

DISCIPLINA DE BIOQUÍMICA  
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA

# Tema: coleta de saliva, análise macroscópica, determinação de fluxo, pH e capacidade tamponante

---

## Introdução:

A saliva total mista estimulada é constituída por água, proteínas e peptídeos, carboidratos, lipídeos e eletrólitos, que exercem funções diversas. Pode ser obtida por diferentes métodos, dentre eles o que utiliza roletes de algodão, que são posicionados no assoalho bucal. A saliva é posteriormente extraída do algodão por centrifugação, o que permite a obtenção de um fluido mais límpido e livre de restos de células descamadas, microrganismos, restos de alimentos e outros materiais, que podem interferir em análises de parâmetros que forneçam indicações sobre a presença de algumas alterações ou patologias bucais ou sistêmicas.

Avaliar macroscopicamente o aspecto da saliva, antes ou mesmo após a centrifugação, pode fornecer informações importantes. Coloração avermelhada indica a possível presença de sangue, comum nos casos de gengivite e doenças periodontais. Coloração mais amarelada pode ser um indicativo do tabagismo. O consumo de alimentos e guloseimas coloridos como balas, gomas de mascar, refrigerantes também podem alterar transitoriamente a coloração do fluido salivar, enquanto a presença de restos de alimentos sinaliza para possível deficiência na higiene bucal. Uma aparência mais viscosa pode indicar baixa hidratação do paciente. Alterações observadas nessa análise devem ser associadas às informações presentes na anamnese e durante o exame bucal do bucal.

O tempo para a coleta da amostra de saliva pode ser cronometrado e utilizado para o cálculo do fluxo salivar, um parâmetro influenciado por muitos fatores, dentre eles estado de hidratação, idade do paciente, ciclo sono vigília, uso de medicamentos, alterações na função das glândulas salivares e doenças sistêmicas como diabetes. Valores reduzidos de fluxo podem comprometer a saúde bucal.

A saliva total mista estimulada pode ser utilizada para a determinação do pH, um parâmetro influenciado por diversos fatores, dentre os quais o tipo de alimento consumido e a condição de higiene bucal. A manutenção desse parâmetro é realizada pelos sistemas tampão bicarbonato, fostato e por proteínas. Reduções transitórias dos valores de pH salivar tendem a ser rapidamente corrigidas por esses sistemas, contribuindo para a manutenção da integridade das estruturas da boca. Conhecer a capacidade tampão da saliva (CTS) é útil para prever a susceptibilidade à cárie de um indivíduo.

## Objetivos:

Realizar a coleta de saliva pela técnica do rolete de algodão. Utilizar o fluido obtido para análise macroscópica, determinação de fluxo, pH e capacidade tamponante. Preparar os grupos de alunos para realizar os mesmos procedimentos com a saliva de doador, na próxima aula prática.

## Reagentes:

- ✓ 50 mL **Solução de ácido láctico** na concentração de 0,1 mol/L.

Ácido láctico ..... 3,30 mL  
H<sub>2</sub>O ..... qsp 400 mL

Fórmula molecular: C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>                      Densidade: 1,21 g/mL  
Massa molar: 90,08 g/mol                      Pureza 90%  
IUPAC: 2-Hydroxypropanoic acid

- ✓ **Solução de alaranjado de metila** na concentração de 0,1 mol/L, em frasco conta-gotas.

Alaranjado de metila ..... 0,05 g  
H<sub>2</sub>O ..... qsp 100 mL

Fórmula molecular: C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>3</sub>S  
Massa molar: 327,33 g/mol  
IUPAC: 4-dimethylaminoazobenzene-4'-sulfonic acid sodium salt

## Material necessário:

- ✓ Copo com água mineral;
- ✓ Isopor com gelo;
- ✓ dispositivo para coleta de saliva tipo "Salivette", previamente pesado;
- ✓ caixa com fita indicadora de pH;
- ✓ suporte universal com garra;
- ✓ 1 bureta de 25 mL;
- ✓ 2 erlenmeyers de 25 mL;
- ✓ 2 béqueres de 50 mL;
- ✓ pipeta graduada de 5,0 mL;
- ✓ pipeta automática (1000 µL) e ponteiros compatíveis;
- ✓ pró-pipeta;
- ✓ pinça inox;
- ✓ papel toalha;

- ✓ pisseta com água destilada;
- ✓ pisseta com detergente diluído;
- ✓ cepilho
- ✓ frasco com solução de hipoclorito 0,2 % (v/v);

## Princípios dos métodos

O método de coleta utilizando rolete de algodão permite obter saliva total mista, estimulada pela presença dos roletes no assoalho da boca (Figura 1). Os roletes são retirados quando estiverem saturados com o fluido, ou até que seja atingido um tempo máximo de coleta, pré-estipulado.

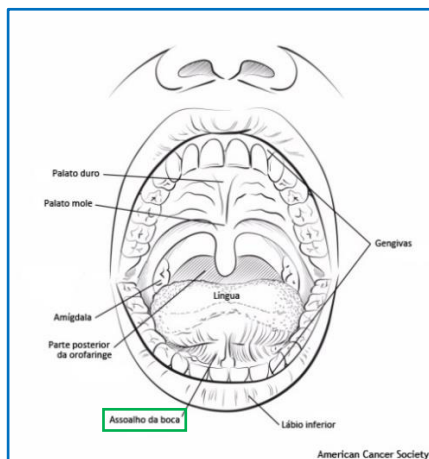


Figura 1. Anatomia da cavidade oral, mostrando assoalho da boca.  
[https://www.oncoguia.org.br/pub/5\\_tipos\\_de\\_cancer/boca\\_orofaringe\\_1.jpg](https://www.oncoguia.org.br/pub/5_tipos_de_cancer/boca_orofaringe_1.jpg).  
Acesso em 22/03/24. Modificado.

A extração da saliva do algodão ocorre por centrifugação, com auxílio de sistemas constituídos por tubos. Esses sistemas de coleta (Figura 2) são comercializados por diferentes marcas e muitas vezes são denominados, independente da marca, de Salivettes®.

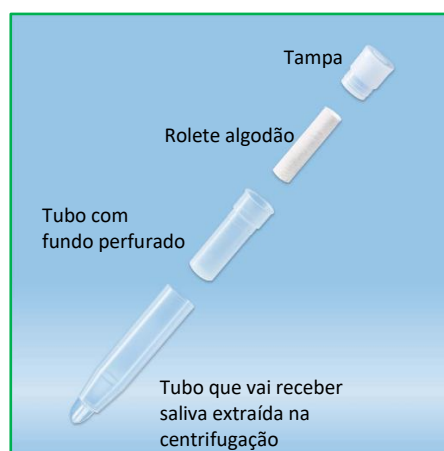


Figura 2. Partes do sistema para coleta e centrifugação de saliva  
<https://cial-paulinia.com.br/wp-content/uploads/2022/04/Salivette.jpg>. Acesso em 22/03/24/ Modificado.

A análise macroscópica deve ser realizada pela simples inspeção do fluido obtido após a centrifugação e do rolete de algodão utilizado. Presença de coloração diferente, de partículas estranhas e viscosidade aparentemente alterada deve ser considerada.

O fluxo salivar expressa o volume de saliva em função do tempo. Para a obtenção do volume, quando realizada a coleta com rolete de algodão, considera-se a massa (g) de saliva obtida por meio da diferença de valores da massa do sistema após e antes da coleta. Assumindo como valor para a densidade da saliva 1,0 g/mL a massa de saliva obtida é equivalente ao volume (mL). Dividindo-se o volume de saliva obtido pelo tempo em minutos temos o fluxo salivar, expresso em mL/min.

A capacidade tamponante da saliva é determinada com técnica de titulação, considerando o volume de ácido láctico na concentração de 0,1 mol/L necessário para promover redução do pH da amostra até valor de pH 3,7. No procedimento utiliza-se como indicador de pH o alaranjado de metila, que em pH 3,7 muda da cor amarela para vermelha (Figura 3).

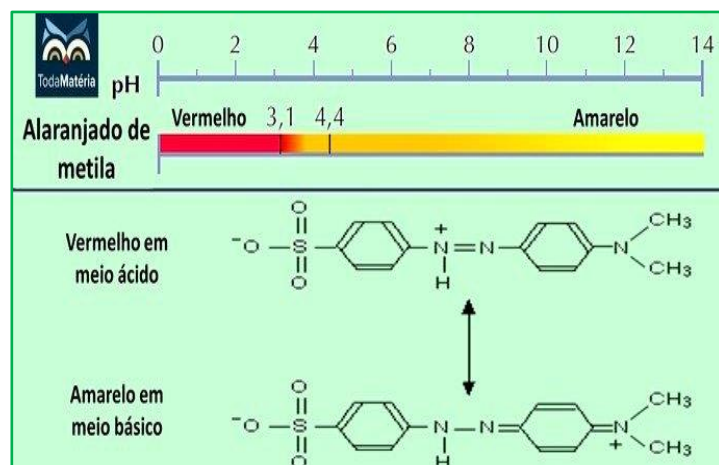


Figura 3. Alaranjado de metila: variações de cor e estrutura química em função da escala de pH. [https://static.todamateria.com.br/upload/po/nt/pontodeviragemalaranjadodemetila-0-cke.jpg?auto\\_optimize=low](https://static.todamateria.com.br/upload/po/nt/pontodeviragemalaranjadodemetila-0-cke.jpg?auto_optimize=low). Acesso em 22/03/24.

## Procedimentos e cálculos

### Paramentação:

- ✓ Durante toda a aula prática permanecer com o jaleco de manga longa, óculos de proteção, luvas e máscara. Cabelos médios e longos devem estar presos. Uso de calças compridas e sapatos fechados é imprescindível.

### Obtenção da amostra de saliva:

- ✓ A saliva será obtida de um aluno por grupo. Antes de iniciar a coleta o aluno deve enxaguar a boca com água mineral, bochechar e descartar tudo na pia. Após o descarte a torneira deve ficar aberta para lavar a tubulação e a cuba da pia;

- ✓ Após cuspir o doador da saliva deve manter a boca fechada por 30 segundos e então deglutir a saliva acumulada na boca;
- ✓ Para iniciar a coleta posicionar o rolete de algodão seguindo as orientações e disparar o cronômetro novamente. Quando o algodão estiver encharcado retirar da boca e transferir para o sistema de coleta ("salivette"). Outro aluno do grupo deve parar o cronômetro assim que o algodão for retirado;
- ✓ Anotar o tempo em minutos;
- ✓ Pesquisar o "salivete" e levar para a centrifugação (3.000 rpm) por 15 minutos;
- ✓ Retirar o material da centrifuga e levar para a bancada, mantendo no banho de gelo.

#### ***Exame macroscópico da saliva***

- ✓ Abrir o "salivette" e com auxílio da pinça retirar o algodão;
- ✓ Observar a presença de restos de alimentos, sangue, ou outros corpos no algodão ou na saliva centrifugada. Anotar;
- ✓ Descartar o algodão no lixo biológico.

#### ***Determinação do pH da saliva***

- ✓ Mergulhar a fita indicadora universal na saliva até que todos os indicadores umedeçam;
- ✓ Retirar imediatamente e comparar com a escala de cores da caixinha. Anotar o valor;
- ✓ Descartar a fita no lixo biológico.

Valores de referência:

- ✓ Normal: valores entre 6 e 7
- ✓ Ideais para a preservação do esmalte dos dentes: valores entre 6,5 e 7,2

#### ***Cálculo do fluxo salivar (mL/min)***

- ✓ O valor da massa ou peso (g) inicial do "salivette" será fornecida no início da aula. A massa final será obtida por pesagem, logo após o término da coleta.

$$\text{Fluxo Salivar} = (\text{massa final} - \text{massa inicial}) / \text{tempo de coleta}$$

Valores de referência:

- ✓ Fluxo normal: 1 a 3 mL/min. Fluxo muito baixo: < 0,7 mL/min (Ericsson, Hardwick, 1978).

### *Determinação da capacidade tampão da saliva (CTS)*

- ✓ Utilizar a experiência adquirida na aula anterior para a titulação.
- ✓ Preencher a bureta com a solução de ácido láctico 0,1 mol/L, mantendo embaixo da torneira fechada um béquer limpo e seco;
- ✓ Ajustar o menisco na marca do zero;
- ✓ Pipetar, com pipeta automática, 1,0 mL de saliva em um erlenmeyer (a ponteria usada para pipetar a saliva deve ser colocada imediatamente no descontaminante) e adicionar 5,0 mL de água destilada utilizando a pipeta de vidro. Homogeneizar;
- ✓ Pingar 2 gotas do indicador alaranjado de metila, que em pH 6,9 é amarelo-laranja, passando a vermelho em pH 3,7 e homogeneizar;
- ✓ Iniciar a titulação até viragem do indicador (mudança de cor) e anotar o volume de ácido gasto.
  - Cuidado, pois o volume gasto costuma ser pequeno!
- ✓ Confirmar o final da titulação verificando o valor do pH com fita indicadora;
- ✓ Trocar o erlenmeyer pelo béquer, para evitar que pingue ácido no suporte universal;
- ✓ Desprezar o conteúdo do erlenmeyer no frasco descarte (bancada do professor) enxaguar o erlenmeyer e colocar no descontaminante;
- ✓ Esvaziar a bureta retornando o ácido láctico não utilizado para o frasco de origem;
- ✓ Calcular o valor da CTS multiplicando o volume (mL) de ácido gasto na titulação por 100.

Valores de referência:

- ✓ CTS > 40 - indivíduos resistentes à cárie
- ✓ CTS = 40 – indivíduos medianamente susceptíveis à cárie
- ✓ CTS < 40 – indivíduos muito susceptíveis à cárie

### **Bibliografia**

- ✓ Ericsson Y; Hardwick L. Individual diagnosis, prognosis and counselling for caries prevention. **Progress in Caries Prevention**. Karger Publishers, 1978. 94-102.
- ✓ Basavaraj P, Khuller N, Khuller RI, Sharma N. Caries risk assessment and control. **J Oral Health Comm Dent** 2011; 5(2):58-63.
- ✓ Greabu M1, Battino M, Mohora M, Totan A, Didilescu A, Spinu T, Totan C, Miricescu D, Radulescu R. Saliva—a diagnostic window to the body, both in health and in disease. **J Med Life**. 2009 Apr-Jun;2(2):124-32.
- ✓ Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. **J Prosthet Dent**. 2001;85:162–9.
- ✓ Magalhães AC, Oliveira RC, Buzalaf MAR. **Bioquímica Básica e Bucal**, Ed. Santos, 2017.