

# Vliv vybraných kyselých potravin a nápojů na mechanické vlastnosti skloviny lidských extrahovaných zubů a jejich role ve vzniku zubních erozí

(Původní práce – experimentální studie)

## Effect of Selected Acidic Foodstuffs and Beverages on Enamel Mechanical Properties of Human Extracted Teeth and their Role in Dental Erosion Origin

(Original Article – Experimental Study)

*Morozova J.<sup>1</sup>, Zapletalová Z.<sup>1</sup>, Čtvrtlík R.<sup>2</sup>, Ranc V.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Klinika zubního lékařství, LF UP a FN, Olomouc

<sup>2</sup>Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů, Společná laboratoř optiky UP a Fyzikálního ústavu Akademie věd ČR, PŘF UP Olomouc

<sup>3</sup>Katedra analytické chemie, PŘF UP, Olomouc

---

### SOUHRN

---

**Úvod:** V posledních dvaceti letech můžeme v moderní společnosti pozorovat podstatný nárůst konzumace ovocných džusů a perlivých nealkoholických nápojů, tzv. soft drinků. Většina z nich obsahuje vedle vody a různých přísad kyselinu citronovou, fosforečnou a uhličitou. Hodnota pH těchto nápojů je obvykle nižší než 4,0. Pokud jsou tvrdé zubní tkáně často vystaveny působení těchto vnějších kyselin, dochází ke změkčení povrchu zubu a vzniku nevratného erozivního poškození skloviny.

**Cíl:** Cílem naší in vitro studie bylo zjistit změny základních mechanických vlastností skloviny lidských extrahovaných molárů (mikrotvrdości a modulu elasticity) vystavených účinkům vybraných nápojů typu soft drink (Kofola, Coca-Cola), pomerančového džusu a bílého jogurtu.

**Materiál a metody:** Ze zdravých vestibulárních a orálních plošek čerstvě extrahovaných lidských molárů jsme připravili 40 sklovinných vzorků velikosti asi 5x3x1,5 mm. Na začátku experimentu jsme změřili pomocí nanoindentace (NanoTest NT 600, Micromaterials, Velká Británie) mikrotvrdości a modul elasticity skloviny. Zároveň byla mikroskopem atomárních sil (AFM) zachycena povrchová topografie sklovinných vzorků. Získané údaje sloužily jako kontrola. Poté byly sklovinné vzorky náhodně rozděleny do čtyř skupin. Vzorky první skupiny byly ponořeny do nápoje Kofola (Kofola, a. s., Krnov, Česká republika), vzorky druhé skupiny do nápoje Coca-Cola (Coca-Cola HBC, Česká republika), vzorky třetí skupiny do pomerančového džusu Hello (Nivnice, Česká republika) a vzorky čtvrté skupiny do bílého jogurtu Klasik (OLMA, Česká republika), a to na dobu pěti minut při pokojové teplotě. U každého testovaného nápoje a jogurtu bylo zjištěno jejich pH a titrovatelná acidita. Následně byly vzorky opláchnuty destilovanou vodou a osušeny. S pomocí nanoindentoru byla opět u všech vzorků změřena mikrotvrdości a modul elasticity. Mikroskopem atomárních sil byl zachycen aktuální obraz povrchu vzorků. Získané výsledky se statisticky zpracovaly (párový Studentův t-test) a porovnály se s výsledky měření před expozicí kyselým nápojům a jogurtu.

**Výsledky:** Největší redukce mikrotvrlosti skloviny byla pozorována u vzorků vystavených působení Coca-Coly ( $43,6 \pm 14,4 \%$ ) a pomerančového džusu ( $41,7 \pm 3,4 \%$ ). Největší pokles modulu elasticity skloviny byl pozorován u skupiny vzorků ponořených do pomerančového džusu ( $15,7 \pm 4,7 \%$ ) a Kofoly ( $14,9 \pm 9,0 \%$ ). Vliv jogurtu na mechanické vlastnosti zubní skloviny nebyl statisticky signifikantní ( $p > 0,05$ ).

**Závěr:** Výsledky našeho experimentu prokázaly podstatné snížení hodnot mechanických vlastností zubní skloviny vzorků vystavených působení vybraných kyselých nápojů. Jogurt, přestože má kyselé pH, nevyvolal díky obsahu minerálních látek výrazné změny mechanických vlastností skloviny.

**Klíčová slova:** zubní eroze – dietární kyseliny – mikrotvrdot – modul elasticity – nanoindentace – mikroskopie atomárních sil

Čes. Stomat., roč. 112, 2012, č. 3, s. 77–87

---

## SUMMARY

---

**Introduction:** In the last twenty years we can observe in modern society significant increase of fruit juices and carbonated soft drinks consumption. The most of them besides water and different additives contain citric, phosphoric and carbonic acids. The pH of these beverages is usually lower than 4.0. Frequent exposure of hard dental tissues to dietary acids leads to surface softening and irreversible erosive wear.

**Aim:** The aim of our in vitro study was to determine the changes of enamel microhardness and elastic modulus of human extracted molars immersed into selected soft drinks (Kofola, Coca-Cola), orange juice and white yoghurt.

**Materials and Methods:** 40 enamel samples (5x3x1.5 mm) were prepared from intact vestibular and oral surfaces of freshly extracted human molars. At the beginning of the experiment microhardness and elastic modulus were measured by nanoindentation (NanoTest NT 600, Micro-materials, Great Britain). Surface topography of enamel samples was studied by atomic force microscopy. Received data were used as control. After that the enamel samples were randomly divided into 4 groups. The samples of the 1<sup>st</sup> group were immersed to soft drink Kofola (Kofola JSC, Krnov, Czech Republic), the samples of the 2<sup>nd</sup> group to Coca-Cola (Coca-Cola HBC, Czech Republic), the samples of the 3<sup>rd</sup> group were exposed to orange juice Hello (Nivnice, Czech Republic), the samples of the 4<sup>th</sup> group to white yoghurt Klasik (OLMA, Czech Republic). The time of exposure was 5 minutes. Yoghurt and drinks had room temperature. The pH and titratable acidity of every beverage and yoghurt were determined. After immersion the samples were rinsed with distilled water and dried up. After that microhardness and elastic modulus were measured. Surface topography of the samples was studied again. Received data were statistically worked up (paired Student's t-test) and compared with initial data before exposure to acidic drinks and yoghurt.

**Results:** The most distinguished reduction of enamel microhardness was observed among samples exposed to Coca-Cola ( $43.6 \pm 14.4\%$ ) and orange juice ( $41.7 \pm 3.4\%$ ). The most distinguished decrease of elastic modulus was observed among samples immersed to orange juice ( $15.7 \pm 4.7\%$ ) and Kofola ( $14.9 \pm 9.0\%$ ). The influence of yoghurt on enamel mechanical properties was insignificant ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions:** The results of our experiment proved significant reduction of enamel mechanical properties after their exposure to acidic beverages. Despite of acidic pH, yoghurt did not cause significant changes of enamel mechanical properties due to its mineral components.

**Key words:** dental erosion – diet acids – microhardness – elastic modulus – nanoindentation – atomic force microscopy

---

## ÚVOD A CÍL STUDIE

---

V souvislosti se změnou životního stylu dochází v posledních desetiletích v konzumní společnosti ke zvyšování spotřeby nápojů „moderního životního stylu“, mezi které počítáme ovocné džusy a perlivé nealkoholické nápoje, tzv. soft drinky. Podíl těchto nápojů v Evropě činí podle údajů Lussiho více než 50 % celkové spotřeby nealkoholických nápojů [21]. Ve Spojených státech amerických se objem konzumace soft drinků zvýšil během posledních 20 let o 300 % [22]. Tyto nápoje nejčastěji obsahují vedle vody a různých pří-

sad kyselinu citronovou, fosforečnou a uhlíčitou. Jejich pH je obvykle nižší než 4,0. Je všeobecně známým faktem, že se sklovina lidských zubů rozpouští, pokud pH v dutině ústní klesne pod kritickou hodnotu 5,5. Pokud jsou tvrdé zubní tkáně opakovaně vystaveny působení těchto vnějších tzv. dietárních kyselin, dochází k uvolňování iontů vápníku a dalších minerálních látek z krystalické mřížky hydroxyapatitu zubní skloviny. Uvedený chemický proces vede k demineralizaci povrchu zubu a možnému vzniku erozivního poškození skloviny [3, 9, 14, 31]. Erozivní potenciál kyselých potravin a nápojů souvisí především s hodnotou pH, ale je podmíněn také titrovatelnou aciditou, druhem kyselin, chelatačními vlastnostmi, obsahem minerálních látek (především vápníku, fosfátů a fluoridů) a také teplotou konzumovaného nápoje či potraviny. Rozhodujícím faktorem pro vznik erozivního poškození tvrdých zubních tkání je frekvence, způsob konzumace a čas, během kterého se potravina nebo nápoj nachází v dutině ústní. Za kritický je považován příjem perlivých nápojů 4–6krát týdně [5]. Nejagresivnějším způsobem konzumace kyselých potravin a nápojů je zadržování v ústech, kdy se prodlužuje doba kontaktu se zuby. Za nejagresivnější potraviny a nápoje pro zubní povrch jsou považovány čerstvé ovoce, především citrusové plody a také ovocné, zvláště citrusové džusy a perlivé nealkoholické nápoje [12, 15, 17, 18, 19, 27, 28]. Nepříznivý účinek kyselých potravin a nápojů může být snížen obohacením o minerální komponenty posilující tvrdé zubní tkáně (vápník, fosfáty, fluoridy). Význam má také úprava stravovacích návyků z hlediska frekvence, množství a způsobu konzumace. Doporučuje se kyselou potravinu nebo nápoj nezadržovat dlouho v ústech, při pití používat brčko, konzumovat raději vychlazený nápoj a ihned po konzumaci kyselého jídla či nápoje vypláchnout ústa vodou nebo mlékem [6, 13, 29].

Erozivní potenciál různých potravin a nápojů je zkoumán ve studiích in vitro a in situ. Ve většině studií se zkoumají změny mechanických vlastností a morfologie povrchu tvrdých zubních tkání vystavených působení různých potravin a nápojů in vitro. Metoda zkoumání in situ předpokládá umístění speciálních nosičů s fixovanými vzorky skloviny v ústní dutině u dobrovolníků. Umožňuje prozkoumat vliv dalších tzv. biologických a behaviorálních faktorů vzniku a rozvoje zubních erozí, ke kterým patří především množství slin, jejich saturace minerálními komponentami a pufrční schopnosti [11, 31].

Cílem našeho experimentu in vitro bylo prozkoumat agresivní vliv kyselin obsažených v originálním českém perlivém nealkoholickém nápoji Kofola a srovnat jej s účinky dalšího oblíbeného nápoje Coca-Cola a pomerančového džusu na povrch skloviny lidských extrahovaných zubů. Dále jsme prozkoumali erozivní potenciál bílého jogurtu jako potraviny s kyselým pH.

---

## MATERIÁLY A METODY

---

### Příprava sklovinných vzorků

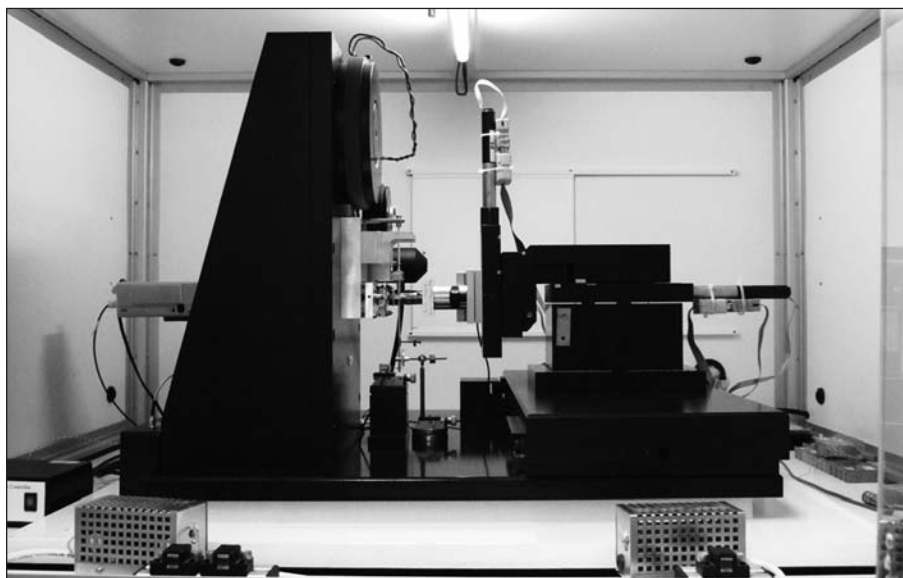
Dvacet čerstvě extrahovaných lidských molárů se zdravými vestibulárními a orálními ploškami bylo bezprostředně po extrakci dezinfikováno v 0,5% roztoku chloraminu T. Vestibulární a orální plochy zubní korunky jsme vyleštili disky OptiDisc (KerrHawe, Švýcarsko) Coarse/Medium o zrnitosti 40  $\mu\text{m}$ , Fine o zrnitosti 20  $\mu\text{m}$  a Extra Fine o zrnitosti 10  $\mu\text{m}$  v mikromotoru s cílem odstranit vnější hypermineralizovanou vrstvu skloviny a vyrovnat povrchové nerovnosti. Tloušťka odstraněné vrstvy skloviny se pohybovala v rozmezí 40–50  $\mu\text{m}$ . Poté jsme oddělili příčným řezem s pomocí diamantovaného disku anatomickou korunku zubu od kořene. Z vestibulárních a orálních ploch korunky jsme připravili dva vzorky skloviny o velikosti asi 5x3x1,5 mm. Čtyřicet takto získaných sklovinných vzorků jsme dále uchovávali v minerálním roztoku následujícího složení: 1,5 mmol/l  $\text{CaCl}_2$ , 1,0 mmol/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 50,0 mmol/l  $\text{NaCl}$ , a to při teplotě 4 °C [21].

### Měření mikrotvrdomosti a modulu elasticity skloviny

K měření mikrotvrdomosti a modulu elasticity sklovinných vzorků jsme použili metodu nanoindentace založenou na řízeném vtlačování diamantového hrotu přesně definovaných rozměrů a geometrie do zkoumaného vzorku [1]. Tato instrumentovaná vtisková

zkouška se v současné době používá pro přesné hodnocení lokálních mechanických vlastností různých typů materiálů od tenkých vrstev a povlaků přes mikroskopické objekty až po objemové a biologické vzorky. Zásadními výhodami metody jsou vysoká přesnost, spolehlivost, a zejména pak lokálnost. Umožňuje charakterizovat mechanické vlastnosti velice malých objektů mikrometrových rozměrů.

V experimentu jsme používali nanoindentor NanoTest NT 600 (Micromaterials, Velká Británie) (obr. 1). Sestava umožňuje měřit tvrdost, vyhodnocovat modul elasticity, adhezi, únavové, lomové, ale také dynamické vlastnosti tenkých vrstev a povlaků. Celý měřicí systém je umístěn na antivibračním stole ve speciálním boxu vybaveném systémem regulace teploty a vlhkosti, což umožňuje provádět experimenty za přesně definovaných vnějších podmínek. Pro analýzu reziduálních vtisků a stop je NanoTest vybaven optickým mikroskopem a mikroskopem atomárních sil (AFM). V našich experimentech jsme používali indentační sílu o velikosti 10 mN aplikovanou na kalibrovaný Berkovičův indentor, přičemž zatěžování a následné odlehčování probíhalo rychlostí 0,5 mN/s. Perioda, při níž byl vzorek vystaven maximální indentační zátěži, činila pět sekund. Na každém vzorku bylo provedeno šest měření. Jednotlivé vtisky byly umístěny v lineární matici, vzdálenost mezi vtisky činila 30  $\mu\text{m}$ . Vtisková tvrdost (nanoindentační tvrdost) a modul elasticity byly určeny z experimentálních indentačních křivek pomocí metody navržené Oliverem a Pharrrem [24]. Analyzovány byly pouze křivky standardního tvaru.



**Obr. 1** Nanoindentor NanoTest NT 600



**Obr. 2** Sklovinný vzorek fixovaný na kovové destičce

Charakteristické střední hodnoty mikrotvrdoosti a modulu elasticity příslušného vzorku byly vždy vypočteny z nejméně čtyř nezávislých měření a jsou uvedeny v GPa.

### Průběh experimentu

Čtyřicet sklovinných vzorků bylo po předběžné mikroskopické kontrole náhodně rozděleno do čtyř skupin po deseti vzorcích. Každý vzorek byl po vyjmutí z minerálního roztoku fixován sekundovým lepidlem na podložní kovovou destičku (obr. 2).

V první fázi experimentu se provedla nanoindentační zkouška s cílem určit mikrotvrdoost a modul elasticity neovlivněných vzorků. Povrchová topografie sklovinných vzorků byla prozkoumána mikroskopem atomárních sil (AFM). Takto získané údaje sloužily jako kontrolní data (base-line).

V druhé fázi byly vzorky ponořeny do kádinky se zkoumaným nápojem: vzorky první skupiny do nápoje Kofola (Kofola, a.s., Krnov, Česká republika), vzorky druhé skupiny do nápoje Coca-Cola (Coca-Cola HBC, Česká republika), vzorky třetí skupiny do pomerančového džusu Hello (Nivnice, Česká republika) a vzorky čtvrté skupiny do bílého jogurtu Klasik (OLMA, Česká republika). Doba ponoření do testovaných nápojů a jogurtu činila pět minut. Tekutiny a jogurt měly pokojovou teplotu a byly po dobu experimentu promíchávány s pomocí magnetického míchátko. Po vyjmutí z testovaných nápojů a jogurtu byly sklovinné vzorky oplachovány po dobu 10 sekund destilovanou vodou a osušeny proudem vzduchu. Následovalo opět nanoindentační měření a poté zkoumání povrchu pomocí mikroskopu atomárních sil.

Měření před expozicí i po ní bylo provedeno za stejných experimentálních podmínek. Fixace vzorku na kovovou podložku a její standardizované upínání do nanoindentoru umožnily vždy vyšetřování stejné oblasti daného vzorku. Získané výsledky byly porovnány s výsledky měření vzorků před aplikací kyselých nápojů a jogurtu. Pro statistické zhodnocení výsledků byl použit párový Studentův t-test.

### Chemické analýzy

Hodnota pH a titrovatelná acidita zkoumaných nápojů a jogurtu se stanovila pomocí pH metru InoLab pH 730 (InoLab, Německo). Stanovení titrovatelné acidity bylo založeno na standardním doplnění zásaditého roztoku  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $c = 0,2 \text{ mol/l}$  k uvedeným nápojům. Titrovatelná acidita byla určena v závislosti na změnách pH roztoku.

## VÝSLEDKY

Průměrné hodnoty mikrotvrdoosti a modulu elasticity sklovinných vzorků jsou uvedeny v tabulce 1 a v grafech 1 a 2. Modré a červené sloupce znázorňují mechanické vlastnosti vzorků před a po jejich ponoření na 5 minut do testovaných nápojů a jogurtu. Největší redukce mikrotvrdoosti skloviny byla pozorována u skupiny vzorků ponořených do Coca-Coly ( $43,6 \pm 14,4 \%$ ) a pomerančového džusu Hello ( $41,7 \pm 3,4 \%$ ). Snížení mikro-

**Tab. 1** Průměrné hodnoty mikrotvrdoosti a modulu elasticity sklovinných vzorků před a po expozici v nápojích a jogurtu

	Kontrolní měření před expozicí		Měření po 5minutové expozici		p hodnota (párový Studentův t test)	
	MT (GPa)	ME (GPa)	MT (GPa)	ME (GPa)	MT	ME
Kofola	4,9±0,4	120,2±15,0	4,0±0,5	109,8±9,3	<b>0,004</b>	0,118
Coca-Cola	5,0±0,5	111,2±4,0	2,9±1,0	100,8±11,6	<b>&lt;0,001</b>	0,096
Pomerančový džus Hello	4,4±0,7	106,0±7,3	2,6±0,5	89,5±8,9	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
Jogurt Klasik	5,1±1,1	112,5±7,8	4,9±1,4	109,9±13,6	0,753	0,397

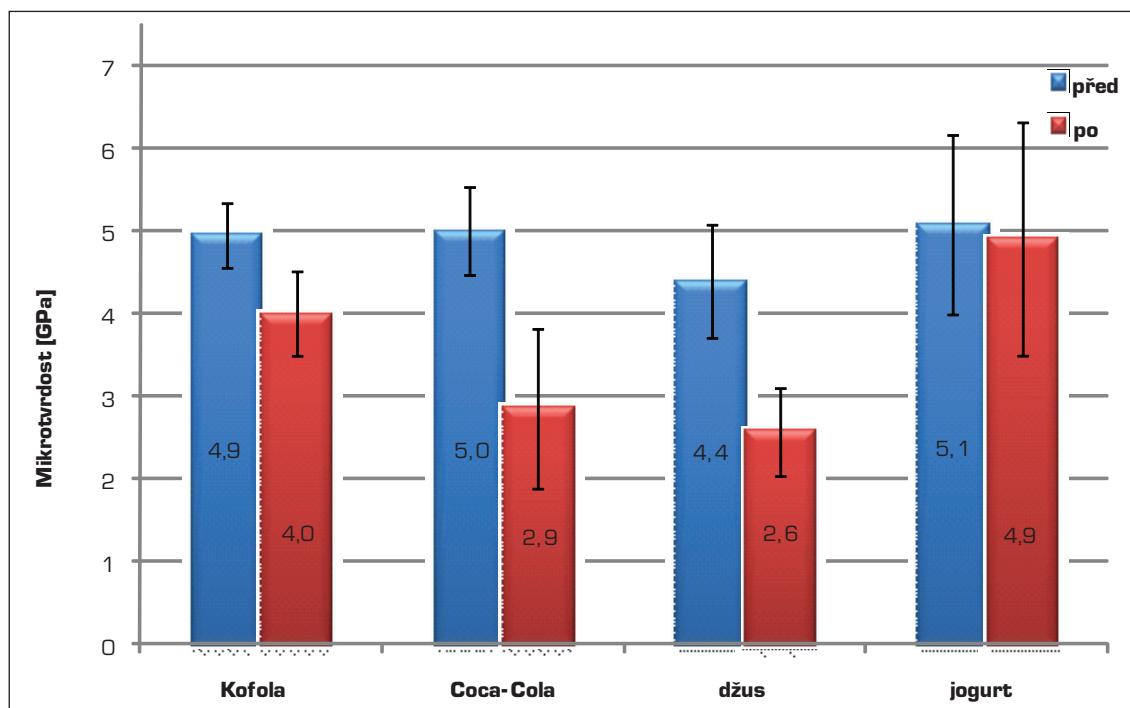
MT mikrotvrdoost

ME modul elasticity

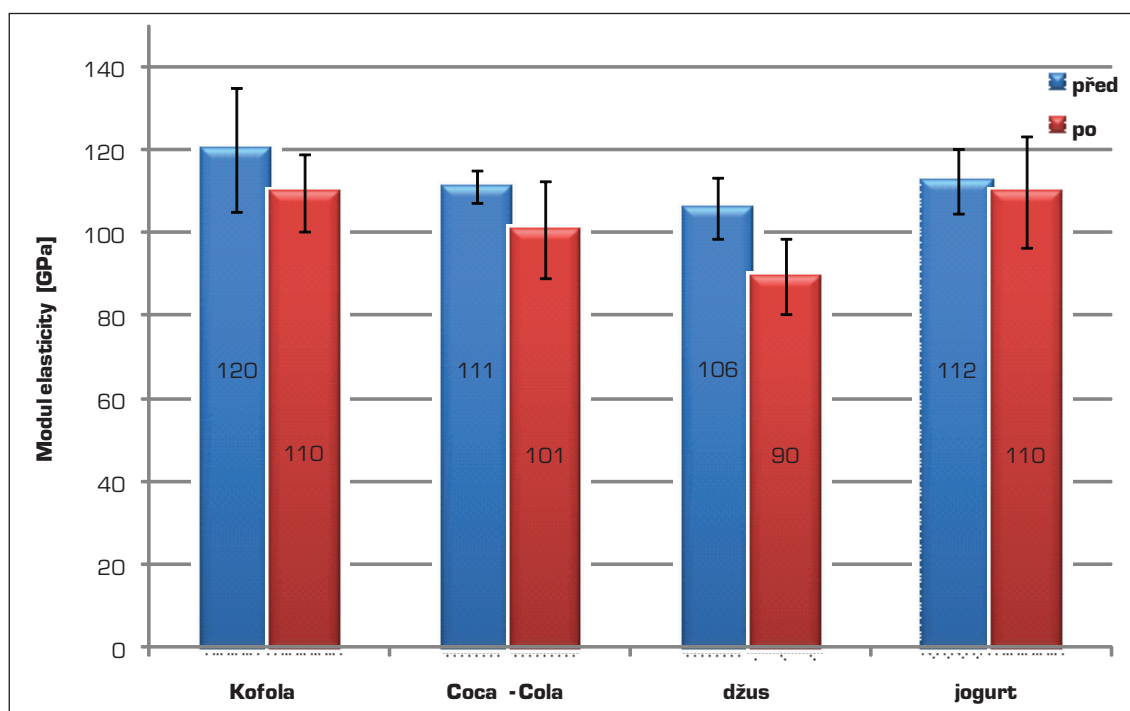
Tučně zvýrazněny signifikantní p hodnoty

tvrdosti skloviny vzorků ponořených do Kofoly činilo  $33,4 \pm 5,1$  %. Pokles mikrotvrdo-  
sti skloviny vystavené účinkům soft drinků a pomerančového džusu byl statisticky signi-  
fikantní ( $p < 0,05$ ). Změny mikrotvrdo-  
sti sklovinných vzorků ponořených do jogurtu Kla-  
sik proti tomu signifikantní nebyly ( $p > 0,05$ ) (graf 3, tab. 1).

Největší pokles modulu elasticity byl pozorován u sklovinných vzorků vystavených pů-  
sobení pomerančového džusu ( $15,7 \pm 4,7$  %) a Kofoly ( $14,9 \pm 9,0$  %). O něco menší byl



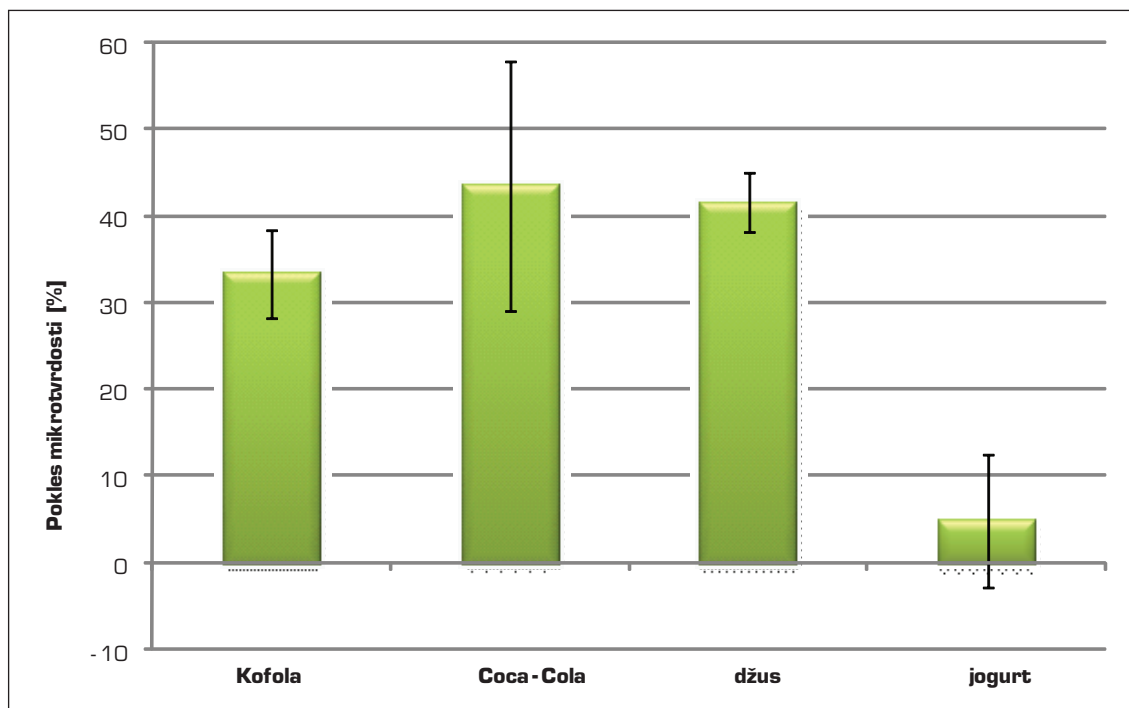
**Graf 1** Průměrné hodnoty mikrotvrdo-  
sti skloviny vzorků před a po expozi-  
ci v testovaných nápo-  
jích a jogurtu



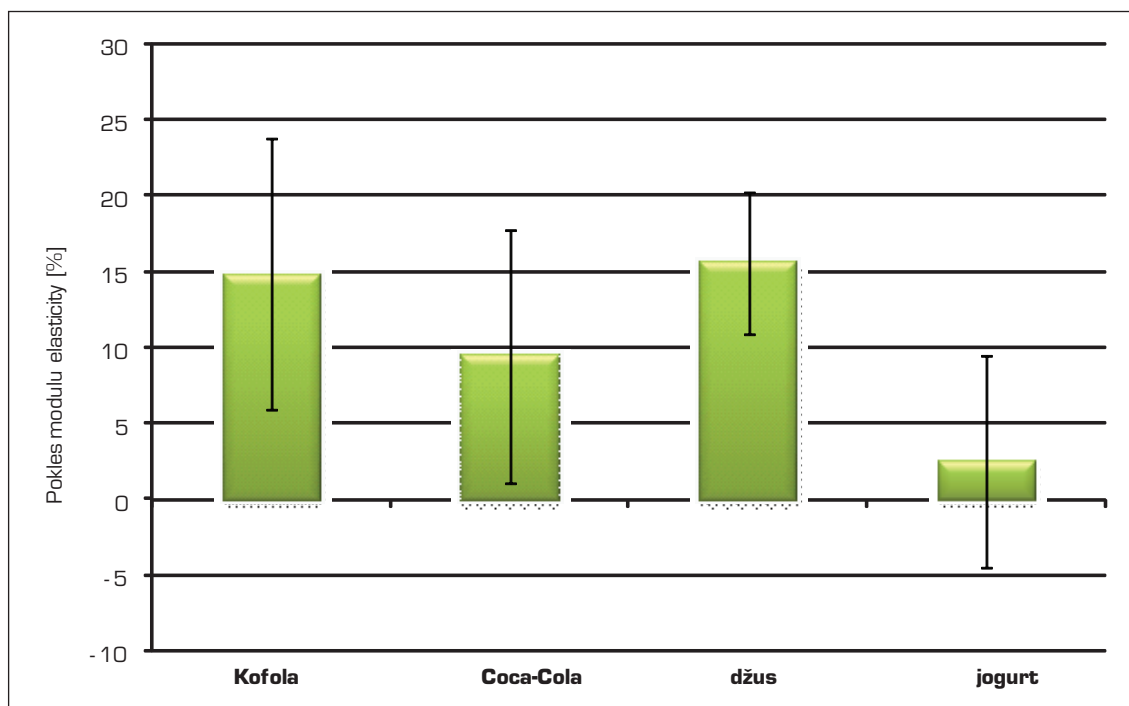
**Graf 2** Průměrné hodnoty modulu elasticity skloviny vzorků před a po expozi-  
ci v testovaných ná-  
pojích a jogurtu

**Tab. 2** pH a titrovatelná acidita testovaných nápojů a jogurtu

Nápoj/potravina	pH	Titrovatelná acidita 10 <sup>-3</sup> , mol/l NH <sub>4</sub> OH (c=0,2 mol/l)
Kofola	2,65	1,52
Coca-Cola	2,60	1,58
Pomerančový džus Hello	3,74	5,26
Bílý jogurt Klasik	4,40	2,02



**Graf 3** Pokles mikrotvrdości sklovinných vzorků po působení testovaných nápojů a jogurtu

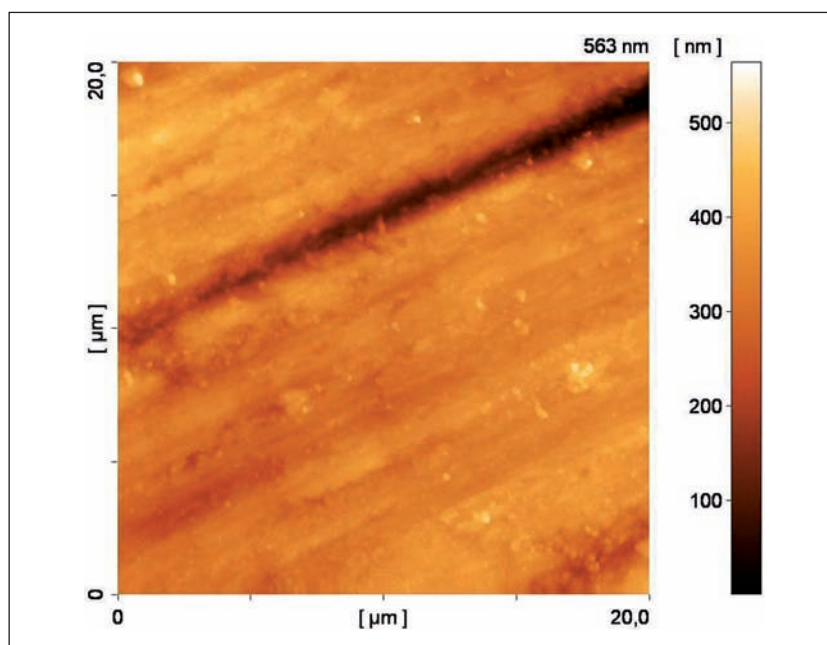


**Graf 4** Pokles modulu elasticity sklovinných vzorků po působení testovaných nápojů a jogurtu

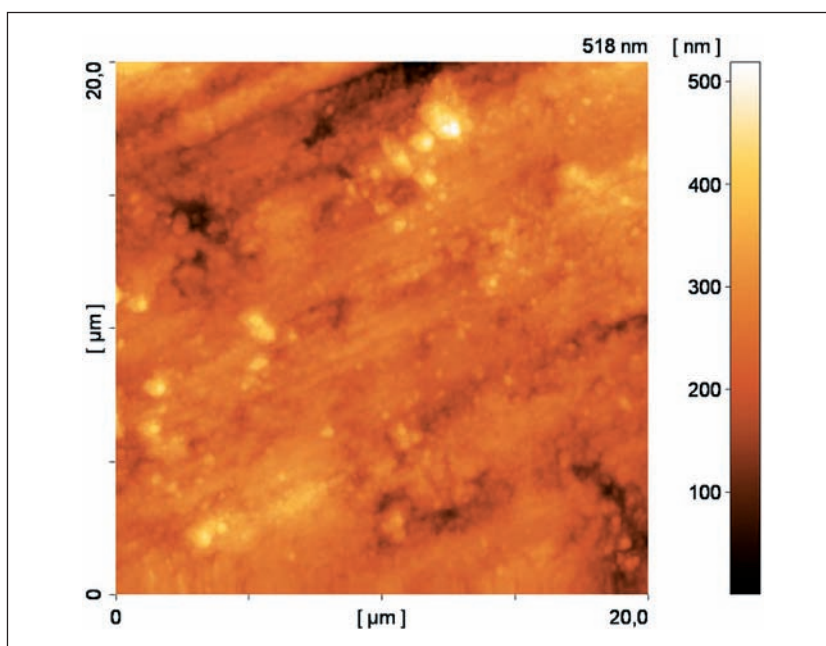
pokles modulu elasticity v případě Coca-Coly ( $9,5 \pm 8,4$  %). Změny modulu elasticity však nebyly statisticky signifikantní ( $p > 0,05$ ). Jogurt ani v tomto případě nevyvolal signifikantní změny modulu elasticity sklovinných vzorků ( $p > 0,05$ ) (graf 4, tab. 1).

Hodnoty pH a titrovatelné acidity jsou uvedeny v tabulce 2. Nejnižší hodnotu pH z testovaných potravin a nápojů měla Coca-Cola, a to 2,6. Nejvyšší hodnotu pH v našem experimentu vykazoval jogurt Klasik, pH činilo 4,4. Pomerančový džus Hello měl nejvyšší hodnotu titrovatelné acidity, a to  $5,26 \cdot 10^{-3}$  mol/l. Nejmenší hodnota titrovatelné acidity byla zjištěna u Kofoly, činila  $1,52 \cdot 10^{-3}$  mol/l.

Povrchová topografie sklovinných vzorků před a po působení nápoje Coca-Cola prozkoumaná pomocí mikroskopu atomárních sil je zachycena na obrázcích 3 a 4. Obrázky jasně ilustrují změnu morfologie povrchu před expozicí Coca-Cole a po ní.



**Obr. 3** Topografie povrchu sklovinného vzorku. AFM



**Obr. 4** Topografie povrchu sklovinného vzorku po pětiminutové expozici v nápoji Coca-Cola. AFM (je patrné zvýšení drsnosti povrchu vzorku)



## DISKUSE

Kyseliny obsažené v potravinách a nápojích jsou považovány za hlavní příčinu vzniku dietetických erozí tvrdých zubních tkání. Erozivní potenciál potravin a nápojů je dán nejen hodnotou pH, ale také titrovatelnou aciditou (tj. množstvím zásaditých agens potřebných pro neutralizaci kyselého pH potravin nebo nápoje), typem, silou a koncentrací kyselin, chelatačními vlastnostmi potravin nebo nápoje a obsahem minerálních látek, jako jsou vápník, fosfáty a fluoridy [18, 31]. In vivo mají význam i další faktory, jako jsou přítomnost dentální pelikuly a její tloušťka, struktura zubní skloviny, množství a kvalita sliny. Vnímavost zubního povrchu k erozivnímu poškození ovlivňuje také adheze nápoje či potravin k povrchu zubu, frekvence, množství a způsob jejich konzumace. Roli hraje i teplota kyselého nápoje nebo potravin [7, 10, 11, 19, 26, 30]. V mnoha pracích se prokázalo, že se při zvýšení teploty nápoje zvyšuje jeho erozivní potenciál [2, 8, 30].

Problematické působení kyselých nealkoholických nápojů na povrch zubní skloviny se věnuje mnoho studií realizovaných na sklovinných vzorcích připravených z lidských zubů. Pro zjišťování erozivních změn na povrchu vzorků se obvykle používají profilometrie [2, 8, 30] a mikroskopie atomárních sil [2], popř. skenující mikroskopie [4]. V poslední době se k vyšetření povrchu skloviny stále častěji užívá nanoindentace [2, 20, 23, 25]. Nanoindentace umožňuje selektivní a neinvazivní měření mechanických vlastností tvrdých materiálů, jako je zubní sklovina [23]. Navíc lze s její pomocí přesně identifikovat i malý úbytek tvrdých zubních tkání po krátké expozici účinkům agresivních chemikálií [2]. Nanoindentory nové generace pracují s kontinuálním záznamem zátěžné síly a indentační hloubky a umožňují stanovení mikrotvrdomosti i modulu elasticity zkoumaného materiálu. Modul elasticity je jednou ze základních fyzikálních elastických konstant materiálu, která přímo souvisí s atomovými vazbami a jeho strukturou. Jeho znalost umožňuje komplexnější popis mechanických vlastností materiálu a je také základním vstupním parametrem při numerickém modelování.

Podmínky našeho nanoindentačního experimentu byly nastaveny tak, aby se primárně zkoumal povrch vzorků. Na základě předběžných experimentů byla zvolena indentační síla o velikosti 10 mN. Odpovídající maximální hloubka okolo 300 nm zajišťovala lokální charakter měření, zároveň však byla dostatečně velká pro eliminaci parazitních efektů souvisejících s drsností povrchu či stanovením přesného tvaru diamantového indentoru. Standardizovaný experimentální postup a upínání vzorku do nanoindentoru nám umožnily zkoumat vždy stejnou oblast vyšetřovaného vzorku před i po expozici testovanému nápoji či jogurtu.

S pomocí mikroskopu atomárních sil jsme získali obraz povrchu vzorku, a mohli tak pozorovat morfologii jeho povrchu. Obrázky 3 a 4 jasně ilustrují změnu morfologie povrchu před a po expozici nápoji Coca-Cola.

V naší studii vyvolala největší pokles mikrotvrdomosti skloviny pětiminutová expozice vzorků účinkům nápoje Coca-Cola, který obsahuje kyselinu fosforečnou, a pomerančového džusu Hello, obsahujícího kyselinu citronovou. Modul elasticity se nejvíce snížil u vzorků ponořených do džusu Hello a nápoje Kofola, v jehož receptuře se vyskytuje kyselina citronová. V sycených nápojích (v našem případě Coca-Cola a Kofola) je navíc přítomná kyselina uhličitá. V našem experimentu nebyly zjištěny signifikantní změny hodnot modulu elasticity sklovinných vzorků. Tento jev pravděpodobně souvisí se složitou mikroskopickou strukturou zubní skloviny. Zároveň dokládá komplexní problematiku mechanismu destrukce systému prizmat a samotné krystalické mřížky hydroxyapatitu skloviny lidských zubů. Detailní analýza samotných procesů destrukce zubní skloviny a její kinetika vyžadují další systematický výzkum.

Výsledky zahraničních in vitro studií ukazují, že perlivé nápoje jsou pro zubní povrch mnohem agresivnější než ovocné džusy. Machado a kol. zkoumali metodou nanoindentace s použitím Berkovičova indentoru změny mikrotvrdomosti a modulu elasticity sklovinných vzorků vystavených účinkům pomerančového džusu a syceného nápoje Sprite po dobu 30 minut při teplotě nápojů 5 °C. Expozice účinkům perlivého nápoje vyvolala větší redukci mikrotvrdomosti a modulu elasticity sklovinných vzorků ve srovnání s pomerančovým džusem [23].

Lussi a kol. porovnávali erozivní potenciál neperlivých soft drinků (Coca-Cola, Sprite) a různých ovocných džusů (pomerančový, jablečný, kiwi a multivitaminový). Doba po-

noření sklovinných vzorků činila 3 minuty, teplota testovaných nápojů byla 37 °C. Metodou nanoindentace s použitím Knoopova indentoru byla změřena mikrotvrdość vzorků před a po expozici uvedeným nápojům. Jako nejagresivnější pro zubní povrch se ukázal nápoj Sprite. Pokles mikrotvrdości vzorků vystavených působení Coca-Coly byl vyšší než u vzorků ponořených do pomerančového džusu [20].

Podobné výsledky ukazující na nepříznivý vliv soft drinků a ovocných džusů na povrch zubní skloviny byly demonstrovány ve studii, kterou provedli Larsen a Nyvad [16]. Předmětem testování bylo šestnáct sycených nápojů zahrnujících minerální vody, pomerančový džus a pomerančový džus s přísávkem vápníku a fosfátu. Expozice perlivým minerálním vodám vyvolala rozpouštění nevýrazného množství skloviny vzorků. Defekty zubní skloviny však byly jasně identifikovány na mikroradiogramech. Perlivé nápoje typu soft drink způsobily výrazný úbytek nejen skloviny, ale i dentinu. Takto podmíněné erozivní defekty byly nejhlubší u vzorků vystavených účinkům sycených nápojů s hodnotou pH < 3,3. V porovnání s perlivými nápoji způsobil pomerančový džus méně hluboké erozivní léze vzorků skloviny. Pomerančový džus s obsahem vápníku (43 mmol/l), fosfátu (31 mmol/l) a fluoridu (0,09 ppm) vyvolal méně rozpouštění tvrdých zubních tkání, což ukazuje na jeho méně agresivní účinek na zubní povrch. Přidání minerálních látek (vápník, fosfáty, fluoridy) do kyselých potravin a nápojů je jedním ze způsobů snížení jejich negativního působení na tvrdé zubní tkáň [6, 13, 16, 18, 29].

Příkladem potravin s nízkým pH nevyvolávajícím erozivní poškození tvrdých zubních tkání je jogurt. Hodnota pH jogurtu se pohybuje mezi 4,0–4,4. Díky obsahu minerálních látek, jako jsou vápník a fosfáty, však jogurt nevykazuje žádný agresivní vliv na povrch zubů. Ani v naší studii expozice vzorků účinkům bílého jogurtu Klasik nezpůsobila signifikantní změny mechanických vlastností skloviny. Naše výsledky jsou v souladu s výsledky cizích in vitro prací, ve kterých jogurt neerodoval zubní povrch, ale dokonce jej zpevňoval díky vysokému obsahu vápníku a fosfátů, které podporují remineralizaci zubní skloviny [19, 20, 21]. Jogurt a jiné mléčné potraviny mohou vykazovat erozivní potenciál, jen pokud mají kyselé pH a současně nízký obsah minerálních látek [18].

## ZÁVĚR

Výsledky naší práce prokázaly signifikantní změny v mikrotvrdości sklovinných vzorků vystavených pětiminutovému působení kyselých nápojů Kofola, Coca-Cola a pomerančového džusu Hello. Největší redukci mikrotvrdości skloviny jsme zaznamenali u vzorků ponořených do Coca-Coly, a to  $43,6 \pm 14,4$  % a u pomerančového džusu Hello, a to  $41,7 \pm 3,4$  %. Nejvýraznější pokles modulu elasticity jsme pozorovali u vzorků ponořených do pomerančového džusu, a to  $15,7 \pm 4,7$  %, u Kofoly pokles činil  $14,9 \pm 9,0$  %. Jogurt, přestože má kyselé pH, nevyvolal díky svému minerálnímu složení (vápník a fosfáty) výrazné změny mechanických vlastností skloviny.

V našem experimentu byl potvrzen negativní vliv vybraných kyselých sycených nápojů a ovocného džusu na mechanické vlastnosti zubní skloviny a jejich možná role ve vzniku dietetických zubních erozí. Prozkoumání erozivního potenciálu nápojů a potravin s obsahem kyselin, vysokou titrovatelnou aciditou a nízkým obsahem minerálů může přispět ke zlepšení informovanosti odborné veřejnosti o rizicích spojených s příjmem těchto nápojů a potravin.

## LITERATURA

- Attin, T.:** Methods for assessment of dental erosion. In Lussi, A., Addy, M., Angmar-Mansson, B., et al.: Dental erosion from diagnosis to therapy, Basel, Karger, 2006, s. 155, 164.
- Barbour, M. E., Finke, M., Parker, D. M., Hughes, J. A., Allen, G. C., Addy, M.:** The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. J. Dent., roč. 34, 2006, č. 3, s. 207–213.
- Bartlett, D. W., Shah, P.:** A critical review of non-cariou cervical (wear) lesions and the role of abfraction, erosion and abrasion. J. Dent. Res., roč. 85, 2006, č. 4, s. 306–312.
- Borjian, A., Ferrari, C. C. F., Anouf, A., Touyz, L. Z. G.:** Pop-Cola acids and tooth erosions: an in vitro, in vivo, electron-microscopic, and clinical report [cit. 2011-07-05]. Dostupný z <http://www.hindawi.com/journals/ijd/2010/957842/>
- Čečetková, A., Ondrašovičová, J., Petrášová,**

- A.:** Získané zmeny tvrdých zubných tkanív I. Erózia. Stomatológ, roč. 2, 2007, č. 17, s. 28–31.
6. **Davis, R. E., Marshall, T. A., Gian, F., Warren, J. J., Wefel, J. S.:** In vitro protection against dental erosion afforded by commercially available, calcium-fortified 100 percent juices. J. Am. Dent. Assoc., roč. 138, 2007, č. 12, s. 1593–1598.
  7. **Edwards, M., Creanor, S. L., Foye, R. H., Gil-mour, W. H.:** Buffering capacities of soft drinks: the potential influence of dental erosion. J. Oral Rehabil., roč. 26, 1999, č. 12, s. 923–927.
  8. **Eisenburger, M., Addy, M.:** Influence of liquid temperature and flow rate on enamel erosion and surface softening. J. Oral Rehabil., roč. 30, 2003, č. 11, s. 1076–1080.
  9. **Featherstone, J. D. B., Lussi, A.:** Understanding the chemistry of dental erosion. In Lussi, A., Addy, M., Angmar-Mansson, B., et al.: Dental erosion from diagnosis to therapy, Basel, Karger, 2006, s. 68.
  10. **Hara, A. T., Ando, M., Gonzalez-Cabezas, C., Cury, J. A., Serra, M. C., Zero, D. T.:** Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. J. Dent. Res., roč. 85, 2006, č. 7, s. 612–616.
  11. **Hara, A. T., Zero, D. T.:** Biological factors. In Lussi, A., Addy, M., Angmar-Mansson, B., et al.: Dental erosion from diagnosis to therapy, Basel, Karger, 2006, s. 89, 91, 95.
  12. **Hooper, S. M., Newcombe, R. G., Faller, R., Eversole, S., Addy, M., West, N. X.:** The protective effects of toothpaste against erosion by orange juice: studies in situ and in vitro. J. Dent., roč. 35, 2007, č. 6, s. 476–481.
  13. **Hughes, J. A., Jandt, K. D., Baker, N., Parker, D., Newcombe, R. G., Eisenburger, M., Addy, M.:** Further modification to soft drinks to minimise erosion. Caries Res., roč. 36, 2002, č. 1, s. 70–74.
  14. **Ivančáková, R.:** Problematika erozí zubů u dětí. LKS, roč. 13, 2003, č. 6, s. 11–13.
  15. **Jain, P., Nihill, P., Sobkowski, J., Agustin, M. Z.:** Commercial soft drinks: pH and in vitro dissolution of enamel. Gen. Dent., roč. 55, 2007, č. 2, s. 150–154.
  16. **Larsen, M. J., Nyvad, B.:** Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. Caries Res., roč. 33, 1999, č. 1, s. 81–87.
  17. **Lukáčová, I.:** Nutriční aspekty zubního zdraví. Bakalářská práce. Lékařská fakulta, Masarykova univerzita v Brně, 2007, s. 54–57 [citace 2011-07-07]. Dostupný z [http://is.muni.cz/th/142428/lf\\_b/Irena\\_Lukacova.pdf](http://is.muni.cz/th/142428/lf_b/Irena_Lukacova.pdf)
  18. **Lussi, A., Jaeggi, T.:** Chemical factors. In Lussi, A., Addy, M., Angmar-Mansson, B., et al.: Dental erosion from diagnosis to therapy, Basel, Karger, 2006, s. 78, 81.
  19. **Lussi, A., Jaeggi, T., Zero, D.:** The role of diet in the etiology of dental erosion. Caries Res., roč. 38, 2004, suplement 1, s. 34–44.
  20. **Lussi, A., Kohler, N., Zero, D., Schaffner, M., Megert, B.:** A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. Eur. J. Oral Sci., roč. 108, 2000, č. 2, s. 110–114.
  21. **Lussi, A.:** Erosion tooth wear. Workshop. Bern, April, 2010.
  22. **Lussi, A.:** Erosive tooth wear- a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. In Lussi, A., Addy, M., Angmar-Mansson, B., et al.: Dental erosion from diagnosis to therapy, Basel, Karger, 2006, s. 2.
  23. **Machado, C., Lacefield, W., Catledge, A.:** Human enamel nanohardness, elastic modulus and surface integrity after beverage contact. Braz. Dent. J., roč. 19, 2008, č. 1, s. 68–72.
  24. **Oliver, W. C., Pharr, G. M.:** An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. J. Mater. Res., 1992, č. 7, s. 1564–1583.
  25. **Ren, Y.-F., Amin, A., Malmstrom, H.:** Effects of tooth whitening and orange juice on surface properties of dental enamel. J. Dent., roč. 37, 2009, č. 6, s. 424–431.
  26. **Smales, R. G., Kaidonis, J. A., Dawes, C.:** Tooth structure, saliva and critical pH. In Yip, K. H. K., Smales, R. G., Kaidonis, J. A.: Tootherosion: prevention and treatment, New Delhi, Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd, 2006, s. 12, 15, 19–21.
  27. **Tahmassebi, J. F., Duggal, M. S., Malik-Kotru, G., Curzon, M. E. J.:** Soft drinks and dental health: a review of the current literature. J. Dent., roč. 34, 2006, č. 1, s. 2–11.
  28. **Touyz, L. Y. G., Mehio, A.:** Dental ravages from acidulated soft drinks. J. Aesth. Implant Dentistry, roč. 8, 2006, č. 3, s. 20–33.
  29. **West, N. X., Hughes, J. A., Parker, D. M., Newcombe, R. G., Addy, M.:** Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink in vitro and in situ. 2. Comparison with a conventional blackcurrant juice drink and orange juice. J. Dent., roč. 27, 1999, č. 5, s. 341–344.
  30. **West, N. X., Hughes, J. A., Addy, M.:** Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. J. Oral Rehabil., roč. 27, 2000, č. 10, s. 875–880.
  31. [www.elearningerosion.com](http://www.elearningerosion.com)

#### Poděkování

Práce vznikla za podpory grantového projektu IGA UP s číslem LF\_2011\_003.

Autoři děkují prof. RNDr. J. Kameníčkoví, CSc., z Katedry anorganické chemie PřF UP za rady a pomoc při provedení chemických analýz.

Stomatolog Julia Morozova  
Klinika zubního lékařství LF UP a FN  
Palackého 12  
772 00 Olomouc  
e-mail: [julia.morozova@upol.cz](mailto:julia.morozova@upol.cz)

ČESKÁ  
STOMATOLOGIE  
roč. 112  
2012, č. 3  
s. 77–87