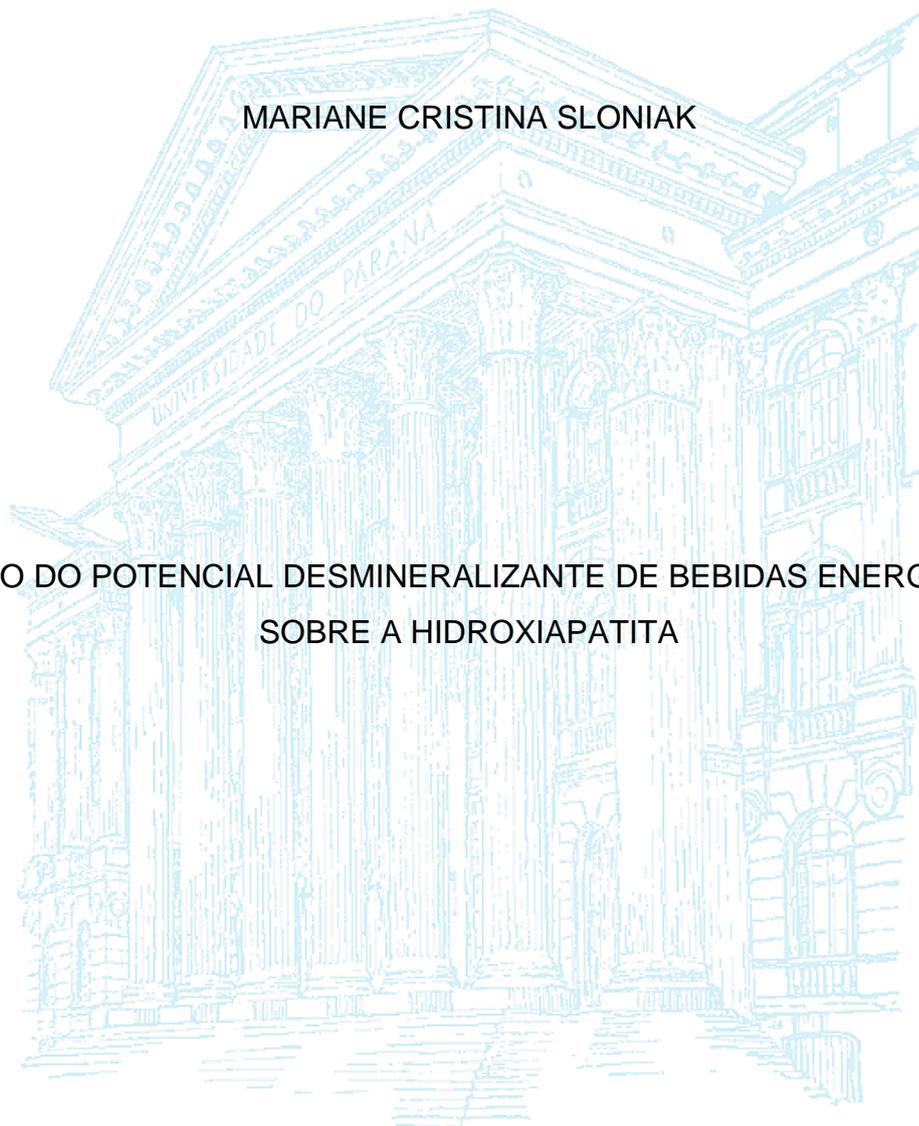


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIANE CRISTINA SLONIAK

ESTUDO DO POTENCIAL DESMINERALIZANTE DE BEBIDAS ENERGÉTICAS
SOBRE A HIDROXIAPATITA



CURITIBA
2014

MARIANE CRISTINA SLONIAK

ESTUDO DO POTENCIAL DESMINERALIZANTE DE BEBIDAS ENERGÉTICAS
SOBRE A HIDROXIAPATITA

Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação em Odontologia. Departamento de Estomatologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. José Vitor Nogara Borges de Menezes.

Coorientador: Prof. Dr. José Miguel Amenábar Céspedes.

CURITIBA
2014

Sloniak, Mariane Cristina

Estudo do potencial desmineralizante de bebidas energéticas sobre a hidroxiapatita / Mariane Cristina Sloniak – Curitiba, 2014.

75 f. : il (algumas color.) ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. José Vitor Nogara Borges de Menezes

Coorientador: Professor Dr. José Miguel Amenábar Céspedes

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2014.

Inclui bibliografia

1. Bebidas energéticas. 2. Durapatita. 3. Desmineralização.
4. Erosão dentária. I. Menezes, José Vitor Nogara Borges de. II. Céspedes, José Miguel Amenábar. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 617.63

TERMO DE APROVAÇÃO

MARIANE CRISTINA SLONIAK

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO

ESTUDO DO POTENCIAL DESMINERALIZANTE DE BEBIDAS
ENERGÉTICAS SOBRE A HIDROXIAPATITA

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:

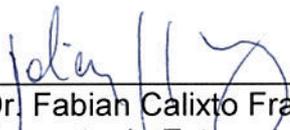
Orientador:



Prof. Dr. José Vitor Nogara Borges de Menezes
Departamento de Estomatologia, UFPR



Prof. Dr. José Miguel Amenábar Céspedes
Departamento de Estomatologia, UFPR



Prof. Dr. Fabian Calixto Fraiz
Departamento de Estomatologia-UFPR



Prof. Dr. Fernando Neves Nogueira
Departamento de Biomateriais-USP

Curitiba, 31 de março de 2014.

Ao meu grande amor e alicerce, meu esposo Leandro

À minha filha tão sonhada Stela

Aos meus grandes exemplos de sabedoria, meus pais:

Célia e Silvestre

Às minhas irmãs, eternas amigas: Kely, Gisele e Cristiane

Aos meus queridos sobrinhos Lucas, Letícia, Isadora e Sophia

À Deus

Por todo apoio, força, incentivo e amor que me fizeram acreditar...

Vocês representam tudo em minha vida!

AGRADECIMENTOS

À Deus por mais esta oportunidade... por guiar meu caminho me protegendo e fortalecendo nos momentos mais difíceis. À Nossa Mãe Maria que nas horas de angústia intercedeu por mim e confortou meu coração.

À Universidade Federal do Paraná (UFPR), pela oportunidade e estrutura oferecidas à minha qualificação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Ao Prof. Dr. José Vitor Nogara Borges de Menezes pela orientação, apoio, confiança e amizade para a realização deste trabalho e na apresentação da reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO).

Ao Prof. Dr. José Miguel Amenábar Céspedes pela coorientação e confiança, exemplo de dedicação e compromisso constante com o ensino e pesquisa, por todo o conhecimento transmitido, pela disponibilidade em me acompanhar em todos os dias de trabalho laboratorial, análises estatísticas, inclusive aos sábados e vésperas de feriado... por todo suporte, atenção e amizade durante a realização desta pesquisa. Muito obrigada Professor!

À Prof. Dra. Fernanda de Moraes Ferreira pela sua colaboração para o aprimoramento deste trabalho, na apresentação de trabalho na SBPqO e por estar sempre à disposição para esclarecimentos em bioestatística.

Ao Prof. Dr. Cassius Torres que me concedeu a oportunidade de orientar alunas de graduação em trabalhos durante o Mestrado.

Ao Prof. Dr. Fabian Fraiz pela experiência de ter sido banca examinadora do Evento de Atividades Formativas (ENAF) e realizar cirurgias periodontais demonstrativas ao curso de especialização em Odontopediatria da UFPR no decorrer do Mestrado.

À Prof. Dra. Elaine Benelli pelo apoio.

Ao corpo docente do Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Paraná, por todos os ensinamentos transmitidos.

Aos professores de graduação e pós graduação lato sensu, Dr. Fábio André dos Santos e Dr. Gibson Luiz Pilatti, pelas cartas de recomendação.

Ao meu querido esposo Leandro, meu grande Amor, pelo incentivo desde minha inscrição e processo seletivo até a conclusão deste trabalho. Você foi meu maior companheiro, meu melhor amigo e meu grande incentivador! Agradeço por você estar comigo nos dias de prova, nas noites em que eu ficava estudando e você também fazia seus trabalhos só para me fazer companhia... (que querido!), por me ensinar a utilizar o Excel (tabelas, gráficos, fórmulas...), Power Point, incentivar-me no inglês, ajudar na impressão de artigos, ficar me esperando na reunião da SBPqO, ir nos finais de semana comigo à Universidade para eu realizar alguns trabalhos de laboratório, ser meu companheiro nas festas do curso, o churrasqueiro oficial, enfim, você sempre esteve ao meu lado durante estes dois anos. Agradeço também por além de tudo isso você me dar o maior presente de conclusão do Mestrado: a nossa filha Stela! Serei eternamente grata a Você e a todo seu amor Meu Bem... amo muito Você!

Aos meus amados Pais Célia e Silvestre, que me transmitiram os maiores ensinamentos da vida. Pelo exemplo de sabedoria, humildade e fé. Agradeço em especial por serem meus maiores incentivadores para os estudos desde criança, o Pai tomava a lição e a Mãe não deixava eu ajudá-la nos serviços de casa para ter mais tempo para estudar. Obrigada por me amarem desta forma incondicional que me deixa segura e protegida sempre! Pelos dias em que vocês me fizeram companhia aqui em Curitiba durante o Mestrado, foram maravilhosos! Amo muito a senhora Mãe e o senhor Pai... infinitamente.

À minha querida irmã e amiga Kely, ao meu cunhado Sandro e aos meus sobrinhos Lucas e Letícia pela companhia nos finais de semana durante o primeiro ano de Mestrado, por me socorrerem levando meus documentos no dia do processo seletivo, pelo apoio nos dias difíceis durante o curso e pelo exemplo de fortaleza transmitidos. Agradeço em especial a você Lucas, por me ajudar nas dúvidas de informática. Amo muito vocês!

À minha querida irmã e amiga Gisele, por sempre estar disponível para conversar e por estar tão presente em minha vida mesmo estando longe... por me ajudar a superar medos e ansiedades e me fazer companhia durante estes dois anos. Você é um exemplo de força e determinação que me incentiva muito nos estudos, na vida. Obrigada pela adorável companhia na universidade durante a realização dos testes estatísticos... amo muito você Gi!

À minha querida irmã e amiga Cristiane, ao meu cunhado Everson e às minha sobrinhas Isadora e Sophia pelo incentivo desde a inscrição para o Mestrado, pelas ligações e emails tão carinhosos que me deixavam mais fortes e por sempre me tratarem com tanto amor. Vocês são muito prestativos e um exemplo de união. Amo demais essa família linda!

Aos meus sogros Sandra e Valmiro e ao meu cunhado Felipe pelo apoio.

À Laura Grein Cavalcanti pelas palavras de ânimo, sugestões nas apresentações dos seminários, por sempre me ajudar quando eu precisei... sempre! Pelas conversas e risadas que faziam o tempo voar... companheira de estudos em bioestatística, a mais perfeita organizadora de festas e eventos do Mestrado! Conhecê-la e ter você como amiga foi um grande presente!

À Sara Tódero pelos abraços apertados, pela companhia nas noites que passamos acordadas estudando, por sempre após os seminários vir me dizer que serei uma ótima professora, por me fazer acreditar... minha companheira de compras no mercado municipal, sua amizade foi um presente precioso, tornando estes dois anos muito mais divertidos!

Ao Rafael Boschetti por me ajudar a instalar programas de computador, compartilhar risadas sem motivo e ser meu amigo de turma em todas as disciplinas do Mestrado. Seu companheirismo tornou as aulas melhores!

Aos colegas Luciana, Bianca e Felipe, por compartilharem conhecimentos e dividirem alegrias; à Claudyane pela amizade e positividade!

Às alunas de graduação em Odontologia e Biomedicina, Rafaela e Stephany, pelo auxílio nos trabalhos laboratoriais; à Caroline Raichert por me ajudar na apresentação da SBPqO e ao Érico Bahena pelo apoio.

Ao Dr. Dante Lago por todo incentivo que me fez superar dificuldades que nem eu mesma acreditava ser capaz. Agradeço em especial sua amizade.

Às queridas amigas Julianna, Marcia, Cybelle, Josiane, Ana Cláudia, Cassiana e Taisi que contribuíram a sua maneira para eu realizar o Mestrado.

À Sra. Francisca que através de suas atividades domiciliares permitiu-me mais tempo de dedicação a este trabalho.

À Prefeitura Municipal do Imbaú pelo apoio aos estudos.

Aos colegas do Hospital da Polícia Militar do Paraná, em especial ao Cel. Roberto, Ivandro, Sandra, Edina e Elidalva pelo apoio e compreensão.

Não deixe que a saudade sufoque, que a rotina acomode,
que o medo impeça de tentar.

Desconfie do destino e acredite em você.
Gaste mais horas realizando que sonhando,
fazendo que planejando, vivendo que esperando,
porque, embora quem quase morre esteja vivo,
quem quase vive já morreu.

Sarah Westph

RESUMO

A desmineralização dental ocasionada por ácidos pode originar tanto a erosão quanto a cárie. Erosão é um processo patológico, progressivo e localizado, levando à perda de tecido dental duro, o qual é quimicamente removido da superfície dentária por ácidos e/ou quelação sem envolvimento bacteriano. A fonte extrínseca mais importante de exposição ácida é a dieta, tornando-se fundamental o conhecimento de agentes potencialmente erosivos tais como as bebidas energéticas. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial desmineralizante de algumas bebidas energéticas sobre a hidroxiapatita (HAP). Com base nas características de acidez das bebidas energéticas, um estudo *in vitro* foi desenvolvido. Nove diferentes marcas de energéticos (Burn[®], Red Bull[®], Fusion[®], Wild Dragon[®], Fire Bird[®], Insano[®], Flying Horse[®], Monster[®] e Psycho Drink[®]) comercializadas no Brasil, foram utilizadas para avaliar seu possível dano à HAP. Para isso, análises de pH e acidez titulável dos energéticos e concentrações de cálcio (Ca) e fósforo (P) da HAP após sua exposição à essas bebidas foram realizadas. Os tempos de exposição foram de 1, 3, 5, 7, 10 e 15 minutos. Os resultados foram analisados estatisticamente por teste de ANOVA, pós-teste de Tukey e teste de correlação de Pearson ($p \leq 0,05$). Com base nos valores de perda de Ca e P da HAP, o energético que apresentou a maior perda de Ca foi o Fire Bird[®] no tempo de 15 minutos e a menor foi o Red Bull[®] no tempo de 10 minutos. A bebida energética que apresentou a maior perda de P foi o Fusion[®] no tempo de 7 minutos, e a menor foi o Wild Dragon[®], também no tempo de 7 minutos. Todas as bebidas energéticas, independente do seu pH e acidez titulável, ocasionaram desmineralização da HAP.

Palavras-chave: bebidas energéticas, durapatita, desmineralização, erosão dentária.

ABSTRACT

The tooth demineralization caused by acids may lead to erosion as well as decay. Erosion is a localized pathological progressive process, leading to loss of dental hard tissue, chemically removed from the tooth surface by acid and/or chelation without bacterial involvement. The most important extrinsic source of acid exposure is diet, so awareness of potential erosive agents, such as energy drinks, is important. The study aimed at investigating the demineralizing potential of some energy drinks on hydroxyapatite (HAP). Based on the acidity characteristics of energy drinks, an *in vitro* experimental study was developed. Nine different brands of energy drinks(Burn[®], Red Bull[®], Fusion[®], Wild Dragon[®], Fire Bird[®], Insano[®], Flying Horse[®], Monster[®] and Psycho Drink[®]) traded in Brazil were used to evaluate their potential damage in HAP. In order to address that question, analyses of pH, titratable acidity, and concentrations of Ca and P of HAP after exposure to these drinks were conducted. The exposure times were 1, 3, 5, 7, 10, and 15 minutes. The results were statistically analysed by ANOVA test, Tukey post test and Pearson's correlation test ($p \leq 0,05$). Based on values of Ca and P losses on HAP, the energy drink that showed the largest loss of Ca was Fire Bird[®] in 15 minutes observation and the lowest was Red Bull[®] in 10 minutes observation. The energy drink with the highest P loss was Fusion[®] in 7 minutes observation and the lowest was Wild Dragon[®] also in 7 minutes observation. All energy drinks, regardless of their pH and titratable acidity, caused demineralization of HAP.

Keywords: Energy drinks, durapatite, demineralization, tooth erosion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - LINHAS DE SOLUBILIDADE DO ESMALTE, HAP E FAP	23
GRÁFICO 1 - PERFIL DA CURVA DE ACIDEZ TITULÁVEL DE 40ML DAS AMOSTRAS DE ENERGÉTICO COM SOLUÇÃO DE 0,5M DE NaOH, DO pH INICIAL AO pH 5,5 (CRÍTICO) E AO pH 7,0 (NEUTRO).....	49
GRÁFICO 2 - PERFIL DAS ALTERAÇÕES DE pH DOS DIFERENTES ENERGÉTICOS NOS TEMPOS DE 1, 3, 5, 7, 10 E 15 MINUTOS A 37 ⁰ C	50
GRÁFICO 3 - PERFIL DA MÉDIA DE Ca E P DA HAP COM BURN [®]	53
GRÁFICO 4 - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM RED BULL [®]	54
GRÁFICO 5 - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM FUSION [®]	55
GRÁFICO 6 - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM WILD DRAGON [®]	56
GRÁFICO 7- PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM FIRE BIRD [®]	57
GRÁFICO 8 - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM INSANO [®]	58
GRÁFICO 9 - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM FLYING HORSE [®]	59
GRÁFICO 10 - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM MONSTER [®]	60
GRÁFICO 11 - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM PSYCHO DRINK [®]	61

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO APROXIMADA DE ESMALTE E DENTINA COMO PERCENTUAL VOLUMÉTRICO DO TECIDO TOTAL.....	19
TABELA 2 - ENERGÉTICOS, INGREDIENTES, FABRICANTES E REVENDEDORES NO BRASIL	42
TABELA 3 - DETERMINAÇÃO DE pH INICIAL, ACIDEZ TITULÁVEL, CONCENTRAÇÕES DE Ca, P DOS ENERGÉTICOS.....	48
TABELA 4 - QUANTIDADE DE PERDA DE Ca (mg/dl) DA HAP APÓS DIFERENTES TEMPOS DE INCUBAÇÃO NOS ENERGÉTICOS A 37°C	52
TABELA 5 - QUANTIDADE DE PERDA DE P (mg/dl) DA HAP APÓS DIFERENTES TEMPOS DE INCUBAÇÃO NOS ENERGÉTICOS A 37°C	52
TABELA 6 - ANÁLISE DE PERDA DE Ca (mg/dl) DA HAP ENTRE OS ENERGÉTICOS NO MESMO TEMPO E POR ENERGÉTICO EM DIFERENTES TEMPOS.....	63
TABELA 7 - ANÁLISE DE PERDA DE P (mg/dl) DA HAP ENTRE OS ENERGÉTICOS NO MESMO TEMPO E POR ENERGÉTICO EM DIFERENTES TEMPOS.....	64

LISTA DE SIGLAS

$C_6H_8O_7$ - Ácido cítrico

$C_6H_5O_7^{-3}$ - Ânion citrato

Ca - Cálcio

CO_3 - Carbonato

dl - Decilitro

DP - Desvio padrão

F - Flúor

FAP - Fluorapatita

PO_4 - Fosfato

P - Fósforo

HAP - Hidroxiapatita

NaOH 0,5M - Hidróxido de sódio a 0,5 Molar

OH - Hidroxila

Mg - Magnésio

μm - Micrometro

mg - Miligrama

ml - Mililitro

nm - Nanometro

K - Potássio

pH - Potencial de hidrogênio

Na - Sódio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVO GERAL	18
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 COMPOSIÇÃO DO ESMALTE E DENTINA.....	19
2.2 DESMINERALIZAÇÃO.....	21
2.2.1 Mecanismo de desmineralização	22
2.2.2 Cárie dentária.....	23
2.2.3 Erosão dentária	24
2.2.3.1 Fatores etiológicos	25
2.2.3.2 Ácidos e agentes quelantes	27
2.2.3.3 Prevalência.....	28
2.3 BEBIDAS ENERGÉTICAS	30
2.3.1 Composição	30
2.3.2 Consumo no Brasil e no Mundo	32
2.3.3 Potencial desmineralizante das bebidas	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1 DESENHO E AMOSTRA.....	41
3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS	43
3.3 ANÁLISES REALIZADAS.....	43
3.3.1 pH inicial.....	43
3.3.2 pH nos tempos analisados a 37 ^o C	44
3.3.3 Acidez titulável	44
3.3.4 Concentração de cálcio.....	45
3.3.5 Concentração de fósforo	46
3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	47
4 RESULTADOS	48
4.1 DETERMINAÇÃO DE pH INICIAL, ACIDEZ TITULÁVEL, CONCENTRAÇÕES DE Ca E P DOS ENERGÉTICOS	48
4.2 ANÁLISES DA PERDA DE Ca E P	51
4.2.1 Análise da perda de Ca e P por energético.....	53
4.2.1.1 Burn [®]	53
4.2.1.2 Red Bull [®]	54
4.2.1.3 Fusion [®]	55
4.2.1.4 Wild Dragon [®]	56
4.2.1.5 Fire Bird [®]	57
4.2.1.6 Insano [®]	58
4.2.1.7 Flying Horse [®]	59
4.2.1.8 Monster [®]	60
4.2.1.9 Psycho Drink [®]	61
4.2.2 Análise da perda de Ca e P entre os energéticos	62
5 DISCUSSÃO	65
6 CONCLUSÃO	68
REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

A desmineralização dental ocasionada por ácidos pode originar tanto a erosão quanto a cárie (TEN CATE et al., 2005). Para o entendimento do processo de desmineralização, é necessário o conhecimento da estrutura dental e das reações químicas que nela podem ocorrer. A porção mineral do dente é composta por hidroxiapatita (HAP) carbonatada deficiente em cálcio, que pode ser representada pela seguinte fórmula: $Ca_{10-x}Na_x(PO_4)_{6-y}(CO_3)_z(OH)_{2-u}F_u$. As substituições que ocorrem na estrutura do cristal mineral dental, especialmente carbonato, tornam o mineral dos dentes mais solúvel ao ácido do que a HAP, a qual tem uma fórmula estável $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

O desgaste erosivo do dente é o resultado de uma perda patológica, crônica e localizada de tecido dental duro que é quimicamente removido da superfície dentária por ácidos e/ou quelação sem envolvimento bacteriano (TEN CATE; IMFELD, 1996). A superfície dental é amolecida na fase inicial e posteriormente, o material é dissolvido camada por camada a partir da superfície. Ácidos de origem intrínseca (gastrointestinal) e extrínseca (dietéticos e ambientais) são os principais fatores etiológicos (LUSSI; JAEGGI; SCHAFFNER, 2002). A erosão é geralmente progressiva e resulta no desgaste da superfície do dente exposta (seja do esmalte e/ou da superfície radicular). Já a cárie é também uma destruição causada por ácidos, porém ocorre em um local específico da superfície do dente, associada à fermentação bacteriana de açúcares presentes na cavidade oral (EHLEN et al., 2008). Especialmente com o declínio nas taxas de cárie em alguns países e ao aumento no consumo de produtos contendo ácidos devido às mudanças nos hábitos dietéticos e estilo de vida, a erosão agora está se tornando um foco de interesse crescente, tanto na clínica odontológica quanto em pesquisas (AMAECHI; HIGHAM, 2005; LUSSI, 2006; PACKER, 2009).

Segundo Lussi et al. (2011), atualmente foi confirmada em muitos países que a erosão dental, particularmente quando acomete a superfície palatina dos dentes superiores, é comum entre crianças e jovens. A fonte extrínseca mais importante de exposição ácida é a dieta, o que pode incluir vários componentes

e produtos com composição complexa e um potencial para lesões erosivas (LUSSI et al., 2011). Um fator extrínseco importante no desgaste dental erosivo é o consumo elevado de bebidas energéticas (KITCHENS; OWENS, 2007; EHLEN et al., 2008; COCHRANE et al., 2009; CAVALCANTI et al., 2010).

Há alguns anos, o mercado tem sido inundado pelas bebidas energéticas, as quais segundo os fabricantes foram criadas para aumentar a resistência física, melhorar a concentração, proporcionar um tempo de reação mais rápido, aumentar o estado de alerta, evitar o sono, prover bem-estar, estimular o metabolismo e ajudar a eliminar substâncias nocivas do corpo (BALLISTRERI; CORRADI-WEBSTER, 2008). Essas bebidas estão facilmente e amplamente disponíveis nos locais frequentados pelos jovens, onde são ingeridas em sua forma pura ou misturadas com bebidas alcoólicas (FERREIRA; MELLO; FORMIGONI, 2004; BALLISTRERI; CORRADI-WEBSTER, 2008), mesmo apresentando efeitos adversos graves (SEIFERT et al., 2011).

Estudos têm sugerido um alto potencial erosivo das bebidas energéticas avaliando suas propriedades químicas, profundidade de lesões, rugosidade de superfície e remoção de *smear layer* ocasionada pelas mesmas sobre a estrutura dental (KITCHENS; OWENS, 2007; EHLEN et al., 2008; CAVALCANTI et al., 2010; PINTO et al., 2013).

As propriedades químicas de agentes acidogênicos, tais como valor de pH, acidez titulável e concentrações de cálcio (Ca) e fósforo (P) são importantes na determinação do potencial erosivo (LUSSI; JAEGGI; SCHARER, 1993; LUSSI; JAEGGI; JAEGGI-SCHÄRER, 1995; EDWARDS et al., 1999; OWENS, 2007; HARA; ZERO, 2008).

Na literatura consultada, nenhum estudo *in vitro* tinha investigado o potencial desmineralizante de diferentes bebidas energéticas através de análises de concentrações de Ca e P da HAP. O conhecimento desses efeitos pode colaborar para o desenvolvimento de energéticos com composições mais seguras à estrutura dental e para o planejamento de estratégias preventivas em relação ao consumo ascendente dos mesmos.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial desmineralizante das bebidas energéticas sobre HAP.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar a perda mineral da hidroxiapatita provocada pelas bebidas energéticas nos diferentes tempos analisados.

Comparar a perda mineral da hidroxiapatita provocada pelos diferentes energéticos em um mesmo tempo.

Medir o pH inicial de cada bebida energética.

Medir a acidez titulável de cada bebida energética.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 COMPOSIÇÃO DO ESMALTE E DENTINA

Esmalte dental e dentina consistem de minerais, proteínas, lipídeos e água (CURZON; FEATHERSTONE, 1983; LINDE, 1983; FEATHERSTONE, 2000). Embora tenham componentes semelhantes, os dois tecidos diferem em sua estrutura. Cada um é composto por milhões de minúsculos cristais estabelecidos em uma matriz aquosa/orgânica. Apesar do esmalte dentário possuir cerca de 96% em peso de mineral, os componentes orgânicos e água desempenham um papel importante. Moléculas difundem através da matriz de água/proteínas/lipídeos que envolvem os cristais minerais. A tabela 1 apresenta a composição aproximada do esmalte e da dentina, como porcentagem volumétrica de cada um dos componentes (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

TABELA - COMPOSIÇÃO APROXIMADA DE ESMALTE E DENTINA COMO PERCENTUAL VOLUMÉTRICO DO TECIDO TOTAL

Componente	Percentual volumétrico do esmalte	Percentual volumétrico da dentina
Hidroxiapatita carbonatada	85	47
Água	12	20
Proteínas e lipídeos	3	33

FONTE: Curzon e Featherstone (1983); Featherstone (2000)

A porção mineral dos ossos e dentes é composta por HAP altamente substituída, melhor descrita como HAP carbonatada deficiente em Ca (LEGEROS, 1991). Uma fórmula simplificada que ajuda a ilustrá-la é $Ca_{10-x}Na_x(PO_4)_{6-y}(CO_3)_z(OH)_{2-u}F_u$, em contraste com HAP, que apresenta a fórmula estável $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. O mineral do dente é deficiente em Ca, tal como indicado pelo coeficiente $10-x$ presente no átomo de Ca na fórmula do mineral. Alguns íons cálcio (Ca^{+2}) são substituídos por outros íons metálicos, tais como

sódio (Na^+), magnésio (Mg^{+2}) e potássio (K^+), totalizando cerca de 1%, com o Na^+ sendo o mais abundante. Alguns dos íons hidroxila (OH^-) podem ser substituídos por flúor (F^-), entretanto, a principal substituição é a de carbonato (CO_3^{-2}), que substitui parte do fosfato (PO_4^{-3}), mas não em uma proporção estequiométrica de um para um, portanto, o coeficiente estequiométrico do PO_4 é designado como $6-y$ e o coeficiente do CO_3 como z . Estas substituições na estrutura mineral cristalina, especialmente CO_3 , perturbam a estrutura dental (FEATHERSTONE et al., 1983a; LEGEROS, 1991). Devido a estas substituições, o mineral no esmalte e na dentina é muito mais solúvel em ácido do que a HAP, que por sua vez é muito mais solúvel do que fluorapatita (FAP), que possui a fórmula geral $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ (FEATHERSTONE et al., 1983b; LEGEROS, 1991; FEATHERSTONE, 2000). A dentina e o esmalte possuem composições minerais semelhantes, embora o teor de CO_3 seja muito maior na dentina. O teor de CO_3 do esmalte é de aproximadamente 3%, enquanto na dentina é de 5 a 6%, tornando o mineral presente na dentina ainda mais solúvel ao ácido. Além disso, os cristais da dentina são muito menores do que aqueles do esmalte, portanto, a área superficial por grama de dentina é muito maior, disponibilizando maior superfície para o ataque ácido (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

As proteínas no esmalte (tabela 1) estão presentes principalmente como uma cobertura muito fina sobre os cristais individualmente e contemplam cerca de metade do material orgânico. A outra metade do material orgânico no esmalte é lipídica (ODUTUGA; PROUT, 1974). O teor de água do esmalte é suficiente para a difusão de ácidos e outros componentes através do dente e para expulsar os minerais (Ca e PO_4) durante o processo de desmineralização erosiva (FEATHERSTONE, 1983a).

Durante a erosão por ácido e/ou quelantes, estes agentes interagem com a superfície dos cristais minerais, mas apenas depois de se difundir através da placa (se estiver presente), através da película, e através da camada de proteínas/lipídeos de cada cristal (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

2.2 DESMINERALIZAÇÃO

Sob condições fisiológicas, a saliva e os fluidos orais são supersaturados em relação à HAP. Essa é a pré condição necessária para a existência deste mineral na cavidade bucal. Se os fluidos orais fossem subsaturados em relação ao mineral, os tecidos dentários duros se dissolveriam sem nenhuma outra razão. Quando o pH do meio circundante diminui, a solubilidade da porção mineral do dente aumenta e isto é o que faz o mineral vulnerável em um ambiente ácido (TEN CATE et al., 2005).

A exposição aos ácidos pode levar a dois tipos de lesões: cariiosa e erosiva. Em resumo, os estágios iniciais da lesão cariiosa são caracterizados por uma dissolução parcial do tecido, deixando uma camada superficial bem mineralizada com espessura entre 20 e 50 μm , e na subsuperfície, o corpo da lesão com uma perda mineral de 30 a 50% se estendendo em profundidade no esmalte e na dentina. Em contraste, a lesão por erosão mostra um aspecto de desmineralização total e dissolução de camada por camada. Portanto os tecidos dentários duros restantes, mesmo após uma erosão extensa não mostram sinais de desmineralização, exceto se algo do esmalte se perdeu. O conteúdo mineral do esmalte restante é inalterado (TEN CATE et al., 2005).

Um terceiro tipo de dissolução do esmalte por ácidos é visto quando o esmalte é condicionado para proporcionar retenção para restaurações com resina. O padrão do ataque ácido é semelhante ao da erosão no sentido de que é um ataque da superfície sem a formação de uma camada externa (na superfície) cobrindo a desmineralização da subsuperfície. Entretanto, o ácido do condicionamento penetra consideravelmente mais profundo no esmalte e expõe o prisma em uma extensão muito maior que a observada no esmalte acometido pela erosão (TEN CATE et al., 2005).

2.2.1 Mecanismo de desmineralização

Em pessoas com baixas concentrações de Ca e PO_4 , o pH crítico para desmineralização da HAP pode ser de 6,5, enquanto que em pessoas com elevadas concentrações de Ca e PO_4 , o pH crítico pode ser 5,5. Vinho, por exemplo, contém ácidos que resultam em um pH entre 2,9 a 4,2, muito abaixo do valor crítico para a desmineralização da HAP (CANEPPELE et al., 2012).

A figura 1 mostra as linhas de solubilidade para o mineral do esmalte, HAP e FAP versus o pH, levando em consideração as concentrações de Ca e PO_4 da solução. O eixo vertical é o logaritmo negativo da concentração total combinada de Ca e PO_4 , em qualquer solução, que pode ser na saliva, no fluido da placa, no filme aquoso sobre a superfície do dente, ou dentro do esmalte ou dentina. A linha de esmalte é acima da linha de HAP, que por sua vez está acima da linha de FAP, indicando diferenças de ordens de magnitude em relação à solubilidade de cada uma delas. A linha da dentina (não especificada na figura 1) está ainda mais elevada que a solubilidade do esmalte. A combinação de Ca e PO_4 acima de qualquer linha é chamada "supersaturada" em relação a esse mineral e não podem se dissolver. Abaixo da linha eles estão "subsaturados" e se dissolvem. Isto significa que, caso se comece em um ponto sobre a superfície do esmalte (estágio 1 - figura 1), indica-se mudança para um pH menor, e devido à solução ser subsaturada em relação ao mineral do esmalte, deve se dissolver até a concentração aumentar novamente à linha de solubilidade do esmalte (estágio 2 - figura 1). À medida que o pH é elevado por tamponamento da saliva (estágio 3 - figura 1), a solução torna-se supersaturada e novo mineral pode se formar sobre a superfície do cristal (estágio 4 - figura 1). Se o flúor estiver presente, FAP pode ser formada, substância que possui solubilidade muito inferior do que o esmalte original. A importância adicional desta figura é que, se as concentrações de Ca e/ou PO_4 são aumentadas a qualquer pH, é possível estar acima da linha de solubilidade e cessar a dissolução dos cristais (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

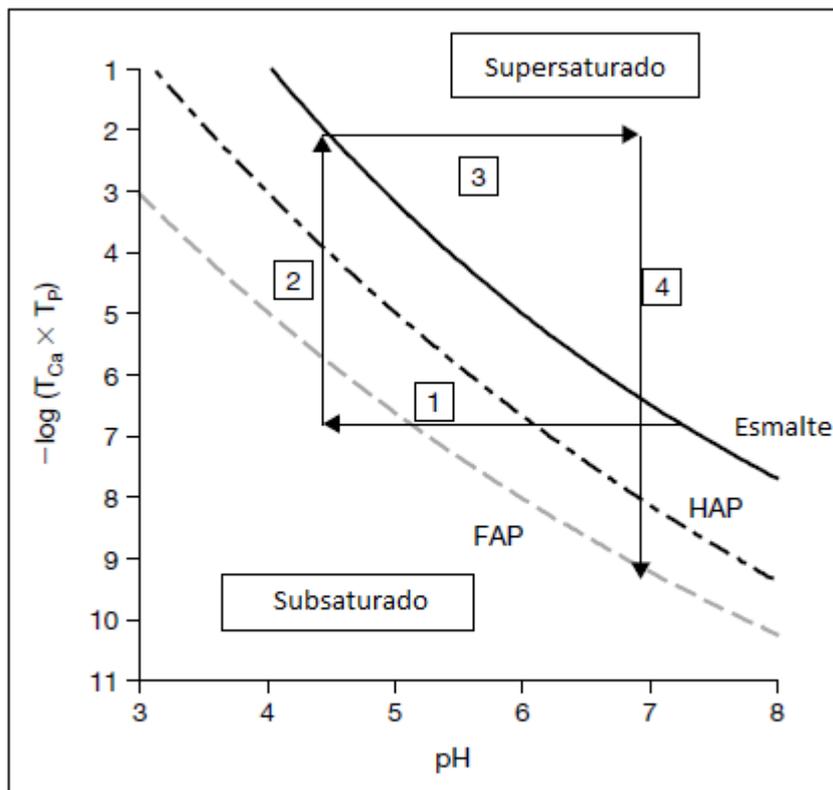


FIGURA - LINHAS DE SOLUBILIDADE DO ESMALTE, HAP E FAP

FONTE: Featherstone e Lussi (2006)

NOTA: T_{Ca} e T_P representam as concentrações totais de Ca e PO_4 da solução. pH representa o potencial de hidrogênio (indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade) da solução. Os números dentro dos quadrados (1 a 4) representam os estágios de perda mineral por ataque ácido.

2.2.2 Cárie dentária

A lesão de cárie é definida como a dissolução química dos tecidos dentais duros por ácidos bacterianos, produtos da degradação de açúcares com baixo peso molecular (TEN CATE et al., 2005). Quando os açúcares e outros carboidratos fermentáveis são ingeridos, resulta na diminuição do pH da placa dental aumentando a solubilidade do Ca da HAP nos tecidos dentais duros, ocorrendo desmineralização, pois Ca é perdido a partir da superfície do dente. O pH ao qual ocorre a desmineralização é muitas vezes referido como o

pH crítico e é de aproximadamente 5,5. A saliva é uma das defesas naturais da boca contra este processo, pois é capaz de promover a remineralização depositando mineral em áreas porosas onde a desmineralização do esmalte ou dentina ocorreram. A saliva é supersaturada em Ca e PO₄ ao pH 7, o que favorece a deposição de Ca. Se uma lesão desmineralizada é formada será remineralizada; embora este seja um processo lento que compete com os fatores que causam a desmineralização. Se o pH bucal permanece elevado durante um tempo suficiente, então a remineralização completa do esmalte pode ocorrer. No entanto se o desafio ácido é muito grande, a desmineralização domina e o esmalte torna-se mais poroso até que finalmente uma lesão de cárie se forma (ARENDS; BOSCH, 1985). Portanto a cárie ocorre quando a desmineralização excede a remineralização (MOYNIHAN; PETERSEN, 2004).

2.2.3 Erosão dentária

Larsen (1990) caracterizou a erosão, como sendo um processo químico que envolve a dissolução de esmalte e dentina por ácidos não derivados de bactérias, quando a fase aquosa circundante, está subsaturada de minerais dentários. Segundo Lussi et al. (2011), a desmineralização erosiva do dente é caracterizada por um amolecimento inicial da superfície do esmalte, que varia de acordo com o tempo de imersão e com os ácidos em estudo. A espessura desta camada amolecida foi relatada como sendo entre 0,2 e 0,3 µm (AMAECHI; HIGHAM, 2001; EISENBURGER et al., 2001; WIEGAND; KÖWING; ATTIN, 2007; CHENG et al., 2009; VORONETS; LUSSI, 2010) Este processo é seguido de contínua dissolução de camada a camada dos cristais de esmalte, levando a uma perda permanente de volume do dente. Em estágios avançados, a dentina pode ser atingida e tornar-se cada vez mais exposta (LUSSI et al., 2011).

Quando um ataque ácido ocorre com frequência e uma lesão erosiva inicia seu desenvolvimento, pode evidenciar algumas características clínicas.

Estas características em seu estágio inicial, não ocasionam descoloração ou amolecimento da superfície dentária e por isso são de difícil detecção visual e/ou tátil. Além disso, todos os sintomas do paciente inicialmente são muitas vezes ausentes ou limitados. Mudanças pronunciadas na macromorfologia ocorrem quando o dano erosivo é mais grave (JOHANSSON et al., 2012). Os primeiros sinais de desgaste dentário erosivo aparecem como uma superfície suavemente lisa e brilhante (GANSS; LUSI, 2006). Em lesões avançadas além do acometimento estético, dor causada pela hipersensibilidade dentinária pode ocorrer e se a lesão continua progredindo poderá ocasionar exposição pulpar e perda de dimensão vertical (LAMBRECHTS et al., 1996; LUSI et al., 2011).

2.2.3.1 Fatores etiológicos

A erosão dental é uma condição multifatorial e tem uma etiologia complexa. Cada fator desempenha um papel na indução ou prevenção da erosão (LUSI et al., 2011). A etiologia da erosão dental é convencionalmente dividida em fatores extrínsecos e intrínsecos (TEN CATE; IMFELD, 1996). A fonte extrínseca mais importante de exposição ácida é a dieta, o que pode incluir vários componentes e produtos com composição complexa e um potencial para lesões erosivas (LUSI et al., 2011).

A maneira pela qual os ácidos alimentares são introduzidos na boca (beber em pequenas quantidades, sucção, com ou sem canudo) determina a duração e a localização do ataque ácido (MILLWARD et al., 1997; EDWARDS et al., 1998; JOHANSSON et al., 2004). E assim como a duração, a frequência dos ataques ácidos está intimamente associada com a erosão, sendo portanto fatores que merecem atenção para a adoção de medidas profiláticas (JÄRVINEN; RYTÖMAA; HIENONEN, 1991; LUSI; SCHAFFNER, 2000; O'SULLIVAN; CURZON, 2000; JOHANSSON; LINGSTROM; BIRKHED, 2002).

O tipo de ocupação também pode levar ao desgaste erosivo. Wiegand e Attin (2007) relataram que empregados de indústrias químicas ou degustadores profissionais de vinho têm um maior risco de sofrer erosões devido ao maior

contato de ácidos com os dentes. Erosão dentária associada a atletas profissionais ou excesso de exercício físico também tem sido relatada ocasionalmente em função do alto consumo de bebidas isotônicas (CENTERWALL et al., 1986). A natureza do consumo (ou seja, beber por longos períodos ou simultaneamente com a respiração bucal durante o treinamento atlético), pode aumentar a possibilidade da erosão ocorrer (EHLEN et al., 2008).

O ácido estomacal, o qual entra na boca como consequência de vômitos crônicos ou refluxo, é outro fator etiológico. O refluxo é o movimento involuntário de conteúdos gástricos do estômago para dentro da boca devido a alguma anormalidade no trato gastrointestinal (LUSSI et al., 2011).

Um grande número de doenças e síndromes também estão associados com a erosão. Ambos os fatores, extrínsecos e intrínsecos, podem agir simultaneamente. O efeito de um agente ácido atingir a superfície do dente pode ser combinado à uma alteração da quantidade/qualidade da saliva, uma redução de função oro-motora, ao uso de vários medicamentos ou à respiração bucal. Como exemplo de distúrbios que influenciam na erosão, além do refluxo gastroesofágico e distúrbios alimentares, podem ser citados: diabetes, hipertensão arterial, paralisia cerebral, agenesia da glândula salivar, síndromes de Sjögren e de Down e abuso de drogas, tais como o álcool e ecstasy (metilenodioximetanfetamina - MDMA) (YOUNG, 2001; YOUNG et al., 2001; SU; TSAMTSOURIS; LASKOU, 2003; GONÇALVES et al., 2008).

Entretanto além do consumo excessivo de alimentos e bebidas ácidas poder produzir erosão do tecido dental, fatores químicos, biológicos e comportamentais influenciam também o desenvolvimento da lesão (LUSSI; JAEGGI; SCHAFFNER, 2002).

Os fatores químicos que descrevem os parâmetros inerentes às bebidas, alimentos ou outros produtos erosivos, são: pH e capacidade tampão do produto, tipo de ácido (valores de pK_a - cologaritmo da constante de dissociação ácida), adesão do produto à superfície dental, propriedades quelantes e concentrações de Ca, P e F do produto (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004).

Dentre os fatores biológicos, Lussi et al. (2011) citam a saliva como o parâmetro mais importante. São eles: saliva (taxa de fluxo, composição,

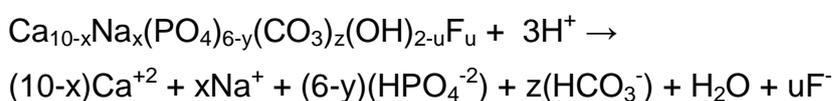
capacidade de tamponamento e capacidade de estimulação), película adquirida (propriedades de difusão-limitação e espessura), composição e estrutura dental (por exemplo, teor de fluoreto como FAP ou partículas de fluoreto de cálcio), anatomia dental e oclusão, anatomia dos tecidos moles da boca em relação aos dentes e movimentos fisiológicos dos tecidos moles (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004).

Os fatores comportamentais assumem um papel na modificação da extensão do desgaste dental durante e após um dano erosivo. Eles são constituídos por hábitos alimentares incomuns, estilo de vida mais saudável (dieta rica em frutas e vegetais ácidos), estilo de vida não saudáveis (consumo freqüente de bebidas alcoólicas e drogas sintéticas), doenças relacionadas ao álcool, consumo excessivo de alimentos e bebidas ácidas, mamadeira noturna com bebidas ácidas, atividades esportivas vigorosas, dieta e práticas de higiene bucal (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; ZERO; LUSSI, 2006).

2.2.3.2 Ácidos e agentes quelantes

A erosão química dos dentes ocorre, quer pelo íon hidrogênio derivado de ácidos fortes/fracos, ou por ânions que podem se ligar ou complexar o Ca. Os últimos são conhecidos como agentes quelantes. É raro que um ácido inorgânico simples, tal como o ácido clorídrico, esteja presente na boca. Maiores interesses são por ácidos fracos, tais como o cítrico e o acético (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

Os íons hidrogênio (H^+) são derivados a partir de ácidos que são dissociados em água. Por exemplo, o ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) tem a possibilidade de produzir três íons de hidrogênio a partir de cada molécula. O próprio íon H^+ pode atacar os cristais minerais dos dentes e dissolver diretamente pela combinação quer com o íon CO_3^{-2} ou o íon PO_4^{-3} , como mostra a equação (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).



O efeito do ataque direto pelo íon H^+ é o de combinar com o CO_3^{-2} e/ou PO_4^{-3} , liberando todos os íons da superfície do cristal, levando ao desgaste direto da superfície. Além do efeito do íon H^+ , o ânion citrato ($C_6H_5O_7^{-3}$), proveniente do ácido cítrico, pode se complexar com o Ca removendo-o também da superfície do cristal. Conseqüentemente, alguns ácidos, a exemplo o cítrico, têm dupla ação e são muito nocivos para a superfície do dente (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

2.2.3.3 Prevalência

Um dos fatores extrínsecos mais importantes no desgaste dental erosivo é o alto consumo de bebidas e alimentos ácidos. Nos recentes anos, a quantidade total e a frequência de consumo de produtos contendo ácidos têm aumentado devido às mudanças nos estilos de vida (PACKER, 2009).

A desmineralização dental erosiva é considerada um problema significativo de saúde bucal em países da Europa e do Oriente Médio. A prevalência de erosão dentária em uma amostra de crianças britânicas com 12 anos de idade, em dois municípios Leicestershire e Rutland, foi de 59,7%, com 2,7% exibindo a dentina exposta. A prevalência foi significativamente maior em meninos do que em meninas. As crianças com experiência de cárie apresentaram maior prevalência de erosão do que aquelas sem cárie, o que pode refletir um menor nível de atenção dietética (DUGMORE; ROCK, 2004). Um estudo longitudinal de três anos, realizado na cidade de Oss, na Holanda, investigou a associação entre o conjunto de fatores biológicos e comportamentais e a incidência e a progressão do desgaste de erosão dental entre os adolescentes. A média de idade da amostra foi de 11,9 anos (DP= 0,9). Das crianças livres de erosão no início do estudo, 24,2% desenvolveram desgaste erosivo. Em crianças com erosão no início do estudo, 68,3% apresentaram progressão da lesão (EL AIDI et al., 2008). Taxas de prevalência de erosão dental pronunciada (em dentina ou dentina e polpa) de 34% e 26%, foram relatados para meninos de 5 a 6 anos e de 12 a 14 anos de idade,

respectivamente, em um estudo realizado em quarenta escolas em Riyadh, na Arábia Saudita (AL-MAJED; MAGUIRE; MURRAY, 2002).

Uma pesquisa analisou a relação entre o consumo de algumas bebidas e o desgaste dental erosivo em crianças e adolescentes de 13-19 anos nos Estados Unidos. A amostra foi constituída por 1314 indivíduos, sendo que 523 tiveram evidência de desgaste dental erosivo. Os resultados mostraram que a prevalência desse desgaste foi maior na idade de 18-19 anos, nos indivíduos de cor branca e do sexo masculino. Não houve diferença significativa em relação ao consumo de diferentes bebidas entre os participantes da pesquisa que apresentaram ou não desgaste dental erosivo, mas as crianças e adolescentes com desgaste tiveram uma frequência maior de consumir suco de frutas cítricas e refrigerantes do que a taxa média geral de consumo. Entre os indivíduos com desgaste, a frequência média de consumo foi maior para o leite, refrigerantes e sucos de frutas (OKUNSERI et al., 2011). As tendências dos hábitos de bebidas nos Estados Unidos, incluindo o aumento do consumo de refrigerantes, sucos e bebidas cítricas, bem como a introdução de isotônicos e bebidas energéticas, podem estar aumentando o risco de erosão (EHLEN et al., 2008).

Correr et al. (2009), avaliaram a prevalência de erosão dentária em escolares de 12 anos de idade, em Piracicaba, Brasil. A prevalência foi de 26%. Não houve diferença significativa na prevalência entre meninos e meninas. Os resultados indicaram que os principais fatores de risco para a erosão foram uso de drogas ácidas (ex. aspirina), o consumo de refrigerantes e a temperatura das frutas ácidas (quanto maior a temperatura da fruta, maior a prevalência da erosão). Os autores concluíram que a prevalência de erosão em escolares de 12 anos no Brasil pode ser considerada alta.

Segundo Jaeggi e Lussi (2006) é difícil fazer comparações entre estudos, devido aos diferentes índices usados e também devido aos diferentes dentes avaliados na amostra. Isto é agravado pela natureza multifatorial do desgaste dental. Dados de prevalência mostram que o desgaste erosivo do dente é uma condição comum. Dentição decídua e permanente são igualmente envolvidas. Desgastes erosivos podem ser encontrados em todas as superfícies dentais, mas é mais comum sobre as superfícies oclusais e vestibulares de todos os dentes superiores e inferiores e sobre as superfícies

palatinas dos dentes anterossuperiores. Há alguns indícios de que a prevalência do desgaste dental por erosão mostra um aumento especialmente nos jovens. A principal explicação para isto poderia ser a mudança nos hábitos dietéticos e estilo de vida (JAEGGI; LUSI, 2006).

2.3 BEBIDAS ENERGÉTICAS

2.3.1 Composição

De acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), as bebidas energéticas são enquadradas na Resolução RDC n. 273/2005, como composto líquido pronto para consumo. De acordo com a regulamentação vigente, trata-se de produto que contém como ingrediente(s) principal(is): inositol e ou glucoronolactona e ou taurina e ou cafeína, podendo ser adicionado de vitaminas e ou minerais até 100% da ingestão diária recomendada na porção do produto. Pode ser adicionado de outro(s) ingrediente(s), desde que não descaracterize(m) o produto (ANVISA, 2005).

Os energéticos são designados para dar ao consumidor uma "sacudida" de energia proporcionada pela combinação de estimulantes. Além de aumentar a energia, seu uso tem sido recomendado pelos fabricantes para melhorar o desempenho atlético, a concentração, a resistência e apoiar a perda de peso. São bebidas que contêm quantidades variadas de cafeína, vitaminas, carboidratos, extrato de guaraná, taurina, ginseng e aminoácidos adicionais. As bebidas energéticas têm versões com ou sem açúcar. Geralmente contêm 80-141mg de cafeína por 240ml, o equivalente a cinco gramas de café ou duas latas de 360ml de refrigerante cafeinado, como Coca Cola® ou Pepsi Cola® (PRONSKY, 1997; GUNJA; BROWN, 2012; GOLDMAN, 2013).

Os fabricantes lançam esses produtos para atletas, estudantes e pessoas com profissões que exigem vigilância. Essas bebidas também são comumente consumidas em festas, onde podem ser combinadas com o álcool e drogas como o ecstasy ou outras anfetaminas. Adultos jovens e adolescentes são particularmente atraídos pelas bebidas energéticas devido ao *marketing* e

falta de conhecimento dos seus efeitos (MALINAUSKAS, 2007; ATTILA; CAKIR, 2011). Em um estudo sobre o efeito das bebidas alcoólicas em combinação com os energéticos, dentro dos resultados obtidos, alguns relatos sugeriram que existe interação com o álcool expressa pelo aumento dos efeitos excitatórios ou redução de seus efeitos depressores (FERREIRA; MELLO; FORMIGONI, 2004).

O alto teor de açúcar das bebidas energéticas cafeinadas é similar ao de refrigerantes, os quais contribuem para obesidade (RIDDELL; KEAST, 2007). A cafeína em bebidas energéticas irá fornecer ao consumidor os efeitos desejáveis de aumentar o estado de alerta, melhorar a memória e o humor. No entanto, a cafeína pode ter consequências físicas prejudiciais (MALINAUSKAS et al., 2007). As reações adversas e toxicidade das bebidas energéticas são essencialmente imputáveis ao seu conteúdo de cafeína (REISSIG; STRAINS; GRIFFITHS, 2009). Os efeitos de altas doses desta substância explicam na sua maior parte os sintomas e apresentações hospitalares relacionados com os energéticos. Há pouca literatura publicada sobre a extensão e epidemiologia deste problema. Os energéticos têm sido relatados em associação com efeitos adversos graves, especialmente em crianças, adolescentes e adultos jovens com convulsões, diabetes, anormalidades cardíacas ou de humor e transtornos de comportamento ou àquelas que tomam certos medicamentos (SEIFERT et al., 2011).

A agência reguladora americana FDA (*Food and Drug Administration*) solicitou uma regulamentação no conteúdo de bebidas energéticas (USATODAY, 2008). O consumo crônico destas bebidas têm sido relatado na cirurgia oral e maxilofacial nos casos de excessivo sangramento cirúrgico secundário (FORAN et al., 2012). Pesquisadores descobriram que os estudantes universitários que usam álcool com energéticos tendem a consumir mais álcool e consumir álcool com mais frequência do que aqueles que não combinam álcool com bebidas energéticas (O'BRIAN et al., 2008; THOMBS et al., 2010). Usuários de bebidas energéticas tendem a ter um maior envolvimento com álcool e outras drogas, buscando níveis mais elevados de sensação, em relação aos não usuários (REISSIG; STRAIN; GRIFFITHS, 2009; ARRIA et al., 2010).

2.3.2 Consumo no Brasil e no Mundo

O consumo de bebida energética continuou a ganhar popularidade desde a estréia do Red Bull® em 1987 na Alemanha, o atual líder no mercado de bebidas energéticas. Desde então, vários energéticos foram lançados em todo o mundo (BOYLE; CASTILLO, 2006).

A participação da embalagem PET tem aumentado em bebidas energéticas nos últimos anos dentro do mercado brasileiro, através de lançamentos de produtos de fabricantes regionais, os quais adotam preços mais baixos para suas marcas de bebidas energéticas por litro, comparadas aos produtos padrões. Devido a isso, os preços dos energéticos decresceram 4% entre 2011 e 2012 no país. Tais marcas populares estão aumentando a sua participação, principalmente entre os grupos socioeconômicos emergentes que antes não tinham acesso a estas bebidas. Dentro do cenário competitivo dos energéticos, multinacionais lideraram as vendas de bebidas energéticas e esportivas, nos quais três principais multinacionais - Red Bull, Pepsi e Coca-Cola - foram responsáveis por 79% das vendas em valor no mercado brasileiro em 2012. As perspectivas dos energéticos no Brasil são de chegar ao mais alto crescimento dentro de todos os setores de refrigerantes entre 2012 e 2017 (EUROMONITOR INTERNACIONAL, 2013).

As bebidas energéticas continuam a ser o segmento mais dinâmico no mercado de refrigerantes alcançando 4,8 bilhões de litros em 2011, com um forte crescimento na maioria dos países impulsionados principalmente pelas suas principais características: a combinação de diversão e funcionalidade. Embora o consumo global de bebidas energéticas tenha vindo a aumentar, o desempenho da categoria variou entre as regiões, com a América Latina e Austrália testemunhando o crescimento mais rápido nos últimos cinco anos. Os dez principais países consumidores foram os Estados Unidos, Vietnã, China, Reino Unido, Tailândia, México, Austrália, Alemanha, Polônia e Arábia Saudita em 2011 (ZENITHI INTERNACIONAL, 2012).

2.3.3 Potencial desmineralizante das bebidas

Dentro da odontologia, há cada vez mais evidências, a partir de diversos estudos, que o consumo excessivo de bebidas e alimentos ácidos constitui um risco para os dentes (LUSSI; JAEGGI; SCHARER, 1993; LUSSI; JAEGGI; JAEGGI-SCHÄRER, 1995; DUGMORE; ROCK, 2004; KITCHENS; OWENS, 2007; EHLEN et al., 2008; HARA; ZERO, 2008). Um fator extrínseco importante na desmineralização dental erosiva é o consumo elevado de bebidas energéticas (CAVALCANTI et al., 2010).

A acidogenicidade das bebidas pode ser influenciada por diferentes fatores, dentre os quais pH, acidez titulável e baixas concentrações de Ca e PO₄ têm sido consideradas (LUSSI; JAEGGI; SCHARER, 1993; ZERO, 1996; COCHRANE et al., 2009; LUSSI et al., 2012).

Um estudo *in vitro* realizado com nove diferentes marcas comerciais de energético (Bad Boy[®] Power Drink, Red Bull[®], Red Bull[®] Sugar Free, Flying Horse[®], Flying Horse[®] Light, Burn[®], Nigth Power[®], Flash Power[®], 220V[®]) analisou o pH, a acidez titulável, o conteúdo total de sólidos solúveis (o conteúdo total de sólidos solúveis é numericamente igual a porcentagem de açúcar e outros sólidos dissolvidos em solução) e açúcares não reduzidos (estimado pela subtração de açúcares reduzidos do açúcar total). Os resultados dos parâmetros avaliados variaram entre as marcas comerciais de energético. Todos os energéticos mostraram pH abaixo do valor crítico de 5,5, com valores na faixa de 1,52 (Flash Power[®]) a 3,20 (Red Bull[®]). O valor mais baixo de acidez titulável observado foi com o energético 220V[®] e o mais alto foi com o energético Bad Boy[®] Power Drink. O mais baixo conteúdo total de sólidos solúveis foi apresentado pelo Flying Horse[®] Ligth (1,66%), enquanto o mais alto conteúdo total de sólidos solúveis foi do Flying Horse[®] (12,58%). Em relação aos açúcares não reduzidos, os valores ficaram na faixa de 0,00 (Red Bull[®] Sugar Free e Flying Horse[®] Ligth) a 54,33 (Flying Horse[®]). As bebidas energéticas avaliadas tiveram um alto potencial erosivo por apresentarem um baixo pH (CAVALCANTI et al., 2010).

Outro estudo *in vitro* utilizou cinco tipos de bebidas totalizando dezenove amostras (quatro de suco 100%, quatro de refrigerantes, quatro de

refrigerantes dietéticos, três de isotônicos, quatro de energéticos) para verificar o pH, a acidez titulável (após a abertura da bebida e após 60 minutos de forte agitação) e a profundidade de lesões erosivas no esmalte e na raiz dental. Os resultados mostraram que os energéticos tinham o pH inicial mais baixo e necessitaram de maior quantidade de solução básica para sua neutralização após sua abertura e após 60 minutos, quando comparados as demais bebidas deste estudo. As profundidades de lesões em esmalte e raiz foram maiores com a bebida isotônica, seguida da bebida energética. Porém, para os isotônicos, as maiores profundidades das lesões foram apresentadas em esmalte, enquanto para os energéticos as lesões mais profundas ocorreram em raiz. Profundidade das lesões nas superfícies do esmalte ou raiz não tiveram correlação com pH ou acidez titulável (EHLEN et al., 2008).

O efeito de sete bebidas sobre a superfície do esmalte foi avaliado através de um estudo *in vitro* em que a rugosidade de superfície (perfilometria) foi analisada. Estas bebidas incluíram Coca Cola[®], Coca Cola[®] dietética, Gatorade[®], Red Bull[®], Starbucks[®] Frappuccino Café, água engarrafada Dasani[®] e água de torneira. De acordo com os resultados obtidos, Coca Cola[®], Coca Cola[®] dietética, Gatorade[®] e Red Bull[®] mostraram mudanças significativas na rugosidade da superfície do esmalte (KITCHENS; OWENS, 2007).

Um desenho de estudo experimental *in vitro* foi conduzido para avaliar a influência de energéticos na remoção de *smear layer* e posterior exposição dos túbulos dentinários na superfície radicular. Doze bebidas foram avaliadas: Red Bull[®], Burn[®], TNT[®], Flash Power[®], Flying Horse[®], Sports Drink[®], Ionic[®], Hot Power[®], Army Power[®], Gladiator[®] e Bug[®]. Água destilada foi utilizada como grupo controle. Análises do pH inicial das bebidas e de microscopia eletrônica de varredura das amostras após aplicação tópica (amostras foram imersas por 5 minutos nas bebidas e lavadas com água destilada por 15 segundos) e aplicação por fricção (amostras foram imersas por 5 minutos nas bebidas, friccionadas com uma escova elétrica por 30 segundos e lavadas com água destilada por 15 segundos) foram realizadas. Os resultados evidenciaram a influência significativa das bebidas energéticas FlyingHorse[®] e Bug[®] com aplicação tópica sobre a remoção de *smear layer*, quando comparadas ao grupo controle. Remoção significativa de *smear layer* por fricção foi encontrada

para Burn[®], FlyingHorse[®], Gladiator[®], Sports Drink[®] quando comparadas com o grupo controle. Comparando-se as duas formas de aplicação, uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada para Army Power[®] (houve remoção de *smear layer* com fricção). Considerando a remoção significativa de *smear layer* nesta pesquisa, bebidas energéticas podem ser um importante fator etiológico para hipersensibilidade dentinária cervical (PINTO et al., 2013).

O efeito *in vitro* de isotônicos e bebidas energéticas foi avaliado sobre a dureza superficial de diferentes materiais restauradores ao longo de um período de 6 meses. Quatro materiais restauradores foram testados: Compoglass F[®], Filtek Z250[®], Filtek Supreme[®] e Premise[®]. Os espécimes foram imersos 2 minutos por dia, até 6 meses, em seis soluções de armazenamento: água destilada, isotônicos (Powerade[®] e Gatorade[®]) e energéticos (X-IR[®], Burn[®] e Red Bull[®]). Após a imersão, as amostras eram lavadas em água destilada e armazenadas por 24 horas em água destilada. Dureza superficial foi medida no início do estudo, após 1 semana, 1 mês e 6 meses. Concluiu-se que todas as soluções testadas induziram redução significativa na dureza da superfície dos materiais de restauração ao longo de um período de imersão de 6 meses. A imersão em água destilada (pH 6,58) ocasionou menor redução de dureza superficial ao longo do tempo que bebidas com baixo pH como isotônicos e energéticos (pH entre 2,67 a 3,79) (ERDEMIR et al., 2012).

Outro estudo *in vitro* investigou o efeito de isotônicos e bebidas energéticas sobre a dureza superficial de diferentes materiais restauradores (Compoglass F[®], Filtek Z250[®], Filtek Supreme[®] e Premise[®]) ao longo de um período de 1 mês. As amostras foram imersas em água destilada, isotônicos (Powerade[®] e Gatorade[®]) e energéticos (X-IR[®], Burn[®] e Red Bull[®]), 2 minutos por dia, em um período de teste de 1 mês. Todas as soluções eram substituídas diariamente. Após o tempo de imersão, as amostras eram lavadas com água destilada e armazenadas em água destilada a 37°C por 24 horas. A dureza superficial foi medida no *baseline*, após 1 semana e 1 mês. Assim como no trabalho realizado pelos autores com período de observação de 6 meses, todas as soluções testadas induziram redução significativa na dureza da superfície dos materiais de restauração ao longo de um período de imersão de 1 mês. A imersão em água destilada causou menor redução de dureza

superficial ao longo do tempo. O compômero foi o material mais afetado em termos de mudança na dureza superficial. Os autores concluíram que tempo de exposição e a composição do material restaurador tiveram um efeito significativo sobre as mudanças de dureza superficial (ERDEMIR et al., 2013).

Segundo Lussi et al. (2012), o consumo excessivo de bebidas e alimentos ácidos contribui para a erosão dentária. Baseando-se nesta afirmativa, estes autores realizaram um estudo *in vitro* com os objetivos de avaliar o potencial erosivo de diferentes substâncias alimentares e medicamentos, e determinar as propriedades químicas com impacto sobre o potencial erosivo. Foram selecionados sessenta agentes comercializados na Suíça: refrigerantes, uma bebida energética, bebidas esportivas, bebidas alcoólicas, sucos, frutas, água mineral, iogurte, chá, café, molho de salada e medicamentos. O potencial erosivo dos agentes testados foi quantificado como as mudanças na dureza superficial das amostras de esmalte. Para caracterizar esses agentes, várias propriedades químicas foram determinadas, entre elas: pH, concentrações de Ca, P e F, acidez titulável para pH 7,0 e a capacidade tampão no pH inicial. Em conclusão, o estudo confirmou o potencial erosivo de vários medicamentos e substâncias alimentares. Desafio erosivo causou uma redução estatisticamente significativa na dureza superficial das amostras para alguns agentes, exceto para o café, alguns medicamentos, bebidas alcoólicas, águas minerais não-aromatizadas, chás e iogurtes. Erosão dentária teve uma relação significativa com pH, capacidade tampão, concentrações de F e Ca.

O efeito de algumas bebidas ácidas sobre a erosão da dentina foi investigado utilizando-se métodos de análise de perfil de superfície e espectrometria de energia dispersiva de fluorescência de raios X. Cem blocos de dentina padronizados obtidos de raízes de incisivos bovinos foram utilizados. Os blocos de dentina medindo 5x5 mm foram planificados, polidos e metade de cada superfície das amostras foram impermeabilizadas com esmalte para unhas. Por 60 minutos, as superfícies de dentina foram imersas em 50 ml de cinco bebidas diferentes (Gatorade[®], suco de laranja, Coca-Cola[®], Red Bull[®] e vinho branco), 20 blocos em cada bebida. O pH de cada bebida foi aferido. Após o desafio erosivo, o esmalte de unha foi removido e o perfil de superfície foi analisado. A concentração de minerais das superfícies de dentina foi determinada por meio de espectrometria de energia dispersiva de

fluorescência de raios X. A análise do perfil de superfície mostrou que o Red Bull® apresentou o maior potencial erosivo. Os resultados da espectrometria apresentaram uma diminuição do fosfato dos grupos imersos no Red Bull®, suco de laranja e vinho branco, e não houve diferença significativa no teor de cálcio entre a superfície de referência e a superfície que sofreu erosão. Este estudo *in vitro* demonstrou que todas as bebidas estudadas promoveram erosão em dentina radicular e Red Bull® teve o maior potencial erosivo. Não houve correlação entre o pH das bebidas e o seu potencial erosivo (CANEPPELE et al., 2012).

Para medir a perda de camadas superficiais o método de escolha é óptico ou perfilometria óptica ou de contato. Na perfilometria óptica, não há contato físico entre a sonda e a superfície, de forma que nenhum dano ocorrerá por riscar a superfície amolecida (BARBOUR; REES, 2004). Uma desvantagem das técnicas de perfilometria é que as perdas de esmalte inferiores a 2µm são difíceis de medir, sendo os métodos químicos mais precisos para pequenas perdas (JAGER et al., 2008).

A falta de um "padrão ouro" entre os diferentes métodos de pesquisa no campo da erosão é uma lacuna. Além disso, a influência da composição das bebidas sobre as mensurações não está clara (JAGER et al., 2008). Os trabalhos científicos que embasaram a metodologia desta pesquisa avaliaram parâmetros que se mostraram ao longo do tempo serem bons indicadores para a avaliação do potencial desmineralizante de bebidas, a exemplo, o trabalho de Nogueira; Souza; Nicolau (2000). Os autores examinaram algumas propriedades de sete marcas de cerveja comercializadas no Brasil. Análises de pH, acidez titulável, concentrações de Ca e PO₄ foram realizadas. Experimentos de desmineralização foram conduzidos por incubação das amostras com partículas de coroa dental (40-80 meshs) a 37°C. Três marcas de cervejas tiveram pH inicial menor que 3,0. A quantidade de solução básica para atingir o pH 7,0, requerida por 4 marcas de bebidas foi de 9ml. Todas as marcas de cerveja foram capazes de reagir quimicamente com as partículas do dente dentro do período de incubação, liberando Ca e PO₄ das amostras. Concluiu-se que as marcas de cervejas estudadas podem ter efeitos sobre a estrutura dental (NOGUEIRA; SOUZA; NICOLAU, 2000).

Cochrane et al. (2009) avaliaram o quão bem o pH e a acidez titulável de bebidas podem prever a erosão do esmalte dental. Concluíram que o potencial erosivo de várias bebidas (refrigerantes com e sem açúcar, bebidas contendo leite, isotônicos e suco de laranja) pode ser previsto pelo pH e acidez titulável.

Hannig et al. (2005), investigaram os mínimos efeitos erosivos de diferentes ácidos sobre o esmalte durante curtos períodos de incubação através da determinação de dissolução de Ca e PO₄. Espécimes de esmalte bovino foram erodidos de 1 a 5 minutos com oito diferentes ácidos, os quais foram: ácido cítrico, maleico, láctico, tartárico, fosfórico, oxálico, acético e ácido clorídrico de pH 2,0, 2,3 e 3,0. A dissolução mineral causada por diferentes ácidos foi determinada pela avaliação da liberação de Ca e PO₄ nas soluções através de duplos ensaios fotométricos. A acidez titulável foi determinada para todas as soluções ácidas. Os ácidos maleico, láctico, tartárico, acético e clorídrico causaram liberação linear de Ca e PO₄, ácido fosfórico de Ca e ácido cítrico de PO₄. Para os ácidos cítrico, maleico, láctico, tartárico, acético, fosfórico e clorídrico, a perda mineral mostrou ser pH dependente. Ácido láctico foi um dos ácidos mais erosivos. Ácido acético foi muito erosivo a pH 3,0. Ácido clorídrico e ácido maleico mostraram ter os menores efeitos erosivos. Houve uma correlação fraca ($r=0,28$) entre liberação de Ca e PO₄ e a quantidade de acidez titulável. Os autores concluíram que o método deste estudo permitiu a investigação dos mínimos efeitos erosivos via determinação direta da dissolução de PO₄ e Ca. Durante a exposição em um curto período de tempo em pH constante, efeitos erosivos dependeram principalmente do pH e do tipo de ácido, mas não da quantidade de acidez titulável.

De acordo com o *Workshop* de Metodologia em Pesquisa sobre Erosão, realizado em Zürich no ano de 2010, a temperatura pode afetar significativamente a taxa de erosão. Por isso a temperatura deve ser controlada por utilização, por exemplo, de um banho maria ou incubadora. A temperatura corporal (37°C), temperatura intraoral média (36°C) ou a "temperatura ambiente" poderiam ser usadas. Como a temperatura ambiente varia geograficamente, sazonalmente e ao longo do dia, foi sugerido que a temperatura controlada de 25°C deva ser adotada como "temperatura ambiente" (SHELLIS et al., 2011).

Em relação à ação de bebidas com potencial erosivo, segundo Barbour, Lussi, Shellis (2011), o fator dominante na dissolução é o pH. A capacidade tampão e concentração de F podem ter efeitos significativos sobre o potencial erosivo contra esmalte, mas os efeitos são dependentes do pH. Da mesma forma, o grau de saturação provavelmente afeta a taxa de dissolução apenas ao longo de um determinado intervalo até que a taxa atinja um máximo em um ponto de saturação limitante. Embora o Ca em concentrações elevadas é conhecido por reduzir a erosão de forma eficaz, não se sabe se ele é importante em concentrações que ocorrem naturalmente. A evidência em relação ao PO_4 é contraditória, mas é pouco provável ter a capacidade de reduzir o potencial erosivo.

Na tentativa de reduzir e/ou prevenir a desmineralização dental, estudos com alterações na composição de bebidas ácidas estão sendo conduzidos.

A erosão dental e potencial desmineralizante de um isotônico (Powerade[®]) contendo nanopartículas de HAP como aditivo foi examinada. As soluções experimentais foram Powerade[®] sozinho e com a adição de 0,05%, 0,10% e 0,25% de nanopartículas de HAP. Dentre as variáveis analisadas nesta pesquisa, estavam pH, acidez titulável, conteúdo de Ca e PO_4 de cada solução e alterações morfológicas da superfície dental (examinadas por microscopia eletrônica de varredura). Amostras de esmalte bovino foram tratadas 20 minutos três vezes por dia com solução experimental em cada grupo, com intervalos de 2 horas e 40 minutos entre os tratamentos, durante 7 dias. Nos resultados obtidos, pH aumentou com o aumento da concentração de nanopartículas de HAP nas bebidas, enquanto a acidez titulável diminuiu. A microscopia eletrônica de varredura mostrou uma superfície intacta com o aumento da concentração de HAP nas bebidas. Em conclusão, o desgaste dental erosivo foi eficazmente reduzido com a adição das nanopartículas no isotônico, e esta bebida contendo 0,25% de nanopartículas de HAP pôde prevenir a erosão dental (MIN; KWON; KIM, 2011).

Um estudo avaliou o efeito da adição de íons metálicos às bebidas carbonatadas, em relação ao seu potencial erosivo. Esmalte em pó foi adicionado em bebidas carbonatadas (Coca Cola[®] ou Sprite Zero[®]) e agitado por 30 segundos. As amostras foram então imediatamente centrifugadas e o sobrenadante removido. Este procedimento foi repetido cinco vezes com as

bebidas contendo íons cobre, magnésio, manganês e zinco. PO_4 ou Ca liberados foram analisados espectrofotometricamente. Os resultados sugeriram que a combinação de íons metálicos pode ser uma alternativa para reduzir o potencial erosivo de Coca Cola[®]. Quanto Sprite Zero[®], a adição de íons cobre pareceu ser a melhor alternativa (PEREIRA et al., 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESENHO E AMOSTRA

A pesquisa foi realizada no laboratório de Bioquímica Bucal do Programa de Pós Graduação de Odontologia da Universidade Federal do Paraná.

Um estudo *in vitro* foi desenvolvido para avaliar o potencial desmineralizante de diferentes bebidas energéticas comercializadas no Brasil utilizando HAP. Nove marcas de energéticos foram testadas, sendo elas: Burn[®], Red Bull[®], Fusion[®], Wild Dragon[®], Fire Bird[®], Insano[®], Flying Horse[®], Monster[®] e Psycho Drink[®]. As informações fornecidas pelos fabricantes de cada bebida podem ser observadas na tabela 2. Foi utilizada HAP (referência e descrição do produto: 04238-1Kg Hydroxylapatite; número do lote/número de série: SZBC3390V; marca: Sigma-Aldrich[®]; fórmula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) armazenada em temperatura ambiente, segundo as políticas de armazenamento do fabricante. Sua granulação é inferior a 45 μm em aproximadamente 99% das partículas, sendo a média em torno de 5 μm .

Análises de pH inicial, pH em determinados tempos (1, 3, 5, 7, 10, 15 minutos) a 37^oC e acidez titulável foram realizadas com os energéticos puros. As concentrações de Ca e P das bebidas puras e das bebidas com adição de HAP após sua exposição aos energéticos nos tempos acima descritos também foram determinadas. Os tempos utilizados foram semelhantes aos utilizados por Nogueira; Souza; Nicolau (2000), em que foi observada uma estabilização da perda mineral aproximadamente aos 15 minutos. Previamente ao início das análises, um treinamento piloto foi realizado com os pesquisadores.

TABELA - ENERGÉTICOS, INGREDIENTES, FABRICANTES E REVENDEDORES NO BRASIL

Energético	Ingredientes	Fabricante (País)	Revendedor
Burn®	Água gaseificada, açúcar, glucoronolactona, taurina, cafeína, inositol, extrato de guaraná, vitaminas B3 e B1, acidulante ácido cítrico, regulador de acidez citrato de sódio, aromatizante, conservador benzoato de sódio, corante caramelo IV, corantes artificiais tartrazina e amarelo crepúsculo FCF.	Leão Alimentos e Bebidas (Brasil)	Coca-Cola Brasil
Red Bull®	Água gaseificada, sacarose, glucose, taurina, cafeína, glucoronolactona, inositol, vitaminas B3, B5, B6, B2, B12, acidulante ácido cítrico, reguladores de acidez: citrato de sódio e bicarbonato de magnésio, aromatizantes, corante caramelo I.	Rouch Fruchtsäfte GmbH & Co OG (Áustria)	Red Bull do Brasil
Fusion®	Água gaseificada, açúcar, taurina, cafeína natural do guaraná - guaranina, acidulante ácido cítrico, corantes naturais caroteno e caramelo IV, aromas naturais, reguladores de acidez citrato de sódio e citrato de potássio.	Ambev (Brasil)	Ambev
Wild Dragon®	Água, açúcar, ácido carbônico, glucoronolactona, taurina, aromatizado artificialmente, cafeína, inositol, dextrose, vitaminas (niacina, D-pantotenato de Cálcio, vitamina B6 - hidróclorido, vitamina B12), acidulante ácido cítrico INS 330, estabilizante citrato de sódio INS 331 e corantes: caramelo INS 150c.	Wild Dragon GmbH (Áustria)	Ascensus Comércio Internacional
Fire Bird®	Água, açúcar, cafeína, dextrose, glucoronolactona, inositol, taurina, aromatizado artificialmente, vitaminas (niacina, D-pantotenato de Cálcio, vitamina B-6 hidróclorido e vitamina B-12, corantes: caramelo IV INS 150d e riboflavina INS 101i, acidulantes: ácido cítrico INS 330, ácido láctico INS 270 e ácido carbônico, estabilizantes: citrato de sódio INS 331i e citrato de potássio INS 332ii.	Wild Dragon GmbH (Áustria)	Ascensus Comércio Internacional
Insano®	Água gaseificada, açúcar, taurina, glucoronolactona, cafeína, inositol, vitaminas (B2, B3, B5, B6, B12), acidulante: ácido cítrico INS 330, regulador de acidez: citrato de sódio, conservadores: benzoato de sódio INS 211 e sorbato de potássio INS 202, antioxidante: ácido ascórbico INS 300, corante caramelo IV e aroma artificial.	NewAge Indústria e Comércio de Bebidas e Alimentos (Brasil)	Empresa de Águas Ouro Fino
Flying Horse®	Água gaseificada, açúcar, taurina, glucoronolactona, cafeína, inositol, vitaminas: B3 (niacina), B5 (ác. Pantotênico), B6 (piridoxina), B2 (riboflavina) e B12 (cianocobalamina), acidulante ácido cítrico, regulador de acidez citrato de sódio, aroma idêntico ao natural, conservador benzoato de sódio, corantes caramelo IV e artificial tartrazina.	NewAge Indústria e Comércio de Bebidas e Alimentos (Brasil)	Globalbev Bebidas e Alimentos
Monster®	Água gaseificada, açúcar, xarope de glucose, taurina, cafeína, vitaminas B3, B6, B2 e B12, cloreto de sódio, extrato de semente de guaraná, glucoronolactona, inositol, maltodextrina, acidulante (ácido cítrico), aromatizantes naturais e artificial, regulador de acidez (citrato de sódio), corante (antocianinas), conservadores (ácido sórbico, ácido benzóico).	NewAge Indústria e Comércio de Bebidas e Alimentos (Brasil)	Monster Energy Brasil Comércio de Bebidas
Psycho Drink®	Água, açúcar, ácido carbônico, dextrose, taurina, glucoronolactona, cafeína, inositol, vitaminas (B3, B5, B6, B12), riboflavina, acidulante ácido cítrico, regulador de acidez citrato de sódio e citrato de potássio, aromatizante artificial tutti-frutti, corante caramelo de sulfito de amônia.	Beverage Scouts, GmbH (Áustria)	Arcom

FONTE: Fabricantes das bebidas energéticas (2013)

3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Uma quantidade de 50mg de pó de HAP, pesados em uma balança de precisão (Acculab Sartorius group ALC), foi adicionada a 5ml de cada bebida energética em recipientes de vidro. Este volume inicial foi agitado a 37^oC pelos tempos de 1, 3, 5, 7, 10 e 15 minutos (Banho Maria - Novatecnica).

A amostra foi preparada em triplicata para cada tempo em cada energético. Em cada tempo, a análise das amostras foi realizada em duplicata, totalizando a quantidade de seis leituras para cada tempo em cada energético.

Após a agitação a 37^oC, as amostras foram centrifugadas em eppendorfs de 1,5ml por 2 minutos (centrífuga: mini Spin - Eppendorf, speed x 1000), com a finalidade de separar o precipitado do sobrenadante. Uma quantidade de 1ml do material sobrenadante foi pipetado e armazenado em outro eppendorf de 1,5ml, sendo o precipitado descartado. Após este processo as amostras estavam prontas para serem analisadas.

As amostras dos energéticos puros (energético sem adição de HAP) também foram preparadas em triplicata para cada energético e armazenadas em eppendorfs de 1,5ml.

3.3 ANÁLISES REALIZADAS

3.3.1 pH inicial

Os energéticos foram mantidos no refrigerador em temperatura constante de 4^oC (gelado), para simular as condições em que geralmente são ingeridos. O pH de cada bebida energética foi determinado utilizando o pHmetro (Thermo Scientific - ORION 4 STAR), o qual foi previamente calibrado de acordo com as instruções do fabricante, empregando soluções tampões padrão de pH 7,0 e pH 4,0. Um volume inicial de 40ml de cada energético foi colocado em um becker de vidro, o eletrodo do pHmetro foi submerso

diretamente em cada bebida energética e a leitura do pH inicial foi registrada à temperatura ambiente. A leitura do pH inicial foi realizada em triplicata para cada energético (amostras obtidas da mesma lata), objetivando uma maior confiabilidade dos resultados.

3.3.2 pH nos tempos analisados a 37°C

Para cada bebida energética foi determinado o seu pH nos tempos de 1, 3, 5, 7, 10 e 15 minutos de permanência em banho-maria a 37°C. Foram utilizados recipientes de vidro para cada tempo (6 tempos = 6 recipientes de vidro para cada energético) e em seguida realizada a leitura do pH. Esta aferição teve a finalidade de verificar se o pH dos energéticos testados variavam com o tempo a 37°C.

3.3.3 Acidez titulável

Após a determinação do pH inicial de cada bebida energética com um volume de 40ml no becker, a acidez titulável foi realizada utilizando uma solução de 0,5M de NaOH. O volume de solução de NaOH acrescentado antes de cada aferição de pH foi de 1ml e foi verificado o volume de solução de NaOH necessário para a bebida ultrapassar o pH neutro (pH=7,0), passando pelo pH crítico ao esmalte dental (pH=5,5). A bebida energética foi mantida sob agitação (agitador pH: Gallenkamp - Magnetic stirrer, velocidade 4) durante a realização da acidez titulável para garantir a homogeneidade da mesma. A acidez titulável foi realizada em triplicata para cada energético(amostras obtidas da mesma lata).

3.3.4 Concentração de cálcio

As análises de concentração de Ca foram realizadas com as amostras previamente preparadas. Foi seguida a bula do kit colorimétrico para dosagem de Ca da marca comercial Labtest.

Foi realizado o preparo do reagente de trabalho misturando 3 volumes do Reagente 1 com 1 volume do Reagente 2 de acordo com o número de testes. Estável 8h entre 15-25°C, o reagente de trabalho apresentava a coloração violeta.

	Teste	Padrão
Reagente de trabalho	1,0ml	1,0ml

Para a realização das leituras no espectrofotômetro, foram utilizadas cubetas de vidro de 1 ml.

O espectrofotômetro foi ajustado em 570nm, foi tomada a cubeta de vidro teste e acertado o zero do instrumento (branco). Em seguida, sem movimentar os controles do instrumento, adicionou-se 0,02ml da amostra nesta cubeta. Misturou-se bem e foi determinada a absorbância do teste.

Então foi tomada a cubeta de vidro padrão e acertado o zero do instrumento (branco). Em seguida sem movimentar os controles do instrumento, adicionou-se 0,02ml de padrão nesta cubeta. Misturou-se bem e foi determinada a absorbância.

Após as leituras das absorbâncias testes (amostras) e padrão, foram realizados os cálculos para a determinação das concentrações de Ca, utilizando a fórmula disponibilizada pela bula do fabricante.

$$\text{Cálcio (mg/dl)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 10$$

Totalizaram-se 43 cubetas analisadas para cada bebida energética, sendo 42 cubetas para as amostras e 1 cubeta para o padrão. Foram utilizados o espectrofotômetro (BEL photonics 2000UV - spectrophotometer) e o programa Win Spec (software Win Spec) para realização das leituras.

Sabendo-se as concentrações de Ca dos energéticos com adição de HAP e da bebida energética pura, foi possível calcular a quantidade de perda de Ca da HAP em todos os tempos analisados.

3.3.5 Concentração de fósforo

As análises de concentração de P também foram realizadas com as amostras previamente preparadas. Foi seguida a bula do kit colorimétrico para dosagem de P da Labtest.

Os tubos de ensaio foram tomados e procedeu-se da seguinte forma:

	Branco	Teste	Padrão
Água destilada	2,5ml	2,5ml	2,5ml
Amostra	----	0,1ml	----
Padrão (n.4)	----	----	0,1ml
Catalisador (n.1)	1 gota	1 gota	1 gota

O conteúdo de cada tubo de ensaio, para o branco, testes e padrão foram misturados.

	Branco	Teste	Padrão
Reagente Molibdato (n.2)	1 gota	1 gota	1 gota

Agitou-se fortemente (nesta fase ocorreu turvação). Foram colocados em banho de água fria (20 - 25°C) durante 3 minutos. O nível da água no banho foi superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.

	Branco	Teste	Padrão
Tampao (n.3)	2 gotas	2 gotas	2 gotas

Novamente os tubos foram agitados fortemente e colocados em banho de água fria (20 - 25°C) durante 5 minutos. Para a realização das leituras no espectrofotômetro, foram utilizadas cubetas de vidro de 1 ml. As absorbâncias do teste e padrão foram determinadas em 650nm, acertando o zero com o branco. A cor permanecia estável por 15 minutos, necessitando que as leituras fossem realizadas neste período de tempo. Foram utilizadas para as leituras o

espectrofotômetro (BEL photonics 2000UV - spectrophotometer) e o programa Win Spec (software Win Spec).

Após as leituras das absorvâncias do branco, do padrão e das amostras, foram realizados os cálculos para a determinação das concentrações de P, utilizando a fórmula disponibilizada pela bula do fabricante.

$$\text{Fósforo (mg/dl)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 5$$

Totalizaram-se 44 cubetas analisadas para cada bebida energética, sendo 42 cubetas para as amostras, 1 cubeta para o padrão e 1 cubeta para o branco para a realização das leituras. Sabendo-se as concentrações de P dos energéticos com adição de HAP e da bebida energética pura, foi possível calcular a quantidade de perda de P da HAP em todos os tempos analisados.

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os programas Excel e *Statistical Package for Social Sciences (SPSS 19.0)*. Os dados foram apresentados por média e desvio padrão (DP) e analisados estatisticamente por teste ANOVA, pós teste de Tukey e teste de correlação de Pearson. Foi avaliado se houve diferenças estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$) entre a perda mineral dos diferentes tempos no mesmo energético e entre a perda mineral dos diferentes energéticos no mesmo tempo. Testes de correlação de Pearson foram utilizados entre pH inicial e a perda de Ca e P, e entre acidez titulável e a perda de Ca e P.

4 RESULTADOS

4.1 DETERMINAÇÃO DE pH INICIAL, ACIDEZ TITULÁVEL, CONCENTRAÇÕES DE Ca E P DOS ENERGÉTICOS

Na tabela 3 podem ser observados os parâmetros examinados para os energéticos, expressos em média e desvio padrão. Valores de pH inicial, quantidade de acidez titulável expressa em volume de solução de 0,5M de NaOH necessária para o pH inicial ultrapassar o pH=7,0, concentrações de cálcio e fósforo (mg/dl).

TABELA - DETERMINAÇÃO DE pH INICIAL, ACIDEZ TITULÁVEL, CONCENTRAÇÕES DE Ca, P DOS ENERGÉTICOS

Energético	pH inicial Média (DP)	NaOH 0,5M (ml) Média (DP)	Ca (mg/dl) Média (DP)	P (mg/dl) Média (DP)
Burn [®]	2,71 (0,05)	9,67 (0,58)	1,118 (0,000)	0,205 (0,038)
Red Bull [®]	3,67 (0,01)	9,67 (0,58)	8,860 (1,068)	0,111 (0,041)
Fusion [®]	2,86 (0,02)	11,00 (0,00)	0,559 (0,245)	0,320 (0,029)
Wild Dragon [®]	3,69 (0,08)	10,33 (1,15)	5,230 (0,419)	0,055 (0,053)
Fire Bird [®]	3,34 (0,08)	9,00 (1,00)	1,041 (0,291)	0,283 (0,082)
Insano [®]	3,00 (0,05)	7,67 (0,58)	1,298 (0,623)	0,035 (0,035)
Flying Horse [®]	3,47 (0,05)	13,00 (1,00)	0,405 (0,244)	0,375 (0,344)
Monster [®]	3,65 (0,06)	9,00 (0,00)	0,251 (0,000)	0,270 (0,072)
Psycho Drink [®]	3,06 (0,03)	6,00 (0,58)	4,967 (0,373)	0,211 (0,071)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: DP= desvio padrão. Número de amostras para determinação de pH e acidez titulável igual a 3. Número de amostras para determinação de concentrações de Ca e P igual a 6. Acidez titulável expressa em volume, mililitros (ml) de solução de 0,5M de NaOH, necessária para o pH inicial ultrapassar o pH=7,0.

Duas marcas de energéticos (Burn[®] e Fusion[®]) apresentaram um pH inicial abaixo de 3,0, enquanto as outras sete bebidas tiveram um pH maior que 3,0. A acidez titulável apresentou uma variação na quantidade de solução

necessária para atingir o pH 7,0 entre os energéticos de 6,00 a 13,00ml. O gráfico 1 mostra o perfil da curva de acidez titulável dos energéticos analisados.

Psycho Drink[®] e Insano[®] atingiram o pH 7,0 com menor volume de solução básica (6,00ml e 7,67ml, respectivamente), enquanto o maior volume necessário foi apresentado por Flying Horse[®] (13,00ml). Para alcançar o pH crítico, todos os energéticos necessitaram de um volume que variou entre 4,00ml a 6,00ml, exceto a bebida Flying Horse[®] (8,00ml).

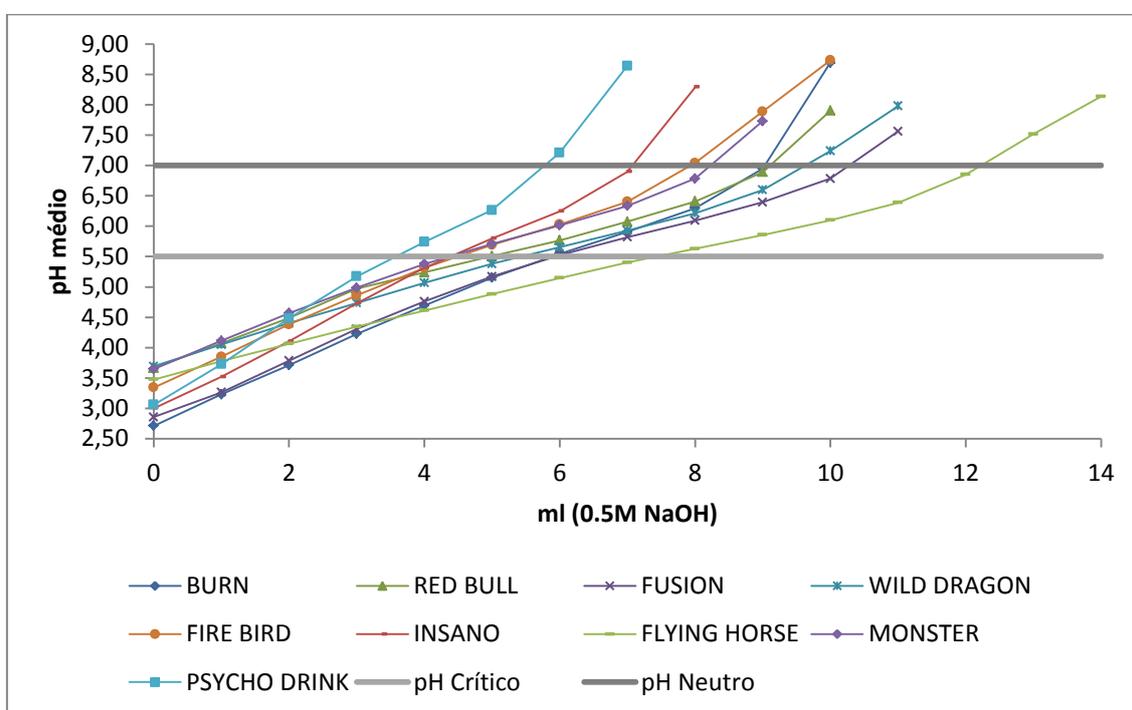


GRÁFICO - PERFIL DA CURVA DE ACIDEZ TITULÁVEL DE 40ML DAS AMOSTRAS DE ENERGÉTICO COM SOLUÇÃO DE 0,5M DE NaOH, DO pH INICIAL AO pH 5,5 (CRÍTICO) E AO pH 7,0 (NEUTRO)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Valores expressos em média. Número de amostras igual a 3.

Testes de correlação de Pearson entre pH inicial e a média de perda mineral total foram realizadas. Igualmente estes testes foram realizados para a acidez titulável.

As correlações entre pH e perda de Ca ($r=0,015$), pH e perda de P ($r=-0,652$), acidez titulável e perda de Ca ($r=0,228$) e acidez titulável e perda de P ($r=-0,279$) não foram estatisticamente significantes ($p>0,05$).

Para cada bebida energética foi determinado o seu pH nos tempos de 1, 3, 5, 7, 10 e 15 minutos a 37°C. O gráfico 2 expressa os resultados desta aferição.

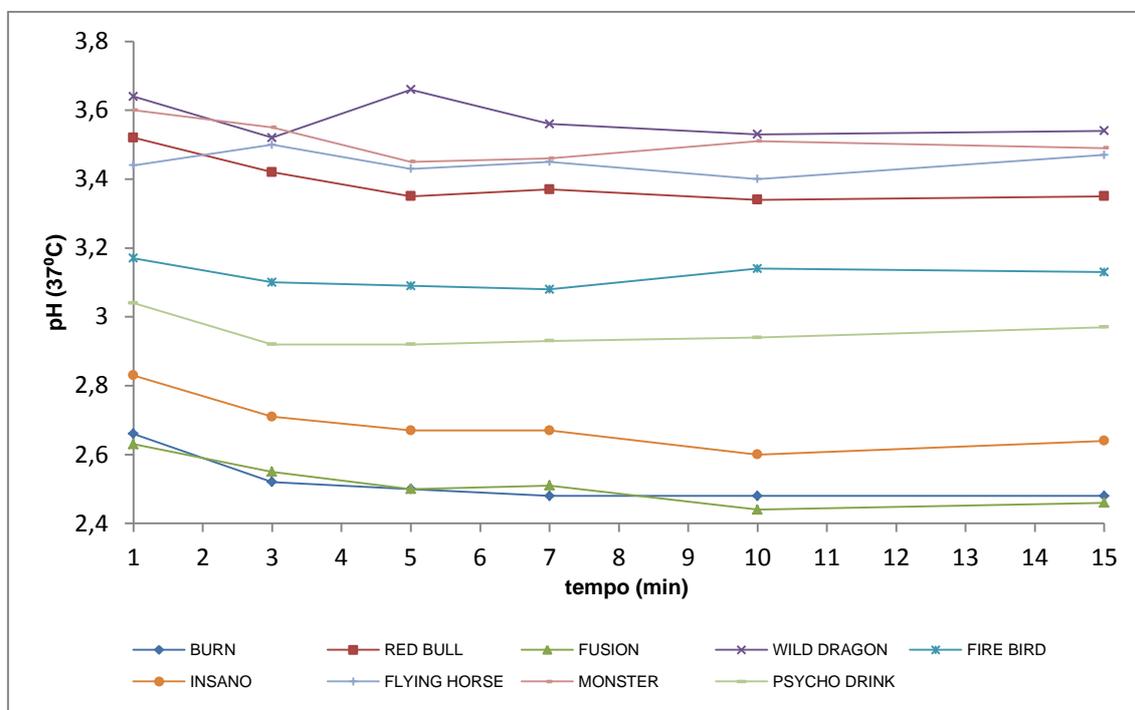


GRÁFICO - PERFIL DAS ALTERAÇÕES DE pH DOS DIFERENTES ENERGÉTICOS NOS TEMPOS DE 1, 3, 5, 7, 10 E 15 MINUTOS A 37°C

FONTE: O autor (2014)

4.2 ANÁLISES DA PERDA DE Ca E P

Dados com a quantidade da perda de Ca e P (mg/dl) da HAP, após diferentes tempos de incubação nos energéticos a 37⁰C, estão nas tabelas 4 e 5, expressos em média e desvio padrão. O número de amostras foi igual a seis para a determinação das médias.

Com base nos valores de perda de Ca e P, o energético que apresentou a maior perda de Ca foi o Fire Bird[®] no tempo de 15 minutos e a menor foi o Red Bull[®] no tempo de 10 minutos. A bebida energética que apresentou a maior perda de P foi o Fusion[®] no tempo de 7 minutos, e a menor foi a bebida Wild Dragon[®], também no tempo de 7 minutos.

TABELA - QUANTIDADE DE PERDA DE Ca (mg/dl) DA HAP APÓS DIFERENTES TEMPOS DE INCUBAÇÃO NOS ENERGÉTICOS A 37°C

Tempo (min)	Burn		Red Bull		Fusion		Wild Dragon		Fire Bird		Insano		Flying Horse		Monster		Psycho Drink	
	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)
1	15,891	(0,178)	9,140	(0,185)	14,638	(0,113)	17,755	(0,137)	20,515	(0,139)	14,607	(0,103)	18,702	(0,110)	14,896	(0,142)	13,884	(0,036)
3	15,703	(0,110)	9,717	(0,651)	14,186	(0,378)	17,783	(0,163)	19,970	(0,102)	14,329	(0,184)	18,051	(0,195)	14,420	(0,326)	13,742	(0,077)
5	15,468	(0,149)	8,927	(0,377)	14,207	(0,244)	17,904	(0,143)	22,721	(0,182)	13,877	(0,135)	18,048	(0,117)	14,271	(0,109)	13,731	(0,075)
7	15,330	(0,173)	8,385	(0,101)	13,055	(0,261)	17,875	(0,085)	22,680	(0,162)	13,870	(0,100)	18,056	(0,103)	14,159	(0,075)	13,840	(0,129)
10	16,278	(0,983)	8,330	(0,236)	13,267	(0,219)	17,624	(0,093)	22,750	(0,216)	13,819	(0,154)	18,087	(0,110)	13,958	(0,065)	13,951	(0,082)
15	15,302	(0,209)	8,611	(0,410)	13,256	(0,043)	17,728	(0,091)	22,769	(0,106)	13,963	(0,151)	17,855	(0,076)	13,977	(0,040)	13,973	(0,050)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Valores expressos em média e, entre parênteses, desvio padrão. Número de amostras para determinação da média de perda de Ca igual a 6.

TABELA - QUANTIDADE DE PERDA DE P (mg/dl) DA HAP APÓS DIFERENTES TEMPOS DE INCUBAÇÃO NOS ENERGÉTICOS A 37°C

Tempo (min)	Burn		Red Bull		Fusion		Wild Dragon		Fire Bird		Insano		Flying Horse		Monster		Psycho Drink	
	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)	Média	(DP)
1	32,004	(1,340)	31,298	(0,487)	32,354	(2,024)	19,307	(3,143)	24,948	(5,468)	32,229	(2,263)	29,856	(0,055)	28,173	(2,132)	34,475	(1,149)
3	32,009	(1,667)	32,270	(2,168)	34,677	(2,438)	20,702	(2,030)	27,667	(4,254)	33,437	(1,210)	28,071	(0,101)	32,588	(0,669)	33,272	(2,115)
5	29,839	(1,209)	31,704	(2,951)	33,717	(1,552)	17,965	(4,086)	22,478	(0,104)	32,871	(1,782)	28,970	(0,098)	30,321	(3,929)	32,268	(2,742)
7	32,233	(1,407)	29,777	(2,934)	35,182	(2,790)	16,459	(2,896)	25,213	(1,588)	30,910	(1,843)	27,484	(0,046)	26,833	(4,072)	33,762	(2,330)
10	30,178	(4,921)	29,143	(1,649)	33,117	(7,178)	21,401	(1,224)	21,456	(5,069)	31,378	(1,309)	28,058	(0,227)	26,712	(5,415)	31,435	(2,065)
15	34,338	(4,394)	30,537	(3,305)	33,580	(1,877)	21,242	(0,624)	25,536	(2,691)	33,139	(3,061)	27,334	(0,087)	28,390	(2,240)	33,234	(1,615)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Valores expressos em média e, entre parênteses, desvio padrão. Número de amostras para determinação da média de perda de P igual a 6.

4.2.1 Análise da perda de Ca e P por energético

A análise da perda de Ca e P por energético foi realizada comparando os diferentes tempos. Os resultados estão apresentados por marca comercial de energético.

4.2.1.1 Burn®

A perda de Ca da HAP, em contato com o energético Burn®, apresentou diferenças estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$) entre os tempos de 5 e 10 minutos ($p=0,030$), 7 e 10 minutos ($p=0,007$) e entre 10 e 15 minutos ($p=0,006$). A maior perda de Ca ocorreu aos 10 minutos e a menor, aos 15 minutos. A perda de P não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os tempos analisados ($p > 0,05$) para o Burn®. A menor perda deste mineral ocorreu aos 5 minutos e a maior aos 15 minutos (gráfico 3).

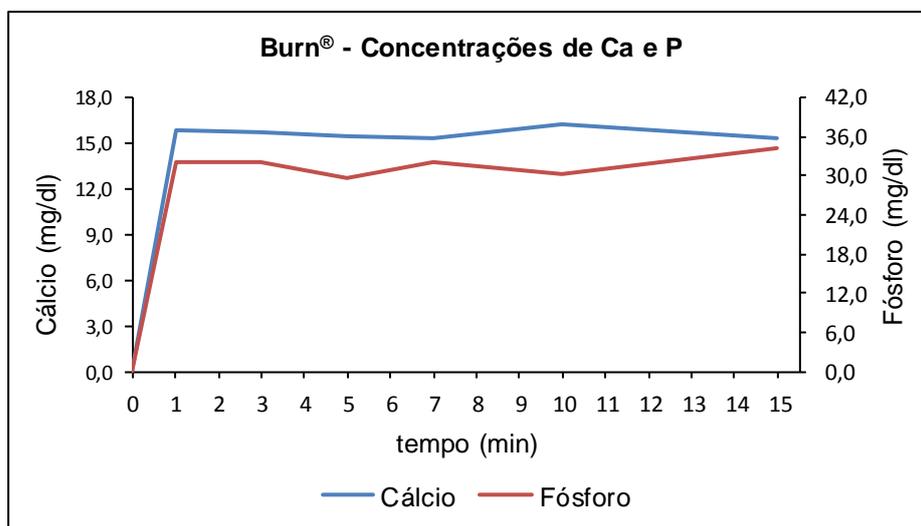


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE Ca E P DA HAP COM BURN®

FONTE: O autor (2014)

4.2.1.2 Red Bull®

A perda de Ca da HAP com o energético Red Bull®, apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os tempos de 1 e 7 minutos ($p=0,017$), 1 e 10 minutos ($p=0,009$) e entre o minuto 3 e os minutos 5 ($p=0,011$), 7 ($p=0,000$), 10 ($p=0,000$) e 15 ($p=0,000$).

Para a perda de P, não houve diferenças estatisticamente significantes entre os diferentes tempos.

Neste energético as maiores perdas de Ca e P ocorreram aos 3 minutos. As menores foram identificadas aos 10 minutos (gráfico 4).

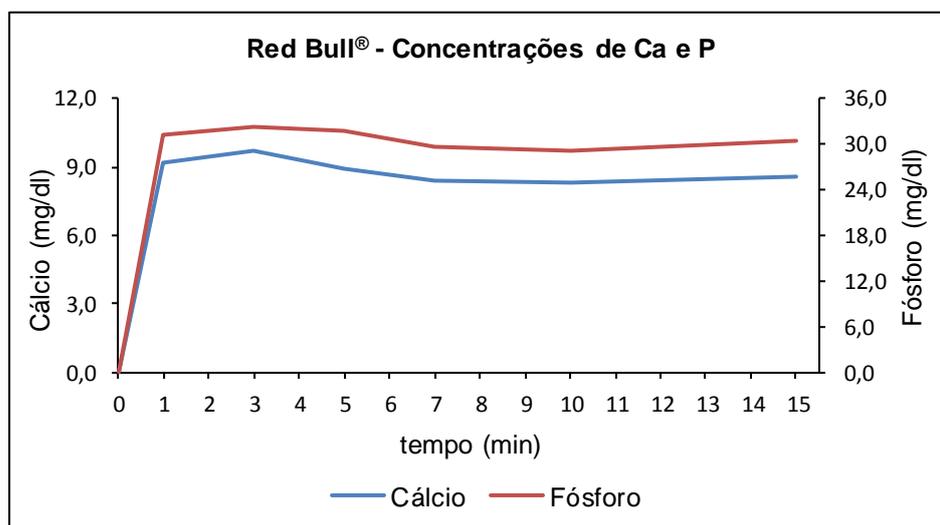


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM RED BULL®

FONTE: O autor (2014)

4.2.1.3 Fusion®

O energético Fusion®, em relação a perda de Ca, apresentou diferenças significantes no minuto 1 com todos os outros minutos, 3 ($p=0,026$), 5 ($p=0,038$), 7 ($p=0,000$), 10 ($p=0,000$) e 15 ($p=0,000$). Aos 3 minutos com os minutos 7 ($p=0,000$), 10 ($p=0,000$) e 15 ($p=0,000$). E aos 5 minutos com os tempos de 7 ($p=0,000$), 10 ($p=0,000$) e 15 minutos ($p=0,000$). No primeiro minuto em contato com o energético, ocorreu a maior perda de Ca da HAP, e a menor perda se deu aos 7 minutos.

Comparando os diferentes tempos para a perda de P, não houve diferenças estatisticamente significantes; sendo a menor perda deste mineral observada no minuto 1 e a maior no minuto 7 (gráfico 5).

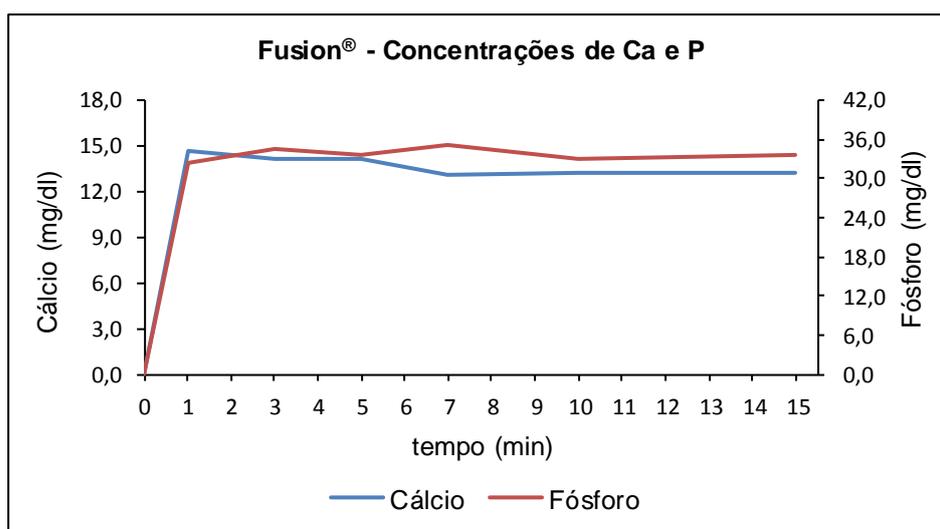


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM FUSION®

FONTE: O autor (2014)

4.2.1.4 Wild Dragon®

Houve diferenças estatisticamente significantes nas perdas de Ca para este energético entre os minutos 5 e 10 ($p=0,005$) e entre 7 e 10 ($p=0,015$). A maior perda de Ca aconteceu aos 5 minutos e a menor aos 10 minutos.

O único energético a apresentar diferenças estatisticamente significantes entre as perdas de P nos tempos analisados foi o Wild Dragon®. Estas diferenças ocorreram entre os minutos 7 e 10 ($p=0,028$) e entre 7 e 15 ($0,036$). A HAP perdeu menos P aos 7 minutos, e mais aos 10 minutos (gráfico 6).

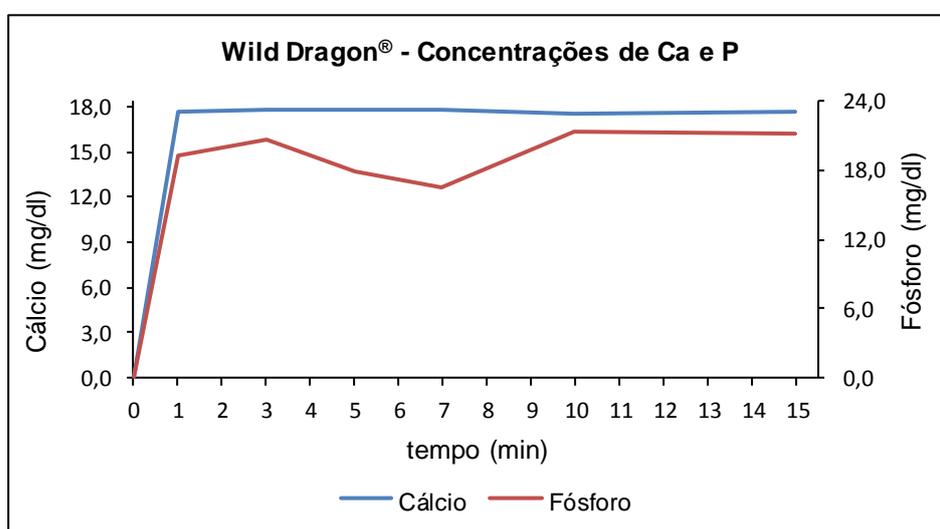


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM WILD DRAGON®

FONTE: O autor (2014)

4.2.1.5 Fire Bird®

Diferenças significantes entre as perdas de Ca foram observadas entre o minuto 1 com todos os outros minutos ($p=0,000$). Também entre o minuto 3 e todos os demais minutos ($p=0,000$). O energético Fire Bird® ocasionou a menor perda de Ca da HAP aos 3 minutos e a maior aos 15 minutos.

Não existiu diferenças significantes entre as perdas de P nos diferentes tempos. A maior perda de P ocorreu no minuto 3, e a menor perda no minuto 10 (gráfico 7).

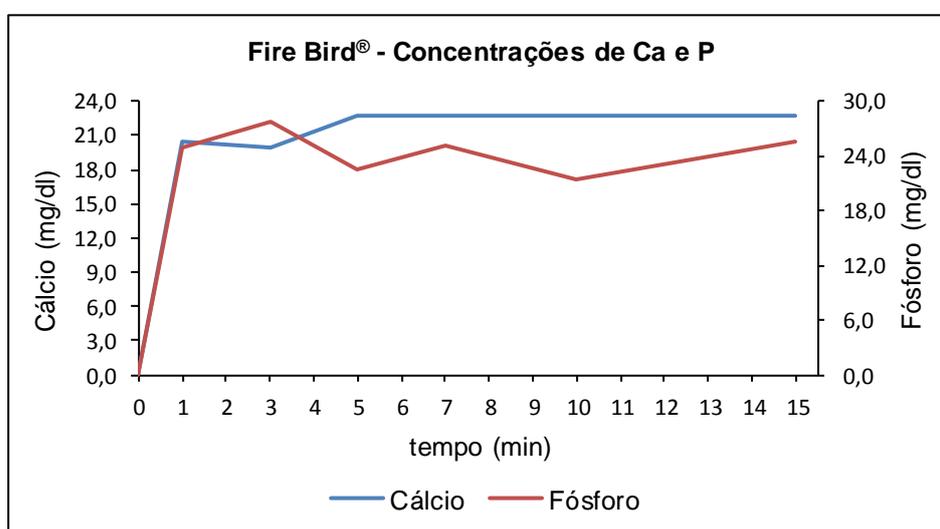


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM FIRE BIRD®

FONTE: O autor (2014)

4.2.1.6 Insano®

Neste energético, houve diferenças significantes nas perdas de Ca entre o minuto 1 com todos os outros minutos, sendo entre o minuto 1 e 3 ($p=0,021$), 1 e os minutos 5 ($p=0,000$), 7 ($p=0,000$), 10 ($p=0,000$) e 15 ($p=0,000$). Também entre o minuto 3 com os demais minutos, apresentando valores de p significativos com 1 ($p=0,021$), 5 ($p=0,000$), 7 ($p=0,000$), 10, ($p=0,000$) e 15 minutos ($p=0,001$). A HAP perdeu maior quantidade de Ca no minuto 1 e a menor no minuto 10 com o Insano®.

Perdas de P entre os tempos não evidenciaram diferenças significantes. A maior perda de P ocorreu no minuto 3 e a menor no minuto 7 (gráfico 8).

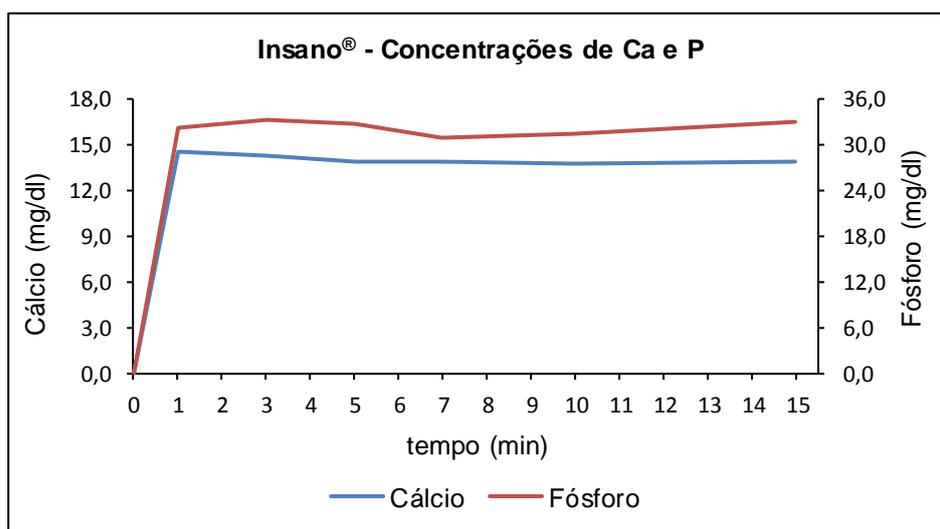


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM INSANO®

FONTE: O autor (2014)

4.2.1.7 Flying Horse[®]

O energético Flying Horse[®], em relação a perda de Ca, apresentou diferenças significantes no minuto 1 com todos os outros minutos ($p=0,000$) e entre os minutos 10 e 15 ($p=0,031$). A maior perda de Ca foi observada no primeiro minuto e a menor aos 15 minutos.

Diferenças entre a perda de P nos diferentes tempos não foram significativas. Em contato com Flying Horse, a HAP teve a maior perda de P no minuto 1 e a menor no minuto 15. (gráfico 9).

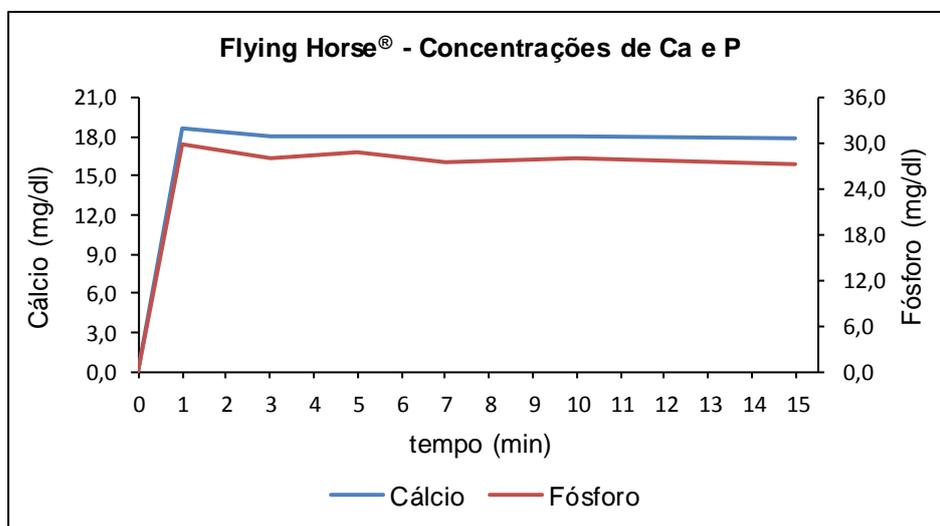


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM FLYING HORSE[®]

FONTE: O autor (2014)

4.2.1.8 Monster[®]

Monster[®] apresentou diferenças estatisticamente significantes nas perdas de Ca entre o minuto 1 com todos os outros ($p=0,000$), entre o minuto 3 com o minuto 1 ($p=0,000$), 10 ($p=0,000$) e o minuto 15 ($p=0,000$), e aos 5 minutos com os minutos 1 ($p=0,000$), 10 ($p=0,020$) e 15 ($p=0,033$). A maior perda de Ca aconteceu no minuto 1 e a menor no minuto 10.

Perdas de P nos tempos analisados não apresentaram diferenças estatisticamente significantes. A maior perda de P aconteceu no minuto 3 e a menor no minuto 10 (gráfico 10).

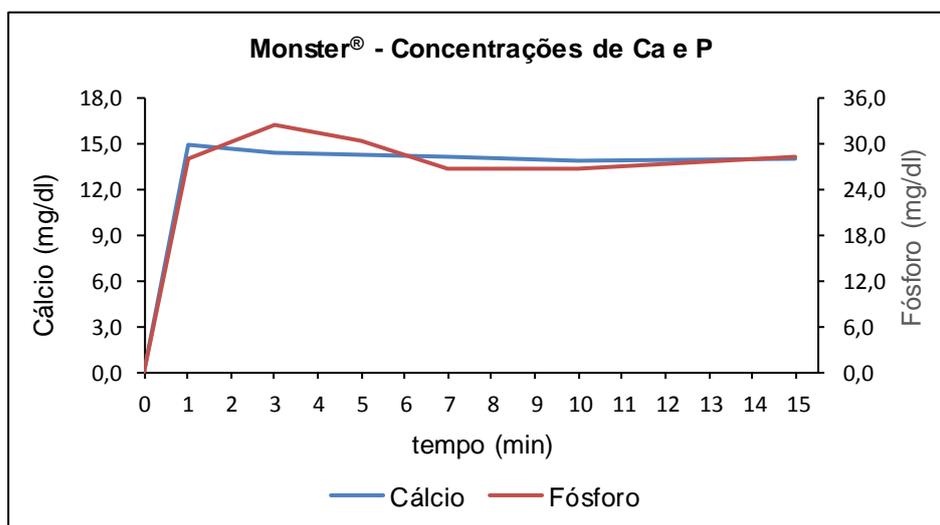


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM MONSTER[®]

FONTE: O autor (2014)

4.2.1.9 Psycho Drink®

Diferenças na perda de Ca foram significativas entre os minutos 1 e 3 ($p=0,048$), 1 e 5 ($p=0,028$), 3 e 10 ($p=0,001$), 3 e 15 ($p=0,000$), 5 e 10 ($p=0,001$) e 5 e 15 ($p=0,000$). Neste energético a menor perda de Ca da HAP foi observada aos 5 minutos e a maior aos 15 minutos.

Para o Psycho Drink®, diferenças na perda de P entre os tempos não foram significantes estatisticamente. A maior perda de P ocorreu no primeiro minuto e a menor aos 10 minutos (gráfico 11).

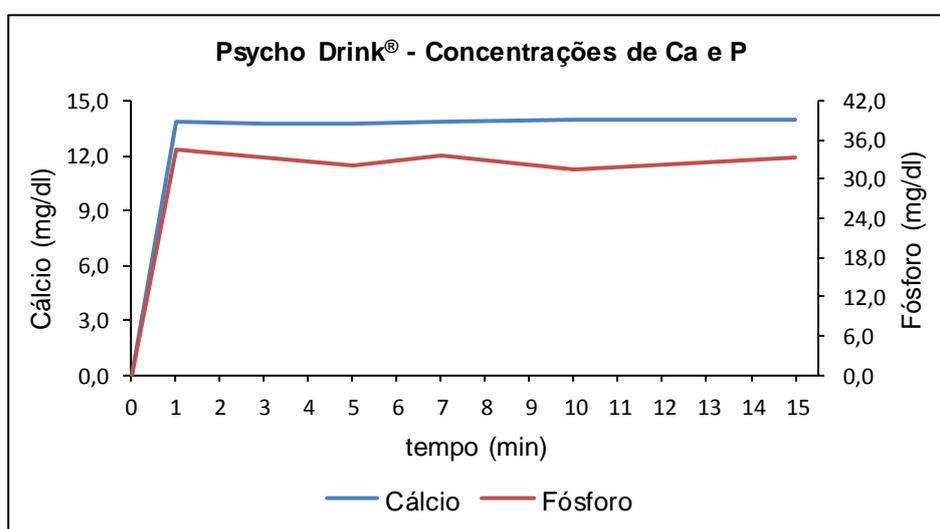


GRÁFICO - PERFIL DA MÉDIA DE PERDA DE Ca E P DA HAP COM PSYCHO DRINK®

FONTE: O autor (2014)

4.2.2 Análise da perda de Ca e P entre os energéticos

A análise da perda de Ca e P entre os energéticos foi realizada comparando-os no mesmo tempo. Os resultados destas comparações estão expressos nas tabelas 6 e 7.

Em relação à perda de Ca, o energético Red Bull® apresentou diferenças estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$) com todos os demais energéticos nos minutos 1, 3, 5, 7 e 15. O mesmo ocorreu com a bebida Fire Bird® nos minutos 5, 7 e 15.

Observando a perda de P, Wild Dragon® apresentou diferenças estatisticamente significantes com as demais bebidas nos minutos 1, 3, 5, 7 e 15. Fire Bird® aos 5 minutos mostrou-se diferente ($p \leq 0,05$) em sua perda de P em relação a todos os outros energéticos.

TABELA - ANÁLISE DE PERDA DE Ca (mg/dl) DA HAP ENTRE OS ENERGÉTICOS NO MESMO TEMPO E POR ENERGÉTICO EM DIFERENTES TEMPOS

Tempo (min)	Burn (A)	Red Bull (B)	Fusion (C)	Wild Dragon (D)	Fire Bird (E)	Insano (F)	Flying Horse (G)	Monster (H)	Psycho Drink (I)
1 (a)	bcdef _{15,891} ^{CDFGHI}	bcd _{9,140}	14,638 ^{ADFHI}	bcdef _{17,755} ^{ACEFGH}	20,515 ^{DG}	14,607 ^{ACDHI}	18,702 ^{ADE}	14,896 ^{ACDFI}	def _{13,884} ^{ACFH}
3 (b)	acdef _{15,703} ^{CDFGHI}	a _{9,717}	c _{14,186} ^{AFHI}	acdef _{17,783} ^{AEG}	19,970 ^{DG}	14,329 ^{ACHI}	cdef _{18,051} ^{ADE}	cd _{14,420} ^{ACFI}	cd _{13,742} ^{ACFH}
5 (c)	abdf _{15,468} ^{CDFGHI}	adef _{8,927}	b _{14,207} ^{ADFGHI}	abdf _{17,904} ^{ACFGHI}	def _{22,721}	def _{13,877} ^{ACDGH}	bdef _{18,048} ^{ACDFH}	bd _{14,271} ^{ACDFGI}	bd _{13,731} ^{ACDFH}
7 (d)	abcf _{15,330} ^{CDFGHI}	cef _{8,385}	ef _{13,055} ^{AFHI}	abcf _{17,875} ^{AG}	cef _{22,680}	cef _{13,870} ^{ACHI}	bcef _{18,056} ^{AD}	bcef _{14,159} ^{ACFI}	abcef _{13,840} ^{ACFH}
10 (e)	ab _{16,278} ^{CDFGHI}	cdf _{8,330} ^{CFHI}	df _{13,267} ^{ABDFGHI}	abf _{17,624} ^{ACEFGHI}	cdf _{22,750} ^{DG}	cdf _{13,819} ^{ABCDGHI}	bcd _{18,087} ^{ACDEFHI}	df _{13,958} ^{ABCDFGI}	adf _{13,951} ^{ABCDFGH}
15 (f)	abcd _{15,302} ^{CDFGHI}	acde _{8,611}	de _{13,256} ^{AFHI}	abcde _{17,728} ^{AFGHI}	cde _{22,769}	cde _{13,963} ^{ACDHI}	bcd _{17,855} ^{AD}	de _{13,977} ^{ACDFI}	ade _{13,973} ^{ACDFH}

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Valores expressos em média. Número de amostras para determinação da média de perda de Ca igual a 6. Cada energético está representado por uma letra maiúscula e cada tempo por uma letra minúscula entre parênteses. Médias acompanhadas de letras maiúsculas iguais à de determinado energético, significa que não houve diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) na perda de Ca comparando-as à média do determinado energético no mesmo tempo. Médias acompanhadas de letras minúsculas iguais à de determinado tempo, significa que não houve diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) na perda de Ca comparando-as à média do determinado tempo para o mesmo energético (ANOVA e pós teste de Tukey - $p \leq 0,05$).

TABELA - ANÁLISE DE PERDA DE P (mg/dl) DA HAP ENTRE OS ENERGÉTICOS NO MESMO TEMPO E POR ENERGÉTICO EM DIFERENTES TEMPOS

Tempo (min)	Burn (A)	Red Bull (B)	Fusion (C)	Wild Dragon (D)	Fire Bird (E)	Insano (F)	Flying Horse (G)	Monster (H)	Psycho Drink (I)
1 (a)	bcdef ^{32,004} ^{BCFGI}	bcdef ^{31,298} ^{ACFGHI}	bcdef ^{32,354} ^{ABFGI}	bcdef ^{19,307}	bcdef ^{24,948} ^H	bcdef ^{32,229} ^{ABCGI}	bcdef ^{29,856} ^{ABCFH}	bcdef ^{28,173} ^{BEG}	bcdef ^{34,475} ^{ABCF}
3 (b)	acdef ^{32,009} ^{BCFHI}	acdef ^{32,270} ^{ACFHI}	acdef ^{34,677} ^{ABFHI}	acdef ^{20,702}	acdef ^{27,667} ^G	acdef ^{33,437} ^{ABCHI}	acdef ^{28,071} ^E	acdef ^{32,588} ^{ABCFI}	acdef ^{33,272} ^{ABCFH}
5 (c)	abdef ^{29,839} ^{BCFGHI}	abdef ^{31,704} ^{ACFGHI}	abdef ^{33,717} ^{ABFHI}	abdef ^{17,965}	abdef ^{22,478}	abdef ^{32,871} ^{ABCGHI}	abdef ^{28,970} ^{ABFHI}	abdef ^{30,321} ^{ABCFGHI}	abdef ^{32,268} ^{ABCFGH}
7 (d)	abcef ^{32,233} ^{BCFI}	abcef ^{29,777} ^{AFGH}	abcef ^{35,182} ^{AI}	abc ^{16,459}	abcef ^{25,213} ^{GH}	abcef ^{30,910} ^{ABGI}	abcef ^{27,484} ^{BEFH}	abcef ^{26,833} ^{BEG}	abcef ^{33,762} ^{ACF}
10 (e)	abcdf ^{30,178} ^{BCFGHI}	abcdf ^{29,143} ^{ACFGHI}	abcdf ^{33,117} ^{ABFGI}	abcf ^{21,401} ^{EH}	abcdf ^{21,456} ^{DH}	abcdf ^{31,378} ^{ABCGHI}	abcdf ^{28,058} ^{ABCFHI}	abcdf ^{26,712} ^{ABDEFGI}	abcdf ^{31,435} ^{ABCFGH}
15 (f)	abcde ^{34,338} ^{BCFI}	abcde ^{30,537} ^{ACFGHI}	abcde ^{33,580} ^{ABFI}	abce ^{21,242}	abcde ^{25,536} ^{GH}	abcde ^{33,139} ^{ABCI}	abcde ^{27,334} ^{BEH}	abcde ^{28,390} ^{BEG}	abcde ^{33,234} ^{ABCF}

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Valores expressos em média. Número de amostras para determinação da média de perda de P igual a 6. Cada energético está representado por uma letra maiúscula e cada tempo por uma letra minúscula entre parênteses. Médias acompanhadas de letras maiúsculas iguais à de determinado energético, significa que não houve diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) na perda de P comparando-as à média do determinado energético no mesmo tempo. Médias acompanhadas de letras minúsculas iguais à de determinado tempo, significa que não houve diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) na perda de P comparando-as à média do determinado tempo para o mesmo energético (ANOVA e pós teste de Tukey - $p \leq 0,05$).

5 DISCUSSÃO

Todas as bebidas energéticas, independente do seu pH e acidez titulável, ocasionaram desmineralização da HAP, sugerindo portanto nocividade à estrutura dental (tabelas 4 e 5).

Os energéticos possuem potencial erosivo sobre a estrutura dental, baseados em características como pH inicial, acidez titulável, rugosidade e dureza superficial das amostras (KITCHENS; OWENS, 2007; EHLEN et al., 2008; COCHRANE et al., 2009; CAVALCANTI et al., 2010). Dentro da literatura consultada, o presente estudo *in vitro* foi o primeiro a avaliar o potencial desmineralizante de diferentes bebidas energéticas, através de análises de concentrações de Ca e P da HAP. Metodologia semelhante foi utilizada por Nogueira; Souza; Nicolau (2000), em que os autores avaliaram os potencial nocivo de cervejas sobre os dentes avaliando pH, acidez titulável, concentrações de cálcio e fosfato.

De acordo com os resultados dos testes de correlação de Pearson entre pH e a perda de Ca ($r=0,015$) e P ($r=-0,652$), pH não teve correlação estatisticamente significativa com a perda mineral da HAP. Mais estudos relataram resultados em que baixo pH e potencial desmineralizante não tiveram correlação, como o trabalho de Ehlen et al. (2008) que avaliou pH, acidez titulável e profundidade de lesões erosivas no esmalte e raiz dental utilizando sucos, refrigerantes, isotônicos e energéticos, e de Caneppele et al. (2012) que utilizaram métodos de análise de perfil de superfície e espectrometria de energia dispersiva de fluorescência de raios X após desafio erosivo com isotônico, suco de laranja, refrigerante, energético e vinho branco. Em contrapartida, outros trabalhos encontraram relações significativas entre baixo pH de bebidas (energéticos, isotônicos, refrigerantes, sucos, diferentes tipos de ácidos) e potencial erosivo (HANNIG et al., 2005; COCHRANE et al., 2009; CAVALCANTI et al., 2010; ERDEMIR et al., 2012; LUSSI et al., 2012; ERDEMIR et al., 2013).

O maior volume de NaOH necessário para a bebida atingir o pH neutro foi observado com o energético Flying Horse[®] (13,00ml), o qual não apresentou a maior perda mineral neste trabalho. Testes de correlação de Pearson entre acidez titulável e a perda de Ca ($r=0,228$) e P ($r=-0,279$) não mostraram correlações estatisticamente significantes. Assim como observado nesta pesquisa, outros

pesquisadores também não evidenciaram o parâmetro acidez titulável como um bom indicador para o potencial de desmineralização (HANNIG et al., 2005; EHLEN et al., 2008; LUSI et al., 2012).

Os valores de pH para cada energético apresentaram pequena variação com o tempo a 37°C. Esta mensuração foi realizada para verificar se no decorrer do tempo o pH sofreria grandes alterações e se isto poderia interferir na perda mineral. Porém tal interferência não ocorreu, visto que a desmineralização oscilou entre os minutos analisados e os valores de pH se mantiveram praticamente constantes aos 1, 3, 5, 7, 10 e 15 minutos em temperatura estável.

A perda de Ca e P por energético entre os diferentes tempos não foi crescente, apresentando variações, o que impossibilitou a generalização de um padrão de desmineralização para todos os energéticos. Algumas bebidas apresentaram as maiores perdas nos minutos iniciais, outras nos minutos finais e ainda houve energéticos com o pico da perda nos minutos intermediários da análise. Em geral, foram observados três padrões de perda mineral nas bebidas avaliadas: o tempo de maior perda de Ca foi diferente do tempo de maior perda de P (Burn[®], Wild Dragon[®], Fire Bird[®], Insano[®], Monster[®] e Psycho Drink[®]); o tempo de maior perda de Ca foi igual ao tempo de maior perda de P (Red Bull[®], Flying Horse[®]); o tempo de maior perda de Ca foi igual ao tempo de menor perda de P (Fusion[®]).

Já no estudo realizado em que sete marcas de cervejas foram avaliadas por um período de 30 minutos, uma perda de Ca crescente foi observada em todas as bebidas, e com o passar do tempo esta desmineralização atingiu uma taxa estável, que aconteceu em torno dos 15 minutos. Esta redução na quantidade de Ca liberado do dente à solução provavelmente ocorreu devido à concentração mineral inicial das bebidas somada à quantidade de Ca liberada pela reação química, atingindo um ponto de saturação do mineral na solução (NOGUEIRA; SOUZA; NICOLAU, 2000). A escolha dos tempos analisados no presente estudo foi baseada no tempo de estabilização da perda mineral verificada no trabalho de Nogueira; Souza; Nicolau (2000). Porém tal estabilização não foi observada nesta pesquisa, possivelmente devido ao tamanho das partículas de HAP utilizadas ser menor que as partículas dentais utilizadas por Nogueira; Souza; Nicolau (2000). A área superficial de contato foi muito maior, disponibilizando portanto maior superfície para o ataque ácido.

Além da concentração inicial de Ca e P das bebidas energéticas e o tamanho das partículas poderem influenciar na taxa de desmineralização, outros ingredientes podem ter interagido com o Ca e PO_4 da HAP e ter colaborado para as oscilações de perda mineral observadas. Pode-se inferir que íons Ca^{+2} e PO_4^{-3} , em determinado tempo em contato com o energético, podem ter interagido e conseqüentemente se associado com as moléculas presentes na bebida, reduzindo a quantidade de íons Ca^{+2} e PO_4^{-3} presentes em solução. O oposto também pode ter ocorrido, ou seja, após se associar às moléculas presentes no energético, a dissociação pode ter acontecido, aumentando a concentração de íons Ca^{+2} e PO_4^{-3} na solução.

Nesta investigação não houve a intenção de comparar a magnitude das reações químicas entre as nove diferentes marcas de energéticos com a HAP, somente se elas foram capazes de liberar Ca e P .

A influência da composição da solução consiste em um aspecto importante por gerar a possibilidade de futuras investigações descobrirem componentes a serem adicionados às bebidas com a finalidade de reduzir seu potencial desmineralizante e/ou até mesmo, proteger a estrutura dental como observado em alguns estudos com isotônicos e refrigerantes (MIN; KWON; KIM, 2011; PEREIRA et al., 2013).

As análises da perda de Ca e P entre os energéticos, comparando-os no mesmo tempo de exposição, revelaram diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$). Baseando-se na média aritmética da perda de Ca e P de todos os tempos analisados em cada energético e comparando-as, o energético que apresentou a maior perda de Ca foi Fire Bird[®] e a menor foi o Red Bull[®]. Em relação ao P, a maior perda foi encontrada com o energético Fusion[®] e a menor com Wild Dragon[®].

Os resultados deste estudo não podem ser extrapolados para as condições *in vivo*, em que há a presença de saliva e outros fatores protetores e de HAP carbonatada deficiente em Ca da estrutura dental. Entretanto os achados deste trabalho apontam o potencial desmineralizante de diferentes bebidas energéticas à HAP, sugerindo nocividade ao mineral dental. Futuras pesquisas sobre o potencial desmineralizante de energéticos poderiam ser conduzidas em dentes ao invés de HAP, utilizando análises microscópicas somadas às avaliações de propriedades químicas.

6 CONCLUSÃO

A realização deste estudo *in vitro* permitiu as seguintes conclusões:

- todos os energéticos analisados tiveram a capacidade de alterar as concentrações de Ca e P da HAP, possuindo efeitos potencialmente desmineralizantes;

- o potencial desmineralizante dos diferentes energéticos não esteve correlacionado aos parâmetros pH inicial e acidez titulável;

- a perda mineral não foi crescente, apresentando variações específicas para cada energético entre os diferentes tempos analisados;

- a perda mineral entre os diferentes energéticos em um mesmo tempo avaliado revelou diferenças estatisticamente significativas;

- a maior perda total (média) de Ca ocorreu com a bebida energética Fire Bird[®] enquanto a maior perda total (média) de P foi ocasionada pela bebida Fusion[®]. As menores perdas ocorreram com os energéticos Red Bull[®] e Wild Dragon[®] em relação ao Ca e P respectivamente;

- sugere-se que a composição da bebida energética interferiu no processo de desmineralização da HAP.

REFERÊNCIAS

AL-MAJED, I.; MAGUIRE, A.; MURRAY, J. J. Risk factors for dental erosion in 5-6 year old and 12-14 year old boys in Saudi Arabia. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v.30, n.1, p. 38-46, 2002.

AMAECHEI, B. T.; HIGHAM, S. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. **Journal of Dentistry**, v. 29, n. 5, p. 371-376, 2001.

AMAECHEI, B. T.; HIGHAM, S. M. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. **Journal of Dentistry**, v. 33, n. 3, p. 243-252, 2005.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 273, de 22 de setembro de 2005**: Regulamento técnico para misturas para o preparo de alimentos e alimentos prontos para o consumo. Brasil, 2005.

ARENDS, J.; BOSCH, J.J. In vivo De- and remineralization of dental enamel. Oxford: IRL Press, 1985.

ARRIA, A. M. et al. Increased alcohol consumption, nonmedical prescription drug use, and illicit drug use are associated with energy drink consumption among college students. **Journal of Addiction Medicine**, v. 4, n. 2, p. 74-80, 2010.

ATTILA, S.; CAKIR B. Energy-drink consumption in college students and associated factors. **Nutrition**, v. 27, n. 3, p. 316-322, 2011.

BALLISTRERI, M. C.; CORRADI-WEBSTER, C. M. Consumption of energy drinks among physical education students. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 16, n. spe, p. 558-564, 2008.

BARBOUR, M. E.; REES, J. S. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. **Journal of Dentistry**, v. 32, n. 8, p. 591-602, 2004.

BARBOUR, M. E.; LUSSI, A.; SHELLIS, R. P. Screening and prediction of erosive potential. **Caries Research**, v. 45, suppl 1, p. 24-32, 2011.

BOYLE, M.; CASTILLO, V. D. Monster on the loose. **Fortune**, v. 154, p. 116-122, 2006.

CANEPPELE, T. M. et al. In Vitro assessment of dentin erosion after immersion in acidic beverages: surface profile analysis and energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry study. **Brazilian Dental Journal**, v. 23, n. 4, p. 373-378, 2012.

CAVALCANTI, A. L. et al. Short communication: In vitro assessment of erosive potential of energy drinks. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v. 11, n. 5, p. 253-255, 2010.

CENTERWALL, B. S. et al. Erosion of dental enamel among competitive swimmers at a gas-chlorinated swimming pool. **American Journal of Epidemiology**, v. 123, n. 4, p. 641-647, 1986.

CHENG, Z. J. et al. The enamel softening and loss during early erosion studied by AFM, SEM and nanoindentation. **Biomedical Materials**, v. 4, n. 1, p. 1-7, 2009.

COCHRANE, N. J. et al. Erosive potential of beverages sold in Australian schools. **Australian Dental Journal**, v. 54, n. 3, p. 238-244; quiz 277, 2009.

CORRER, G. M. et al. Influence of diet and salivary characteristics on the prevalence of dental erosion among 12-year-old schoolchildren. **Journal of Dentistry for Children**, v. 76, n. 3, p. 181-187, 2009.

CURZON, M. E. J.; FEATHERSTONE, J. D. B. Chemical composition of enamel. In: LAZZARI, E.P. **Handbook of Experimental Aspects of Oral Biochemistry**. Boca Raton: CRC Press, 1983. p. 123-135.

DUGMORE, C. R., ROCK, W. P. The prevalence of tooth erosion in 12-year old children. **Brazilian Dental Journal**, v. 196, n. 5, p. 279-282, 2004.

EDWARDS, M. et al. A videofluoroscopic comparison of straw and cup drinking: the potential influence on dental erosion. **Brazilian Dental Journal**, v. 185, n. 5, p. 244-249, 1998.

EDWARDS, M. et al. Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 26, n. 12, p. 923-927, 1999.

EHLEN, L. A. et al. Acidic beverages increase the risk of *in vitro* tooth erosion. **Nutrition Research**, v. 28, n. 5, p. 299-303, 2008.

EISENBURGER, M. et al. Effect of time on the remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. **Caries Research**, v. 35, n. 3, p. 211-215, 2001.

EL AIDI, H.; BRONKHORST, E. M.; TRUIN, G. J. A longitudinal study of tooth erosion in adolescents. **Journal of Dental Research**, vol. 87, n. 8, p. 731-735, 2008.

ERDEMIR, U. et al. Surface hardness of different restorative materials after long-term immersion in sports and energy drinks. **Dental Materials Journal**, v. 31, n. 5, p. 729-736, 2012.

ERDEMIR, U. et al. Surface hardness evaluation of different composite resin materials: influence of sports and energy drinks immersion after a short-term period. **Journal of Applied Oral Science**, v. 21, n. 2, p. 124-131, 2013.

EUROMONITOR INTERNATIONAL: COUNTRY REPORT Sports and Energy Drinks in Brazil Jul 2013. Disponível em: <<http://www.euromonitor.com/sports-and-energy-drinks-in-brazil/report>>. Acesso em: 01/02/2014.

FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Synthetic apatites containing Na, Mg, and CO₃ and their comparison with tooth enamel mineral. **Calcified Tissue International**, v. 35, n. 2, p. 169-171, 1983a.

FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Acid reactivity of carbonated-apatites with strontium and fluoride substitutions. **Journal of Dental Research**, v. 62, n. 10, p. 1049-1053, 1983b.

FEATHERSTONE, J. D. B. The science and practice of caries prevention. **Journal of the American Dental Association**, v. 131, n. 7, p.887-899, 2000.

FEATHERSTONE, J. D.; LUSSI, A. Understanding the chemistry of dental erosion. **Monographs in Oral Science**, v. 20, p. 66-76, 2006.

FERREIRA, S. E.; DE MELLO, M. T.; FORMIGONI, M. L. O. DE S. O efeito das bebidas alcoólicas pode ser afetado pela combinação com bebidas energéticas? Um estudo com usuários. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 50, n. 1, p. 48-51, 2004.

FORAN, M. et al. Excessive intraoperative bleeding with chronic energy drink consumption. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 70, n. 6, p. 1439-1441, 2012.

GANSS, C.; LUSI, A. Diagnosis of erosive tooth wear. **Monographs in Oral Science**, v. 20, p. 32-43, 2006.

GOLDMAN, R. D. Caffeinated energy drinks in children. **Canadian Family Physician**, v. 59, n. 9, p. 947-948, 2013.

GONÇALVES, G. K. et al. Dental erosion in cerebral palsy patients. **Journal of Dentistry for Children**, v. 75, n. 2, p.117-120, 2008.

GUNJA, N.; BROWN, J. A. Energy drinks: health risks and toxicity. **Medical Journal of Australia**, v. 16, n. 1, p. 46-49, 2012.

HANNIG, C. et al. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. **Archives of Oral Biology**, v. 50, n. 6, p. 541-552, 2005.

HARA, A. T.; ZERO, D. T. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. **European Journal of Oral Sciences**, v. 116, n. 1, p. 60-65, 2008.

JAEGGI, T.; LUSI, A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. **Monographs in Oral Science**, v. 20, p. 44-65, 2006.

JAGER, D. H. et al. Influence of beverage composition on the results of erosive potential measurement by different measurement techniques. **Caries Research**, v. 42, n. 2, p. 98-104, 2008.

JÄRVINEN, V. K.; RYTÖMAA, I.; HEINONEN, O. P. Risk factors in dental erosion. **Journal of Dental Research**, v. 70, p. 942-947, 1991.

JOHANSSON, A. K.; LINGSTROM, O.; BIRKHED, D. Comparison of factors potentially related to the occurrence of dental erosion in high- and low-erosion groups. **European Journal of Oral Sciences**, v. 110, n. 3, p. 204-211, 2002.

JOHANSSON, A. K. et al. Influence of drinking method on toothsurface pH in relation to dental erosion. **European Journal of Oral Sciences**, v. 112, n. 6, p. 484-489, 2004.

JOHANSSON, A. K. et al. Dental erosion and its growing importance in clinical practice: from past to present. **International Journal of Dentistry**, v. 2012, article ID 632907, 17p., 2012.

KITCHENS, M.; OWENS, B. M. Effect of carbonated beverages, coffee, sports and high energy drinks, and bottled water on the *in vitro* erosion characteristics of dental enamel. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 31, n. 3, p. 153-159, 2007.

LAMBRECHTS, P. et al. Restorative therapy for erosive lesions. **European Journal of Oral Sciences**, v. 104, n. 2, p. 229-240, 1996.

LARSEN, M. J. Chemical events during tooth dissolution. **Journal of Dental Research**, v. 69, n. spec, p. 575-580, 1990.

LEGEROS, R. Z. Calcium phosphates in enamel, dentine and bone. In: MYERS, H. M. **Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine**. Basel: Karger, 1991. p. 108-129.

LINDE, A. Dentine: structure, chemistry and formation. In: THYLSTRUP, A.; LEACH, S. A.; QVIST, V. **Dentine and Dentine Reactions in the Oral Cavity**. Oxford: IRL Press, 1983. p. 17-26.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; SCHARER, S. The influence of different factor on *in vitro* enamel erosion. **Caries Research**, v. 27, n. 5, p. 387-393, 1993.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; JAEGGI-SCHÄRER, S. Prediction of the erosive potential of some beverages. **Caries Research**, v. 29, n. 5, p. 349-354, 1995.

LUSSI, A.; SCHAFFNER, M. Progression of and risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. **Caries Research**, v. 34, n. 2, p. 182-187, 2000.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; SCHAFFNER, M. Diet and dental erosion. **Nutrition**, v. 18, n. 9, p. 780-781, 2002.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; ZERO, D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. **Caries Research**, v. 38, suppl. 1, p. 34-44, 2004.

LUSSI, A. et al. Dental erosion - an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. **Caries Research**, v. 45, suppl 1, p. 2-12, 2011.

LUSSI, A. et al. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. **British Journal of Nutrition**, v. 107, N. 2, p. 252-262, 2012.

MALINAUSKAS, B. M. et al. A survey of energy drink consumption patterns among college students. **Nutrition Journal**, v. 6, n. 35, 7 p., 2007.

MILLWARD, A. et al. Continuous monitoring of salivary flow rate and pH at the surface of the dentition following consumption of acidic beverages. **Caries Research**, v. 31, n. 1, p. 44-49, 1997.

MIN, J. H.; KWON, H. K.; KIM, B. I. The addition of nano-sized hydroxyapatite to a sports drink to inhibit dental erosion: in vitro study using bovine enamel. **Journal of Dentistry**, v. 39, n. 9, p. 629-635, 2011.

MOYNIHAN, P.; PETERSEN, P. E. Diet, nutrition and the prevention of dental diseases. **Public Health Nutrition**, v. 7, n. 1a, p. 201-226, 2004.

NOGUEIRA, F. N.; SOUZA, D. N.; NICOLAU, J. In vitro approach to evaluate potential harmful effects of beer on teeth. **Journal of Dentistry**, v. 28, n. 4, p. 271-276, 2000.

ODUTUGA, A. A.; PROUT, R. E. Lipid analysis of human enamel and dentine. **Archives of Oral Biology**, v. 19, n. 8, p. 729-731, 1974.

OKUNSERI, C. et al. Erosive tooth wear and consumption of beverages among children in the United States. **Caries Research**, v. 45, n. 2, p. 130-135, 2011.

O'SULLIVAN, E. A.; CURZON, M. E. J. A comparison of acidic dietary factors in children with and without dental erosion. **ASDC Journal of Dentistry for Children**, v. 67, n. 3, p. 186-192, 2000.

OWENS, B. M. The potential effects of pH and buffering capacity on dental erosion. **General Dentistry**, v. 55, n. 6, p. 527-531, 2007.

PACKER, C. D. Cola-induced hypokalaemia: a super-sized problem. **International Journal of Clinical Practice**, v. 63, n. 6, p. 833-835, 2009.

PEREIRA, H. A. et al. Supplementation of soft drinks with metallic ions reduces dissolution of bovine enamel. **Journal of Applied Oral Science**, v. 21, n. 4, p.363-368, 2013.

PINTO, S. C. et al. Erosive potential of energy drinks on the dentine surface. **BioMed Central Research Notes**, v. 6, n. 67, 6 p., 2013.

PRONSKY, Z. M. **Food Medication Interactions**. 10. ed. Pottstown: Crowe JP. Pottstown, 1997. 274 p.

REISSIG, C.; STRAIN, E.C.; GRIFFITHS, R.R. Caffeinated energy drinks - a growing problem. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 99, p. 1-10, 2009.

RIDDELL, L., KEAST, R. S. Is caffeine in soft drinks really necessary? **Medical Journal of Australia**, v. 187, n. 11, p. 655, 2007.

SEIFERT, S. M. et al. Health effects of energy drinks on children, adolescents, and young adults. **Pediatrics**, v. 127, n. 3, p. 511-558, 2011.

SHELLIS, R. P. et al. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. **Caries Research**, v. 45, Suppl 1, p. 69-77, 2011.

SU, J. M.; TSAMTSOURIS, A.; LASKOU, M. Gastroesophageal reflux in children with cerebral palsy and its relationship to erosion of primary and permanent teeth. **Journal of the Massachusetts Dental Society**, v. 52, n. 2, p. 20-24, 2003.

THOMBS, D. L. et al. Event-level analyses of energy drink consumption and alcohol intoxication in bar patrons. **Addictive Behaviors**, v. 35, n. 4, p. 325-330, 2010.

USATODAY - Petition calls for FDA to regulate energy drinks. Disponível em: <http://www.usatoday.com/news/health/2008-10-21-energy-drinks_N.htm>. Acesso em: 18/06/2013.

VORONETS, J.; LUSSI, A. Thickness of softened human enamel removed by toothbrush abrasion: an in vitro study. **Clinical Oral Investigations**, v. 14, n. 3, p. 251-256, 2010.

TEN CATE, J. M.; IMFELD, T. Dental erosion, summary. **European Journal of Oral Sciences**, v. 104, n. 2, p. 241-244, 1996.

TEN CATE, J. M. et al. Interações Químicas entre o Dente e os Fluidos Oraís. In: FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie Dentária - a doença e seu tratamento clínico**. São Paulo: Santos, 2005. p. 49-69.

WIEGAND, A.; KÖWING, L.; ATTIN, T. Impact of brushing force on abrasion of acid-softened and sound enamel. **Archives of Oral Biology**, v. 52, n. 11, p. 1043-1047, 2007.

WIEGAND, A.; ATTIN, T. Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. **Occupational Medicine**, v. 57, n. 3, p. 169-176, 2007.

YOUNG, W. G. The oral medicine of tooth wear. **Australian Dental Journal**, v. 46, n. 4, p. 236-250, 2001.

YOUNG, W. G. et al. Syndromes with salivary dysfunction predispose to tooth wear: case reports of congenital dysfunction of major salivary glands, Prader-Willi, congenital rubella, and Sjögren's syndromes. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 92, n. 1, p.38-48, 2001.

ZENITHI INTERNATIONAL: Global Energy Drinks Report - Background and report description. Disponível em:
<http://www.zenithinternational.com/reports_data/146/Global%20Energy%20Drinks%20Report>. Acesso em 01/02/2014.

ZERO, D. T. Etiology of dental erosion - extrinsic factors. **European Journal of Oral Sciences**, v. 104, n. 2, p. 162-177, 1996.

ZERO, D. T.; LUSSI, A. Behavioral factors. **Monographs in Oral Science**, v. 20, p. 100-105, 2006.