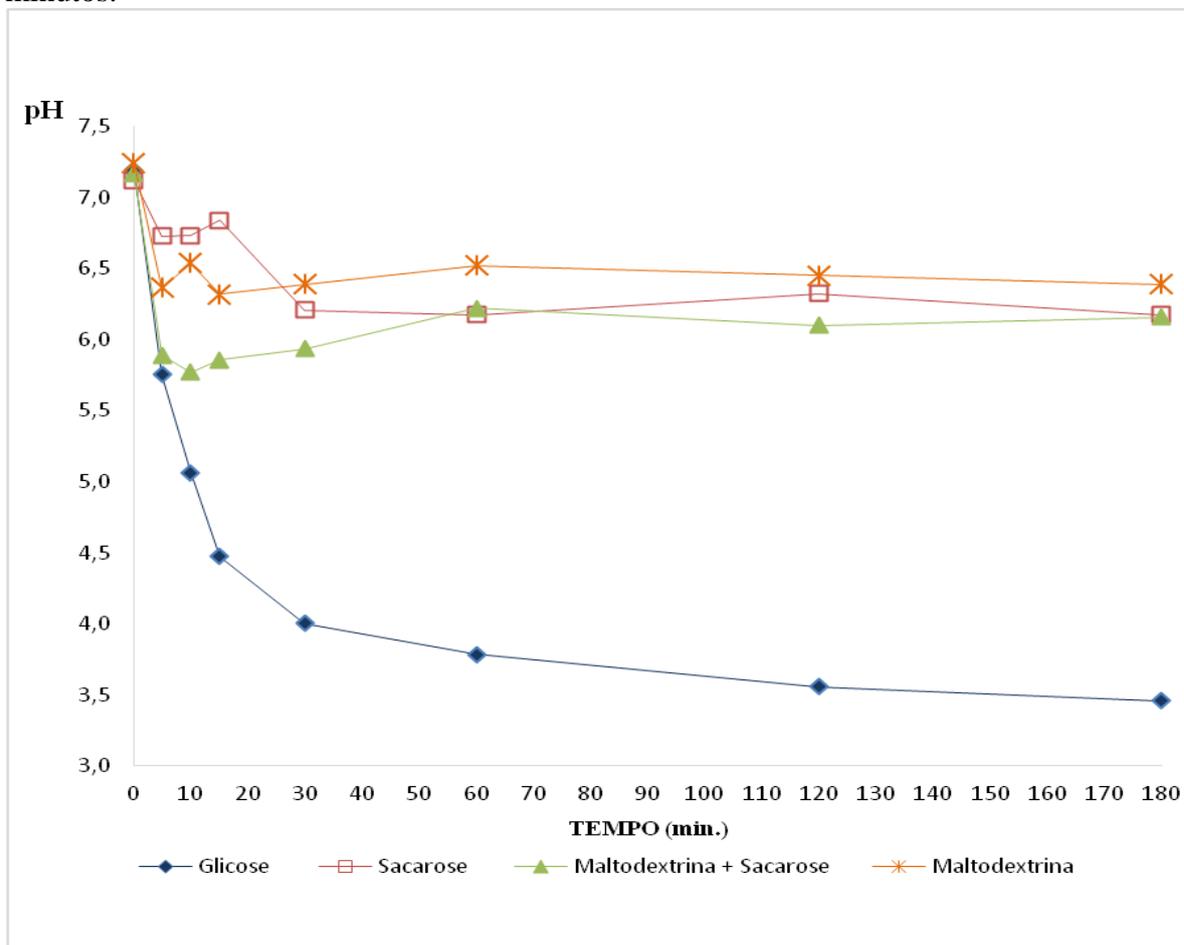
Para *L. casei*, o meio contendo glicose obteve a maior queda de pH (pH mínimo 3,46) durante 180 minutos. Os outros grupos (sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose) mantiveram valores semelhantes entre si com valores mínimos de 6,18, 6,39 e 6,16, em 180 minutos, respectivamente. O meio contendo maltodextrina associada à sacarose, obteve uma queda de pH um pouco maior, em torno de 5,86 nos primeiros 30 minutos de análise.

Figura 1-Valores médios da curva de pH dos diferentes tratamentos para *Streptococcus mutans* durante 180 minutos.



FONTE: da autora.

Figura 2-Valores médios da curva de pH dos diferentes tratamentos para *L.casei* durante 180 minutos.



FONTE: da autora.

A partir das curvas de pH foram calculadas as áreas sob a curva (AUC). A tabela 1 apresenta os resultados das médias e desvio padrão das AUC para *S. mutans* e *L. casei*. Observa-se que para *S. mutans*, o meio contendo maltodextrina como carboidrato teve sua AUC maior quando comparado com os meios contendo glicose, sacarose e maltodextrina associada à sacarose ($p < 0,01$). Não houve diferença estatística entre os meios contendo glicose, sacarose e maltodextrina associada à sacarose ($p > 0,05$).

Para *L. casei*, o meio contendo glicose teve sua AUC menor quando comparado com os meios contendo sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose ($p < 0,01$). Não houve diferença estatística entre os meios contendo sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose ($p > 0,05$).

Na comparação entre os micro-organismos *S. mutans* e *L. casei*, nos diferentes meios, não houve diferença significativa na AUC para a glicose ($p > 0,05$). Entretanto, foram verificadas diferenças nas AUC nos grupos com sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose ($p < 0,01$).

Tabela 1 Valores (média \pm desvio padrão) da AUC (cm²) de pH dos diferentes tratamentos para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*.

Solução	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
Glicose	33,22 \pm 4,18 ^{Ba*}	29,26 \pm 4,61 ^{Ba*}
Sacarose	34,18 \pm 4,15 ^{Ba**}	112,94 \pm 14,74 ^{Ab**}
Maltodextrina	74,21 \pm 4,84 ^{Aa**}	117,41 \pm 4,77 ^{Ab**}
Maltodextrina associada à sacarose	33,56 \pm 3,55 ^{Ba**}	105,60 \pm 9,62 ^{Ab**}

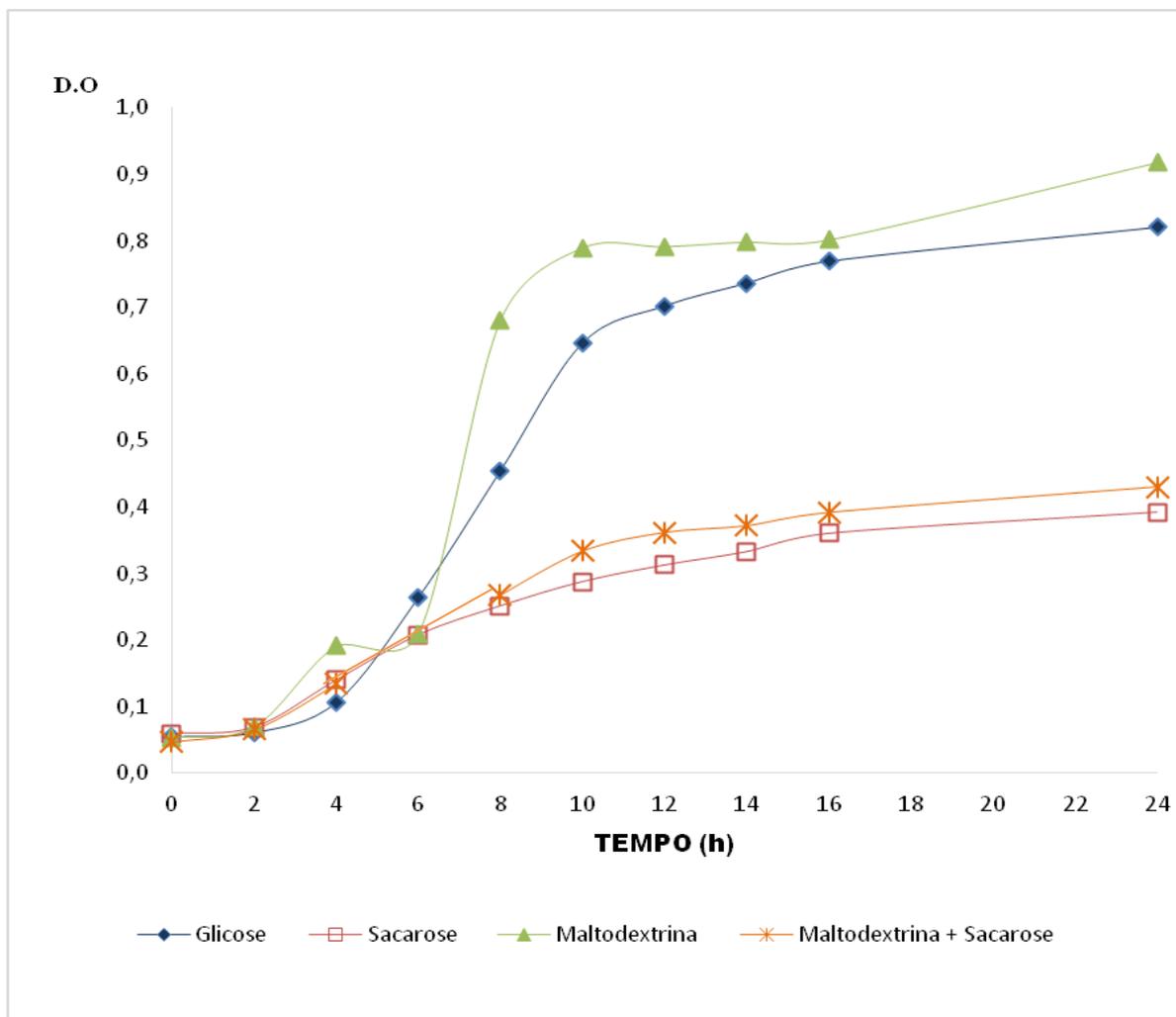
Letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). Letras minúsculas distintas diferem estatisticamente na comparação entre *S. mutans* e *Lactobacillus* para o mesmo tratamento (*teste t; **U de Mann-Whitney) ($p < 0,05$).

Para o crescimento microbiano, as figuras 3 e 4 apresentam os resultados das médias das densidades óticas (DO) obtidas para *S. mutans* e *L. casei* respectivamente, durante 24 horas, nos dois experimentos realizados. Observa-se que para *S. mutans*, os grupos glicose e maltodextrina obtiveram maiores valores de DO, enquanto que sacarose e maltodextrina associada à sacarose obtiveram menores valores de DO. A análise do crescimento dos *L. casei*, mostrou valores de DO semelhantes para glicose, sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose. Os valores da DO e contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) por mililitro em 12 horas de crescimento, são mostradas na tabela 2.

Tabela 2 Valores de densidade ótica (DO) e contagem microbiana (UFC/mL) nos diferentes tratamentos para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*, em 12 horas de análise.

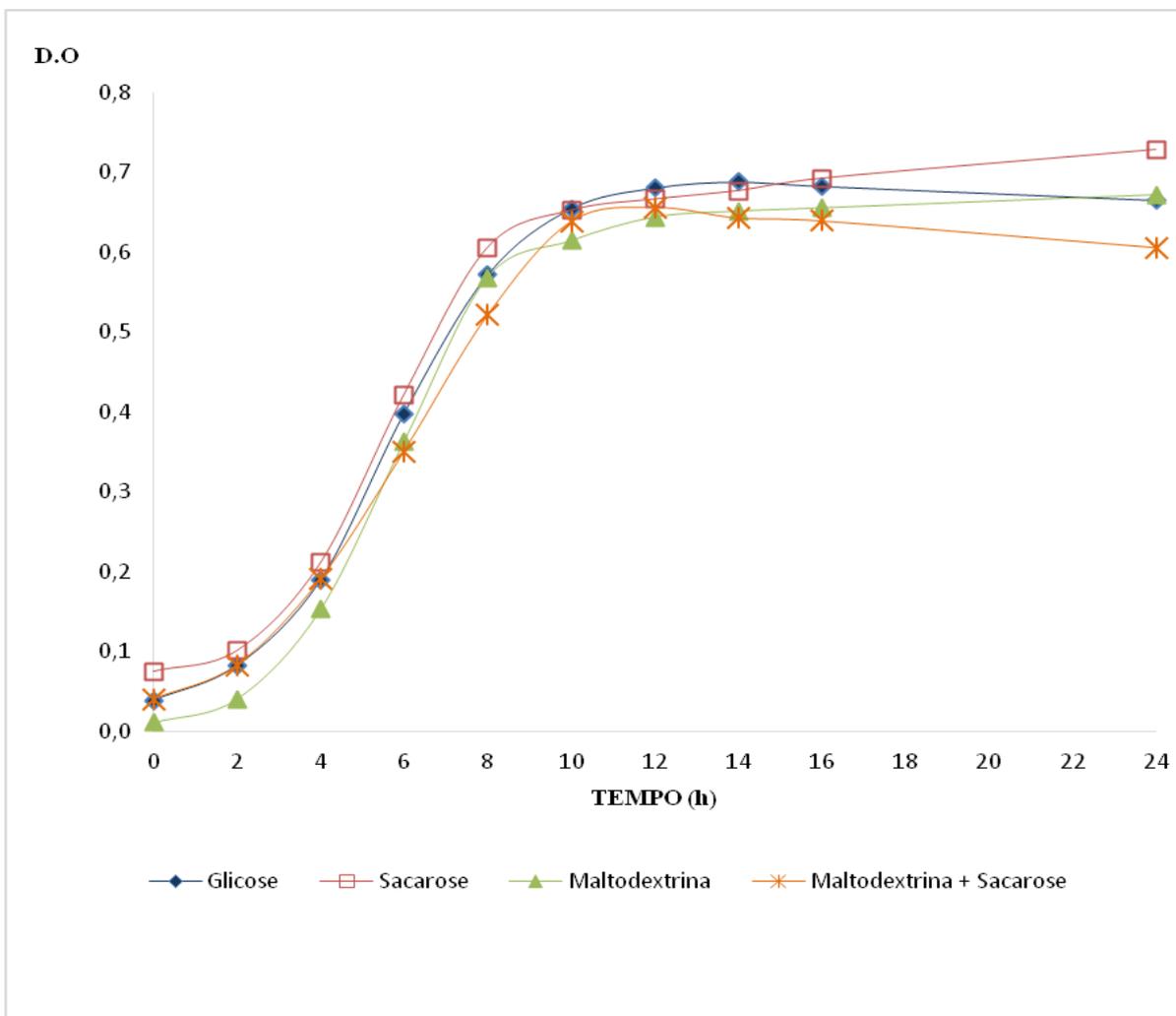
Carboidrato	<i>S. mutans</i>		<i>L. casei</i>	
	DO	Contagem	DO	Contagem
Glicose	0,702	1,4 x 10 ¹¹	0,692	9,8x10 ⁸
Sacarose	0,313	1,1 x 10 ⁹	0,670	7,6 x 10 ¹⁰
Maltodextrina	0,810	1,3 x 10 ¹¹	0,651	7,0 x 10 ⁸
Maltodextrina associada à sacarose	0,385	6,4 x 10 ⁸	0,643	1,5 x 10 ¹¹

Figura 3-Valores médios das DO dos diferentes tratamentos para *Streptococcus mutans* durante 24 horas.



FONTE: da autora.

Figura 4-Valores médios das DO dos diferentes tratamentos para *Lactobacillus casei* durante 24 horas.



FONTE: da autora.

5 DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi analisar *in vitro* o efeito da maltodextrina e de sua associação com a sacarose na acidogenicidade e no crescimento microbiano de dois microrganismos associados à doença cárie, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*.

Em relação à análise da acidogenicidade, o presente estudo verificou que *S. mutans* produziu menos ácido na presença do carboidrato maltodextrina. Enquanto que na presença dos outros carboidratos e associações (glicose, sacarose e maltodextrina associada à sacarose) produziu mais ácido, sem diferenças entre eles. Os resultados do presente estudo concordam com os do estudo *in situ* de Ribeiro et al. (2005) que analisou o potencial cariogênico do amido, associado ou não à sacarose, na acidogenicidade e composição do biofilme dental. Os autores verificaram que os biofilmes formados na presença de sacarose ou de amido associado à sacarose não diferiram entre si na acidogenicidade, e que estes apresentaram menores valores de pH comparado ao amido isolado. Quando *S. mutans* tem como substrato a maltodextrina associada à sacarose, este tem o mesmo comportamento acidogênico que na presença de sacarose isolada, pois *S. mutans* consegue fermentar a molécula de sacarose na mesma velocidade, mesmo na presença de outro carboidrato (maltodextrina). Isto se deve ao fato de *S. mutans* possuir três sistemas distintos para transporte de sacarose (Fosfotransferase dependente de fosfoenolpiruvato - PTS, não fosfotransferase - não PTS, e terceiro sistema de transporte - TTS), que consome rapidamente a molécula de sacarose. Quando *S. mutans* possui apenas a maltodextrina como substrato, ele metaboliza este carboidrato menos rapidamente, pois não possui enzima específica para degradar a maltodextrina, que é um carboidrato mais complexo. Os resultados do presente estudo concordam com outros relatados na literatura. O estudo *in vivo* realizado por Al-Khatib et al. (2001) demonstrou que o biofilme dental frente à maltodextrinas de diferentes DE foram capazes de produzir ácidos, porém as quedas de pH foram menores comparada a da sacarose. Moynihan et al. (1996) verificaram através de um estudo *in vitro*, o efeito dos polímeros de glicose (maltodextrinas) sobre o pH do biofilme e também encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo quando compararam a sacarose e a maltodextrina. Ambos atribuem os resultados obtidos à dificuldade das bactérias bucais em metabolizar carboidratos mais complexos sem possuir enzima específica para a degradação (SLEE; TANZER, 1982).

Em relação à análise da acidogenicidade dos *L. casei* o presente estudo observou um comportamento diferente comparado aos dos *S. mutans*. No meio contendo glicose como carboidrato, *L. casei* produziu mais ácido, enquanto que nos meios contendo sacarose,

maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose, houve menor produção de ácido. Os *L. casei* fermentam mais rapidamente carboidratos simples como a glicose porém, têm dificuldade em metabolizar carboidratos maiores como a sacarose e a maltodextrina. Os resultados encontrados em nosso estudo concordam com o estudo *in vitro* de Meurman et al. (1995) onde os autores observaram que várias das espécies de *Lactobacillus* avaliadas não conseguiram fermentar a sacarose num período de até 2 horas. Outro estudo *in vitro* realizado por Hedberg et al. (2008), também comparou a acidogenicidade de diferentes espécies de *Lactobacillus* frente a diversos carboidratos, por até 72 horas. Algumas espécies também não conseguiram metabolizar a sacarose ou, apresentaram uma lenta metabolização após 48 e 72 horas de avaliação.

Quando comparamos as AUC para *S. mutans* e *L. casei*, encontraram-se diferenças significativas para os meios contendo sacarose, maltodextrina e maltodextrina associada à sacarose, sendo que os *L. casei* apresentaram uma acidogenicidade menor que o *S. mutans*. Estes micro-organismos apresentam dificuldade de metabolização da sacarose e da maltodextrina por elas serem carboidratos mais complexos e possuírem moléculas maiores. Com a glicose, *S. mutans* e *L. casei* são igualmente acidogênicos tendo a mesma velocidade de metabolização pelo fato deste carboidrato ser uma molécula simples. (MEURMAN et al. 1995; HEDBERG et al. 2008).

Na análise do crescimento microbiano através da DO, durante 24 horas, observou-se que *S. mutans* nos meios contendo glicose e maltodextrina obtiveram valores de DO maiores do que nos meios contendo sacarose e maltodextrina associada à sacarose. *S. mutans* metaboliza rapidamente a glicose por ser uma molécula menor. A maltodextrina, apesar de observarmos uma metabolização mais lenta produzindo uma acidogenicidade menor, em 180 minutos, em longo prazo (24 horas) a fermentação poderia ter sua velocidade aumentada e, portanto, não causaria prejuízos no crescimento de *S. mutans*. Além disso, foi utilizado para o experimento do crescimento microbiano um meio de cultura rico em nutrientes (Brain Heart Infusion), diferentemente do experimento da acidogenicidade, onde foi utilizada uma solução fisiológica (50 mM de KCl suplementado com 1 mM MgCl₂).

Nos meios que continham sacarose e maltodextrina associada à sacarose houve um crescimento menor de *S. mutans*. Este menor crescimento poderia ser justificado pelo fato de que na presença de sacarose, apesar destes micro-organismos possuírem sistemas distintos de transporte para degradar este carboidrato, eles também produzem grandes quantidades de polissacarídeos extracelulares (PEC), o que poderia ter consequências no número de micro-organismos. Estudo realizado por Mattos-Graner et al. (2000), em crianças de 12 a 30 meses

de idade, relacionou a incidência de cárie dental com a capacidade de síntese de polissacarídeos extracelulares e não com o número *S.mutans* no biofilme dental. Portanto, independentemente de um menor crescimento de *S. mutans* frente à sacarose, observado no presente estudo, o potencial cariogênico deste carboidrato estaria associado mais com a produção de polissacarídeos extracelulares em maior quantidade o que tornaria o biofilme dental mais poroso e com uma adesão maior. Apesar das concentrações de PEC não terem sido quantificadas no presente estudo, estudos demonstram que existe produção em quantidade elevada na presença de sacarose, mesmo quando outro carboidrato é adicionado. (RIBEIRO et al. 2005; LEME et al. 2006; DUARTE et al. 2008; MAZER et al. 2010)

Para os *L. casei* a análise do crescimento através da DO foi semelhante para todos os meios. Apesar do comportamento dos carboidratos, até 180 minutos, ter sido diferente no experimento da acidogenicidade, em longo prazo (24 horas) estas diferenças não foram observadas, ou seja, mesmo com metabolismo mais lento para carboidratos mais complexos como sacarose e maltodextrina, seu crescimento não é afetado. (HEDBERG et al. 2008).

A maltodextrina isolada parece ser um carboidrato com potencial acidogênico, apesar de ter apresentado metabolização mais lenta em *S. mutans* e *L. casei* comparado à glicose, porém, teve capacidade em reduzir o pH e permitir o crescimento microbiano. No presente estudo, a maltodextrina em associação com a sacarose teve um comportamento semelhante à sacarose isolada na presença de *S. mutans*, ou seja, permitiu grande produção de ácidos e crescimento microbiano. Estudos indicam que a adição do carboidrato amido ou de seus derivados poderia aumentar o potencial cariogênico da sacarose, modificando não só a composição e a estrutura do biofilme dental formado mas também, a expressão gênica de glicosiltransferases em *S. mutans*. (RIBEIRO et al. 2005; DUARTE et al. 2008; MAZER et al. 2010).

Neste estudo, a maltodextrina associada à sacarose manteve um pH em torno de 5,86 nos primeiros 30 minutos de análise para *L. casei*, sugerindo um potencial acidogênico capaz de desmineralizar dentina (pH crítico de 6,5). Este fato é relevante quando existe um consumo frequente deste carboidrato por parte de indivíduos que apresentam recessão gengival e exposição radicular.

Estudos demonstram que a maltodextrina usada nos produtos alimentícios, seja no seu uso isolado ou associado à sacarose, são potencialmente cariogênicos. É aconselhável ter cautela no consumo de maltodextrina isolada, pois, assim como demonstrado em outros trabalhos, como o de Al-Khatib et al. (2001), e neste estudo, este hidrolisado do amido é considerado cariogênico se consumido frequentemente. O estudo de Mazer et al. (2010),

analisou *in situ* o efeito de fórmulas infantis a base de leite e soja na desmineralização do esmalte de dentes decíduos. As fórmulas continham maltodextrina, e a conclusão foi que ambas as fórmulas têm o potencial de induzir desmineralização do esmalte de dentes decíduos, o qual foi aumentado quando adoçado com sacarose. Os estudos *in vivo* de Steiberg et al. (1995) e Meyerowitz et al. (1996), analisaram os efeitos no pH do biofilme de adoçantes artificiais (sucralose) em associação com maltodextrina, dextrose e sacarose. Ambos concluíram que o adoçante associado à maltodextrina e/ou dextrose é mais acidogênico do que o adoçante isolado.

As maltodextrinas são utilizadas como fontes de energia de baixo custo nos produtos alimentícios industrializados aumentando o teor de energia das dietas. Estes polímeros também são prescritos por profissionais da saúde para pacientes com deficiências em absorção de energia, intolerâncias e outros distúrbios metabólicos. As maltodextrinas também têm sido adicionadas à composição de bebidas utilizadas na prática esportiva. Essas bebidas muitas vezes ainda possuem outros carboidratos adicionados e são ácidas, aumentando o potencial cariogênico e erosivo destes produtos. Portanto é necessário cautela no seu uso frequente, pois sabe-se que maltodextrinas causam queda de pH. (MOYNIHAN et al. 1996; LEVINE, 1998; AL-KHATIB et al. 2001).

Por se tratar de um estudo *in vitro*, este trabalho possui limitações, pois não simula todas as condições ambientais da cavidade bucal, bem como a interação entre as multiespécies presentes em um biofilme dentário. Portanto, sugere-se que estudos *in situ* e *in vivo* sejam realizados para verificar o efeito da maltodextrina e da sua associação com a sacarose na composição (microbiológica e bioquímica) e arquitetura do biofilme dental formado e sobre os tecidos mineralizados dentários.

6 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados do presente estudo conclui-se que:

1. Maltodextrina: possui metabolização lenta por *S. mutans* e *L. casei*, entretanto não prejudica o crescimento destes micro-organismos.
2. Maltodextrina associada à sacarose: possui comportamento semelhante à sacarose quanto à acidogenicidade e crescimento de *S. mutans* e *L. casei*.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É aconselhável cautela no consumo frequente da maltodextrina, pois este carboidrato associado ou não a sacarose apresenta potencial acidogênico, permitindo queda de pH.

Atenção deve ser dada aos rótulos de alimentos como sopas, adoçantes, fórmulas infantis entre outros, que podem conter maltodextrina como ingrediente, podendo levar a uma ingestão inconsciente pelo consumidor. Além disso, a associação da maltodextrina com sacarose, encontrada em muitos alimentos industrializados, aumenta a cariogenicidade da maltodextrina sendo semelhante à da sacarose.

REFERÊNCIAS

- AL-KHATIB, G.; DUGGAL, M.; TOUMBA, K. An evaluation of the acidogenic potential of maltodextrins in vivo. **Journal of Dentistry**, Exeter, v. 29, no. 6, p. 409-414, Aug. 2001.
- ARTHUR, R. A. et al. Genotypic and phenotypic analysis of *S. mutans* isolated from dental biofilms formed in vivo under high cariogenic conditions. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 22, no. 4, p. 267-274, June. 2011.
- DUARTE, S. et al. Influences of starch and sucrose on *Streptococcus mutans* biofilms. **Oral microbiology and immunology**. Copenhagen, v. 23, no. 3, p. 206-212, June. 2008.
- HEDBERG, M. et al. Sugar fermentation in probiotic bacteria—an in vitro study. **Oral microbiology and immunology**. Copenhagen, v. 23, no. 6, p. 482-485, Dec. 2008.
- JOHANSSON, I.; BIRKEHED, D. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia Clínica**. A dieta e o processo cariogênico. São Paulo: Editora Santos,. Cap. 13, p. 283-310, 1995.
- KONTIOKARI, T.; UHARI, M.; KOSKELA, M. Effect of Xylitol on Growth of Nasopharyngeal Bacteria In Vitro. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, Washington, v.39, no. 08, p.1820-1823, 1995.
- LEITES, A; PINTO, M; SOUSA, E. Aspectos microbiológicos da cárie dental. **Salusvita**, Bauru, v. 25, no. 2, p. 239-252, 2006.
- LEVINE, R. Briefing paper: maltodextrins and caries. **British dental journal**. London, v. 185, no. 8, p. 392-392, Oct. 1998.
- LEME, P. et al. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation-new insight. **Journal of dental research**. Chicago, v. 85, no. 10, p. 878-887, Oct. 2006.
- MALTZ, M.; JARDIM, J.; PAROLO, C. Cariologia clínica. In: TOLEDO, O. **Odontopediatria: Fundamentos para a prática clínica**. Rio de Janeiro: Medbook, 2012. cap.7, p. 115-123.
- MARCHAL, L. M. **Towards a rational design of commercial maltodextrins: a mechanistic approach**. Wageningen Universiteit, 1999.
- MARSH, P.; NYVAD, B. A microbiota oral e os biofilmes dentários. In: FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie Dentária: A doença e seu tratamento clínico**. São Paulo: Santos, 2011. Cap. 10, p. 163-185.
- MAZER, P. de. et al. Effect of milk and soy-based infant formulas on in situ demineralization of human primary enamel. **Pediatric Dentistry**, Chicago, v. 32, no. 1, p. 35-40, Jan./Feb. 2010.
- MEYEROWITZ, C.; SYRRAKOU, E.; RAUBERTAS, R. Effect of sucralose—alone or bulked with maltodextrin and/or dextrose—on plaque pH in humans. **Caries research**, London, v. 30, no. 6, p. 439-444, 1996.

MONTES, E. et al. Evaluación de las propiedades modificadas por vía enzimática del almidón de ñame (*D. trifida*) utilizando α -amilasa (TERMAMYL® 120 L, TIPO L). **Vitae**, Medellín, v. 15, n. 1, p. 51-60, jan-jun. 2008.

MOYNIHAN, P. et al. Effect of glucose polymers in water, milk and a milk substitute on plaque pH in vitro. **International Journal of Paediatric Dentistry**. England, v. 6, no. 01, p. 19-24, Mar.1996.

RIBEIRO, C. et al. Effect of starch on the cariogenic potential of sucrose. **British journal of nutrition**. England, v. 94, no. 01, p. 44-50, Jul. 2005.

SLEE, A.; TANZER, J. Sucrose transport by *Streptococcus mutans*. Evidence for multiple transport systems. **Biochimica et biophysica acta**. Netherlands, v. 692, no. 3, p. 415-424, 1982.

STEINBERG, L. et al. Effect of aqueous solutions of sucralose on plaque pH. **American journal of dentistry**. United States, v. 8, no. 4, p. 209-211, Aug. 1995.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. Starch Modifications. In: **Eagan press handbook series: Starches**. Minnessota: Eagan Press, 1997. Chap. 4, p. 31-48.