

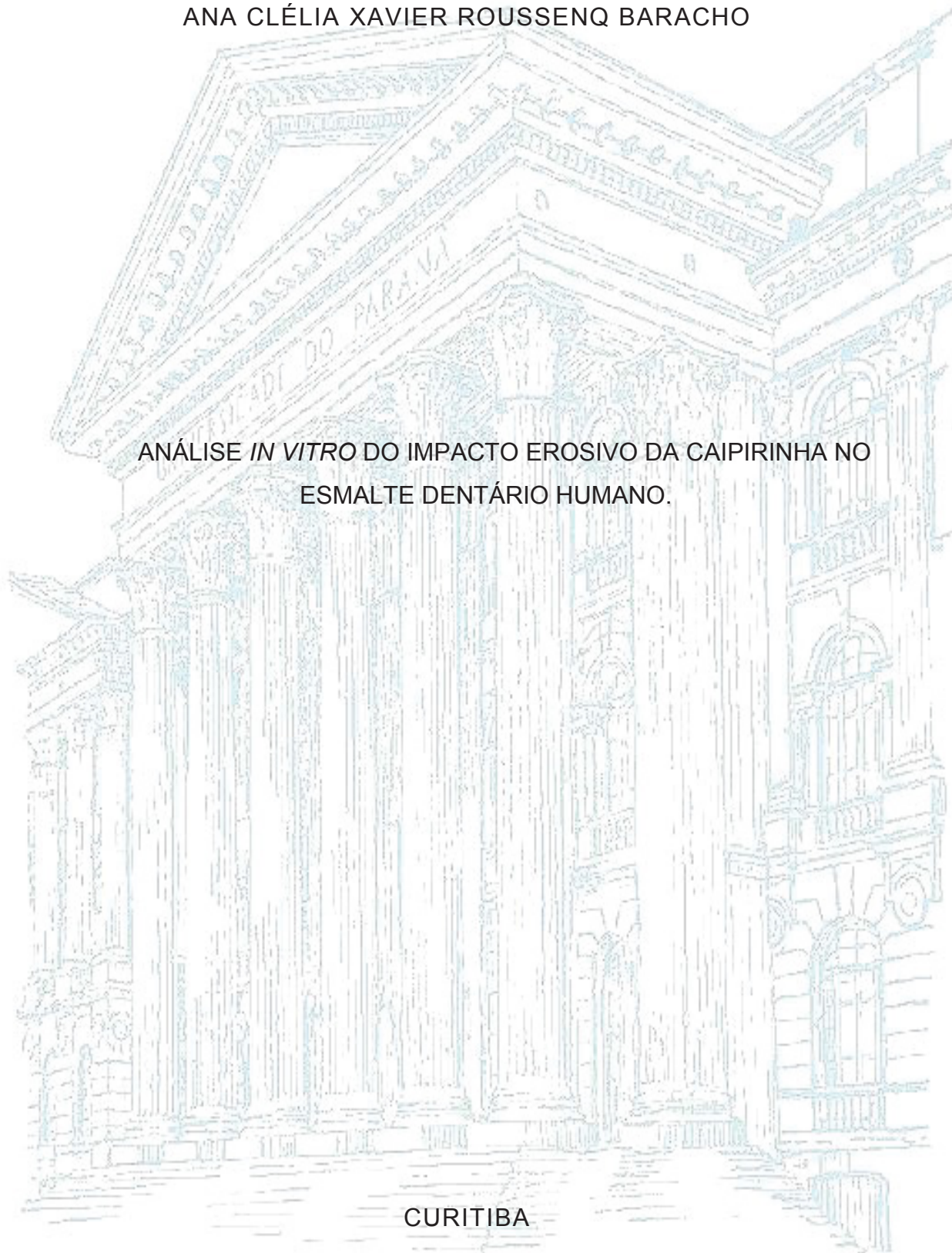
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA CLÉLIA XAVIER ROUSSENQ BARACHO

ANÁLISE *IN VITRO* DO IMPACTO EROSIVO DA CAIPIRINHA NO
ESMALTE DENTÁRIO HUMANO.

CURITIBA

2019



ANA CLÉLIA XAVIER ROUSSENQ BARACHO

ANÁLISE *IN VITRO* DO IMPACTO EROSIVO DA CAIPIRINHA NO
ESMALTE DENTÁRIO HUMANO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Ângela Naval Machado
Coorientador: Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima

CURITIBA

2019.

Roussenq, Ana Clélia

Análise *in vitro* do impacto erosivo da caipirinha no esmalte dentário humano
[recurso eletrônico] / Ana Clélia Roussenq – Curitiba, 2019.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Setor
de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná, 2019.

Orientadora: Professora Dra. Maria Ângela Naval Machado
Coorientador: Professor Dr. Antonio Adilson Soares de Lima

1. Erosão dentária. 2. Dureza do esmalte. 3. Alcoolismo. 4. Perfilometria.
I. Machado, Maria Ângela Naval. II. Lima, Antonio Adilson Soares de.
III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 617.634



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ODONTOLOGIA -
40001016065P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ANA CLELIA XAVIER ROUSSENQ BARACHO** intitulada: **ANÁLISE IN VITRO DO IMPACTO EROSIVO DA CAIPIRINHA NO ESMALTE DENTÁRIO HUMANO**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 25 de Janeiro de 2019.

MARIA ÂNGELA NAVAL MACHADO
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

RODRIGO NUNES RACHED
Avaliador Externo (PUC/PR)

ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA
Coorientador - Avaliador Interno (UFPR)

DEDICATÓRIA

“Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre me ensinaram pelo exemplo e amor; ao meu irmão, o mais generoso e amável dos irmãos; meu marido, pelo apoio e carinho; e ao meu filho, meu maior tesouro.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, pelo dom da vida.

Aos meus pais, **Celso Lucio Roussenq e Rosangela Andreatta Xavier Roussenq**, meu infinito agradecimento. Vocês são meu porto seguro. Obrigada pelo apoio, dedicação e amor incondicional! Não há palavras para expressar a gratidão que tenho por tudo que fazem por mim.

Ao meu marido, **Odulpho G. de Paiva Baracho Neto**, pelo incentivo ao meu crescimento profissional.

Ao meu filho, **Henrique Roussenq Baracho**, que veio ao mundo para iluminar os meus dias. Você me inspira e motiva a ser melhor todos os dias.

Ao meu irmão, **Leonardo Roussenq**, minha cunhada **Andréia Caldani** e minha sobrinha **Valentina Roussenq**, pelos momentos de alegria e descontração.

As minhas avós, **Aclides Maria Xavier e Margarida Roussenq**, meus exemplos de força e otimismo.

A **Ivana Froede**, pelo apoio incondicional. Amiga que vibrou comigo desde a aprovação até a finalização do curso de Mestrado. Que privilégio ter você na minha vida, pessoal e profissional.

Aos meus orientadores, **Maria Ângela Naval Machado e Antonio Adilson Soares de Lima**, sempre atenciosos e dispostos a me ensinar. Obrigada por despertar em mim o interesse científico e por todas as oportunidades oferecidas. Vocês têm um papel fundamental nessa conquista.

A **Camila Nascimento da Silva**, agradeço pela ajuda e companhia ao longo do trabalho. Tenho certeza de que o futuro reserva a você uma carreira de muito sucesso.

A **Isabella Eloy De Souza Barbaresco Damiani**, que dividiu comigo sua experiência em análises *in vitro*.

Ao **Thiago Gomes Silva**, que me apresentou um novo mundo, a Física Analítica.

Aos meus colegas de Mestrado, pelos momentos juntos. Especialmente ao **Rafael Zancan Mobile, Bruna Ramos e Andrea Wendt**, que tornaram os dias de trabalho e estudo mais leves.

Aos **professores do Programa de Pós-Graduação** em Odontologia da UFPR, pelo conhecimento técnico e científico.

À **Ana Maristela Rodacki**, que sempre me ajudou com simpatia e alegria.

A **Idalina Luz**, que me recebeu e ajudou no **Banco de Dentes da UFPR**, sempre com um sorriso no rosto.

Ao **Laboratório de Patologia Bucal**, em especial a **Bruna Cordeiro Colombo**, onde pude executar parte das mensurações.

Ao **Laboratório Multiusuário da Farmácia** por disponibilizar o espaço e equipamentos para o experimento.

Ao Professor **Thiago Cousseau** e equipe do Centro Multiusuário de Caracterização de Materiais (CMCM da UTFPR-CT), por cordialmente me receber e oferecer recursos para a realização deste trabalho. Agradeço pela ajuda e paciência.

Ao **Laboratório Multiusuário de Análises Químicas da UTFPR** (LAMAQ) pela ajuda na realização das análises químicas, principalmente a **Rubia Bottini**, pela disposição e ajuda.

MERAKI (v);

*Do grego: a ação de fazer as coisas com a alma, criatividade ou amor;
colocar parte de si naquilo que faz.*

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* o potencial erosivo das bebidas a base de cachaça no esmalte dentário humano. Oitenta espécimes de terceiros molares humanos hígidos de 4 mm x 4 mm foram aleatoriamente alocados em 4 grupos experimentais: cachaça, caipirinha artesanal; caipirinha industrializada e ácido cítrico a 0.3% (controle). Cada amostra foi coberta em sua metade por verniz ácido resistente, obtendo o lado controle e o lado experimental. Os espécimes foram imersos nas soluções por 5 minutos seguido por 2 horas de saliva artificial, 6x/dia por 10 dias, em um modelo de ciclagem de erosão-remineralização com temperatura controlada (37°C) e agitação constante (110 rpm). As amostras de esmalte dentário foram analisadas por meio de pH, microdureza de superfície Knoop, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (EDS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e microscopia confocal de perfilometria óptica de não contato. Os dados foram analisados quanto a sua normalidade e homogeneidade por Shapiro-Wilk e Levene. Os testes estatísticos utilizados foram ANOVA seguido pelo teste de Tukey e Kruskal-Wallis, considerando um nível de significância de 5%. As bebidas experimentais avaliadas têm pH ácido e todos os grupos apresentaram diferença significativa na perda de cálcio, fósforo e microdureza entre os lados controle e experimental após o desafio erosivo ($p < 0,05$). Nos 4 grupos as imagens de MEV e de perfilometria mostraram que a topografia do esmalte no lado experimental das amostras ficou mais irregular e rugosa. A análise realizada por ICP-OES apresentou aumento significativo de cálcio em todas as quatro soluções testadas ($p < 0,05$). As bebidas a base de cachaça utilizadas no estudo possuem alto potencial erosivo *in vitro* e é importante que o cirurgião-dentista conheça e oriente os pacientes quanto a frequência de consumo.

Palavras-chaves: Erosão dentária. Dureza do esmalte. Alcoolismo. Caipirinha. Cachaça. Perfilometria. ICP-OES.

ABSTRACT

The purpose of this study was to assess the hardness, mineral content, surface roughness, and micromorphology of sound and demineralized enamels, before and after exposition to alcoholic beverages using caipirinha. 80 human third molars samples (4x4 mm) were exposed to four different substances: handmade caipirinha, bottled caipirinha, cachaça and citric acid (control group). Half of each sample was covered by acid resistant varnish to divide into control and exposed sides. An erosion-remineralization cycle was used for 5 minutes, followed by a 2 hour artificial saliva exposition, 6 times a day, during 10 days. Temperature and agitation mode were constant and controlled. Microhardness, pH, x-ray spectrometry (EDS), inductively couple plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES), scanning electron micrographs (MEV) and non-contact optical profilometer were used to analyze enamel erosion. After normality and homogeneity tests Shapiro-Wilk and Levene, data were analyzed at significance level of $\alpha=0.05$ by ANOVA followed by Tukey tests and Kruskal-Wallis. All the tested beverages had low pH (<5.0). The four experimental groups showed significative difference in microhardness, calcium and phosphorus loss when compared before and after erosive challenge ($p<0.05$). Profilometry tridimensional reconstruction and micrographs showed that the exposed side of the samples were uneven and more rough than the control side. The beverages used in this study have high *in vitro* erosive potential. It is essential that the clinicians be aware of its consumption in order to orientate patients.

Key words: Dental erosion. Enamel hardness. Profilometry. Alcoholism. Caipirinha. Cachaça.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Diagrama do desafio erosivo	31
Figura 2.	Gráfico de Kruskal-Wallis para dados da análise de perfilometria.....	35
Figura 3.	Imagens da reconstrução da perfilometria	37
Figura 4.	Imagens de micrografia eletrônica de varredura	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Soluções utilizadas no estudo	61
Tabela 2.	Média do pH inicial	61
Tabela 3.	Correlação de Pearson entre pH e erosão	62
Tabela 4.	Média da microdureza antes e após o desafio erosivo.....	62
Tabela 5.	Concentração de cálcio e fósforo nos dentes (Wt%).....	63
Tabela 6.	Concentração de cálcio (mg/L) nas soluções antes e após o desafio erosivo	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EDS	Espectroscopia de raios-X por energia dispersiva
ICP-OES	Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente
MEV	Micrografia eletrônica de varredura
Ca ⁺⁺	Cálcio
P	Fósforo
DP	Desvio padrão

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	15
2.PROPOSIÇÃO.....	25
2.1. Objetivo geral.....	25
2.2. Objetivos específicos.....	25
3.ARTIGO.....	26
3.1. Página do título	26
3.2. Resumo	27
3.3. Introdução.....	28
3.4. Materiais e métodos.....	29
3.5. Resultados.....	35
3.6. Discussão.....	39
4. CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS.....	48
6. ANEXOS	54
7. TABELAS	61

1. INTRODUÇÃO

Erosão dentária é uma doença multifatorial que pode ser definida como a perda irreversível da estrutura mineral do dente sem o envolvimento de biofilme e ocasionada por agentes químicos ácidos, que podem ser decorrentes de fatores intrínsecos, como os refluxos gastresofágicos ou de fatores extrínsecos, provenientes dos ácidos da dieta ou da ingestão de medicamentos como vitamina C ou ácido acetilsalicílico. Os ácidos da dieta são o principal fator da erosão dentária de origem extrínseca (KANZOW et al., 2016; MARTINI et al., 2018), incluindo principalmente o consumo de bebidas alcoólicas, refrigerantes e frutas cítricas.

Nas últimas décadas houve um aumento no consumo de bebidas ácidas chamando a atenção dos cirurgiões dentistas para maior prevalência e incidência da erosão dentária (MILLER et al., 2001; BOWMAN, 2002; PINHEIRO et al., 2017; AGUIAR et al., 2018; MOAZZEZ 2018; BARDOLIA, 2010; PIRES et al., 2011; AL – ASHTAL et al., 2017).

Os grupos de risco para erosão dentária incluem indivíduos com distúrbios alimentares, refluxo gástrico e alcoolistas. A compreensão dos fatores de risco e protetores é um pré-requisito para aplicação de medidas preventivas voltadas a essa população (STRUZYCKA et al., 2016).

O consumo de bebidas alcoólicas apresentou um crescimento na quantidade de doses ingeridas pela população, em ambos os gêneros. Nos dias em que se costuma beber, são ingeridas cinco ou mais doses de álcool (WHO, 2016). A frequência do consumo também aumentou e existe um crescimento na precocidade do consumo regular dessas bebidas tanto no gênero masculino quanto no feminino (LARANJEIRA et al., 2014).

O Brasil está acima da média mundial em consumo de bebidas alcoólicas. Dados apontam um consumo de álcool per capita no Brasil de 8,9 litros por ano, acima da média internacional de 6,4 litros (WHO, 2016). A cachaça é a bebida destilada mais consumida no Brasil (IBRAC, 2017). Sua graduação alcoólica é alta, variando de 38% a 48%.

A caipirinha, bebida a base de cachaça, é o drink brasileiro mais popular do mundo e sua exportação é crescente ⁽⁷⁾. De acordo com o Instituto Brasileiro de Cachaça, as exportações de cachaça e caipirinha

industrializada cresceram 4,62% em valor e 7,87% em volume, em 2016, com relação a 2015. No ano de 2017, o Brasil exportou 8,38 milhões de litros de cachaça para cerca de 54 países, gerando receita de US\$ 13,94 milhões e popularizando esta bebida em mais de 16 países como Alemanha, Espanha e Portugal.

A combinação de cachaça, açúcar e limão da caipirinha eleva seu potencial erosivo tanto na versão artesanal quando industrializada. A cachaça, denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, possui alta graduação alcoólica (38% a 48%) e é a bebida mais consumida pelos alcoolistas brasileiros (¹⁶).

O dente é afetado diretamente pelo consumo de álcool, acometido principalmente pela erosão (MCCRACKEN, 2000). Existe uma associação positiva entre o consumo de álcool e a erosão dentária (HEDE, 1996). Manarte et al., 2009 relataram que alcoolistas em tratamento para desintoxicação apresentaram alta experiência de erosão. As superfícies palatinas dos dentes maxilares, as faces oclusais dos dentes posteriores e as bordas incisais dos anteriores foram os locais mais afetados. Outro estudo demonstrou extenso dano periodontal e perdas dentárias em alcoolistas severos (HORNECKER et al., 2003).

A bebida alcoólica pode causar dissolução do cálcio presente na superfície dentária para o meio bucal. O fosfato inorgânico presente na saliva aumenta com a exposição do álcool, sugerindo que a acidez do álcool pode dissolver a hidroxiapatita do esmalte dentário, liberando cálcio e fosfato inorgânico do dente para o meio líquido (KUMAR et al., 2013). As possíveis consequências da erosão dentária são: hipersensibilidade dentinária, exposição pulpar, diastemas, bordas incisais finas ou fraturadas, perda de dimensão vertical, proeminência das restaurações de amálgama, pseudomordida aberta e comprometimento estético (PEGORARO et. al, 2000).

De acordo com Ganss (2008) e Lussi (2006), a lesão inicial de erosão se apresenta como uma superfície “amolecida” e brilhante e, em estágios mais

avançados, as áreas convexas dos dentes se planificam ou então algumas concavidades se tornam presentes, sendo que a largura da lesão geralmente excede a sua profundidade. Na região cervical, principalmente por vestibular, as lesões apresentam a borda gengival intacta, muito provavelmente devido à ação neutralizadora de ácidos do fluido do sulco gengival (LUSSI et al., 2004). Nas superfícies oclusais, ocorre um arredondamento das cúspides, e as restaurações nessa região, quando presentes, se tornam elevadas em relação às estruturas dentais adjacentes. Com o progresso da lesão, a morfologia da superfície oclusal pode desaparecer por completo (GANSS 2008, LUSSI, 2006). Nas superfícies incisais ocorrem irregularidades em suas margens. No entanto, deve-se considerar que essa região também é muito vulnerável a forças de desgaste mecânico, principalmente derivadas da oclusão ou de hábitos parafuncionais como o bruxismo (GANSS, 2008).

Com a perda progressiva do esmalte e, conseqüentemente, a aproximação da região da dentina, forma-se a dentina reacional e reparadora com obliteração dos túbulos dentinários, na tentativa de compensar a perda tecidual. Todavia, quando a intensidade do desafio erosivo excede a capacidade reparativa do complexo dentina-polpa, podem ocorrer algumas complicações como a inflamação pulpar (GANSS, 2006).

Diversas técnicas estão disponíveis para a avaliação da perda de esmalte dentário resultante da erosão *in vitro*, tais como: microdureza, perfilometria, microradiografia, análises químicas, microscopias, espectroscopia de massa iônica etc. (BARBOUR et al., 2004). A microdureza é amplamente utilizada para essas mensurações uma vez que o amolecimento da superfície do dente pode ser facilmente quantificado por meio desta técnica (ATTIN, 2006).

Attin (2006) revisou os principais métodos de avaliação da erosão e, de acordo com o autor, devido ao fato da erosão dentária possuir dois padrões, a perda e o “amolecimento” dos tecidos duros dentais, a sua avaliação deve

englobar ambos os fenômenos de superfície, por exemplo, através da medição da alteração de dureza superficial e da perda de estrutura.

Barbour et al., (2004) e Rees (2004) revisaram os diferentes métodos *in vitro* de análise da erosão dental em esmalte. A primeira técnica descrita foi a microdureza de superfície. De acordo com os autores, essas técnicas são úteis para se determinar os estágios iniciais da erosão, uma vez que a dissolução do esmalte envolve o “amolecimento” da superfície devido ao enfraquecimento de sua estrutura. Em ambas as técnicas, uma ponta de diamante de dimensões conhecidas é pressionada contra a superfície teste com certa carga e por um determinado período de tempo. A perfilometria, outra técnica descrita, exige um polimento prévio dos espécimes e ao medir a perda de estrutura e não o “amolecimento”, ela é indicada para avaliar os estágios mais avançados de erosão. O perfilômetro pode ser de contato ou a laser. Na técnica de contato, uma pequena ponta de diamante (20 µm) percorre a superfície do espécime a uma velocidade de aproximadamente 10 mm/min. Para se obter a profundidade da lesão, parte da superfície é protegida com fita adesiva ou esmalte de unha e parte é deixada exposta aos agentes erosivos. Na perfilometria a laser, a ponta de diamante é substituída pelo laser e não há contato físico direto entre a sonda e a superfície de esmalte. Dessa forma, não ocorrem danos nem riscos na superfície desmineralizada.

Informações sobre a morfologia de uma amostra sólida tal como o dente pode ser realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Este recurso emite um feixe de elétrons resultando em aumento de mais de 300.000 vezes tornando-o útil para avaliação de superfícies erodidas (DEDAID et al., 2007).

O esmalte dentário possui cerca de 16 a 18% (g por 100 gramas) de fósforo e 34-39% de cálcio e de acordo com Ten Cate et al., (2003) a taxa de erosão pode ser mesurada pelo conteúdo mineral que foi dissolvido nas bebidas. A concentração desses minerais nas bebidas também se relaciona com o potencial erosivo (HANNIG et al., 2005). Para analisar a

concentração de minerais em líquidos podem ser empregadas técnicas como espectrofotometria, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e absorção atômica (BARBOUR et al., 2004; REES et al., 2007).

O potencial hidrogênico (pH) considerado crítico para a dissolução do esmalte dentário é igual ou inferior a 5,5 (SEOW et al., 2005). O potencial erosivo das bebidas alcoólicas está relacionado a diversos fatores, como o tipo e concentração de ácido presente na bebida, tempo de exposição do dente a bebida, capacidade tampão da saliva, pH e a acidez titulável (BENJAKUL et al., 2011). O pH tem sido citado como um determinante primário na dissolução do esmalte (BARBOUR et al., 2007). Barbour et al. 2003, investigaram a dissolução do esmalte humano em ácido cítrico (19,1 mmol/L) em função de diferentes concentrações de cálcio e fosfato e diferentes graus de saturação em relação a hidroxiapatita. De acordo com os autores, o entendimento do impacto desses fatores no potencial erosivo das bebidas é importante, uma vez que as concentrações de cálcio e fosfato podem não ser importantes na determinação da taxa de dissolução do esmalte quando avaliadas individualmente. Adicionalmente, esse conhecimento pode auxiliar nas modificações de bebidas ácidas com o objetivo de torná-las menos erosivas, regulando o pH.

Pesquisas foram realizadas para avaliar o potencial erosivo de bebidas alcoólicas e não alcoólicas usando distintas metodologias. Barac et al., 2015 investigaram diferentes sucos e refrigerantes que se mostraram potencialmente erosivos e com significativa relação com o pH. No estudo de Kumar et al., 2013, o whisky foi capaz de dissolver o cálcio da superfície dentária e o cálcio e fosfato inorgânico presente na saliva dos participantes aumentou. Segundo os autores, isto sugere que a acidez da bebida pode dissolver a hidroxiapatita do esmalte dentário liberando cálcio e fosfato inorgânico.

A pesquisa de Chikte et al. 2005 mostrou o efeito negativo do vinho na superfície dentária. A prevalência e a severidade da perda de superfície

dentária de enólogos foram avaliadas e comparadas a não consumidores de vinho. Nos consumidores de vinho a prevalência e severidade de erosão dentária foram maiores quando comparadas aos não consumidores.

O estudo de Lussi et al., 2012 avaliou diversas bebidas como sucos, iogurtes, espumante, cerveja, vodca e vinhos. A microdureza das amostras de dentes humanos extraídos foi avaliada antes e após o contato com as bebidas. A microdureza encontrada no grupo das bebidas alcoólicas foi diferente dos demais, pois algumas bebidas não produziram nenhuma alteração significativa na dureza das amostras.

A erosão dentária afeta a estética e a sensibilidade do dente, alterações na cor, na rugosidade e na dureza do esmalte. Essas alterações são resultado da ação de agentes químicos presentes que podem modificar propriedades físico-químicas importantes do dente, prejudicando a união aos materiais restauradores, comprometendo o sucesso clínico das restaurações (BERTOLDO et al., 2011). Smith et al., 1989 mostraram que grande parte dos alcoolistas avaliados apresentava lesões erosivas. Logo, o consumo do álcool é um fator a ser considerado e estudado no processo da erosão dentária. Existe uma lacuna no conhecimento sobre o potencial erosivo das bebidas a base de cachaça como a caipirinha. Dessa forma, o presente trabalho se propõe a avaliar *in vitro* o potencial erosivo da bebida a base de cachaça, conhecida como caipirinha, nas suas formas artesanal e industrializada, nas propriedades do esmalte dentário humano utilizando análises físico-químicas complementares para a aferição da erosão.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR AS, CATELLI R, TOLEDO LE, UBALDO L, A study of the behavior of medical students towards alcoholic patients as a result of their knowledge and self-drinking patterns. - **Rev. Bras. Educ. Med.** vol.42 no.3 Brasília jul./set. 2018
- AL-ASHTAL A, JOHANSSON A, OAR R, JOHANSSON AK, Dental erosion in children and adolescents of a private dental practice. **Int J Paediatr Dent**, v. 21, n. 6, p 451-8, 2011
- ATTIN T. Methods for assessment of dental erosion. **Monogr Oral Sci.**;20:152-72. 2006
- BARAC R, GASIC J, TRUTIC N, SUNARIC S, POPOVIC J, DJEKIC P, RADENKOVIC G, MITIC A, Erosive Effect of Different Soft Drinks on Enamel Surface in vitro: Application of Stylus Profilometry. **Med Princ Pract** 2015;24:451-457. doi: 10.1159/000433435 Disponível em : <https://www.karger.com/Article/FullText/433435> Acesso em Dezembro de 2018
- BARBOUR ME, REES SJ. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. **J Dent**, England, v. 32, p.591-602. 2004
- BARBOUR, M E.; SHELLIS, R. P. An investigation using atomic force microscopy nanoindentation of dental enamel demineralization as a function of undissociated acid concentration and differential buffer capacity. **Phys Med Biol**, England, v. 52, p. 899-910. 2007
- BARDOLIA P, BURNSIDE G, ASHCROFT A, MOLOSEVIC A, GOODFELLOW SA, ROLFE EA, PINE CM. Prevalence and risk indicators of erosion in thirteen to fourteen-year-olds on the Isle of Man. **Caries Res**. V. 44, n.2, 165-8, 2010
- BENJAKUL, P.; CHUENARROM, C. Association of dental enamel loss with the pH and titratable acidity of beverages. **J Dent Sci**, Netherlands, v. 6, p. 129-133. 2011
- BERTOLDO, C.E.S. et al. Surface hardness and color change of dental enamel exposed to cigarette smoke. **In J Dent Clin**, v. 3, n.4, p. 1-4, 2011.
- BOWMAN SA. Beverage choices of young females: changes and impact on nutrient intakes. **J Am Diet Assoc**. 2002;102(9):1234-9.
- CENTRO DE INFORMAÇÕES SOBRE SAÚDE E ÁLCOOL (CISA). A associação entre o uso de álcool e tabaco entre universitários. Disponível

em: <http://www.cisa.org.br/artigo/383/-associacao-entre-uso-alcool-tabaco-entre.php> Acesso em Agosto de 2017

CHIKTE, UM, NAIDOO TJ, GROBLER, SR, Patterns of tooth surface loss among winemakers, **SADJ**. 60 (2005)370-374

DEDAID BA, GOMES, CI, MACHADO, G Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Porto Alegre, **EDIPUCRS** 2007.

GANSS C. Definition of Erosion and Links to Tooth Wear. **Monogr Oral Sci**. 2006;20:9- 16.

GANSS C. How valid are current diagnostic criteria for dental erosion? **Clin Oral Investig**. 2008;12(Suppl 1):S41-9.

HANNING C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. **Arch Oral Biol**. 2005;50 (6):541-52.

HEDE, B Determinantes of oral health in a group of Danish alcoholics, **Eur J Oral Sci**. 104 (1996) 403-408

HORNECKER E, EHRENREICH H, MUUSS T, MAUSBERG RF, Oral condition of abstaining alcoholics. A case-control study. **Eur PMC V**. 113, n. 12, : 1281-88, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA (IBRAC) IBRAC celebra crescimento das exportações de cachaça em 2016. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/noticias/cachaca-na-midia/509-ibrac-celebra-crescimento-das-exportacoes-de-cachaca-em-2016>> Acesso em: Agosto de 2017.

KANZOW P, WEGEHAUPT FJ, ATTIN T, WIEGAND A, Etiology and pathogenesis of dental erosion. **Quintessence Int** 47 (2016), n°4, p 275-278

KUMAR, S.; TADAKAMADLA, J.; TIBDEWAL, H.; DURAISWAMY, P.; KULKARNI, S. A pilot study into the effect of whisky, wine and beer consumption on tooth surface dissolution. **OHDM**, United States, v. 12, p. 151-154, Sept, 2013.

LARANJEIRAS, R. et al. II Levantamento Nacional de Álcool e drogas (LENAD) - 2012. São Paulo: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Políticas Públicas de Álcool e Outras Drogas (INPAD), UNIFESP 2014. Disponível em: <<http://inpad.org.br/wp->

[content/uploads/2014/03/Lenad-II-Relat%C3%B3rio.pdf](#)> Acesso em: Agosto de 2017.

LUSSI A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. **Caries Res.** 2004;38 (Suppl 1):34-44.

LUSSI A. Erosive tooth wear - a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. **Monogr Oral Sci.** 2006;20:1-8.

LUSSI, A.; MEGERT, B. ;SHELLIS, R. P. ; WANG, X. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. **Br J Nutr,** England, v. 107, p. 252-262. 2012.

MANARTE, P.; MANSO, M. C.; SOUZA, D.; FRIAS-BULHOSA, J.; GAGO, S. Dental erosion in alcoholic patients under addiction rehabilitation therapy. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal,** Spain, v. 14, n. 8, p. 377-384, Aug 2009.

MARTINI T, RIOS D, CASSIANO LPS, SILVA CMS, TAIRA EA, VENTURA TMS, PEREIRA HABS, MAGALHÃES AC, CARVALHO TS, BAUMANN T, LUSSI A, OLIVEIRA RB, PALMA-DIBB RG, BUZALAF MAR. Proteomics of acquired pellicle in gastroesophageal reflux disease patients with or without erosive tooth wear. **J Dent.** 2018 Dec 21.

McCRAKEN M., O'NEAL S J, Dental erosion and aspirin headache powders. A clinical repor. **J Prosthodont,** 2000, v.9 p.:95-8

MILLER GD, JARVIS JK, McBEAN LD. The importance of meeting calcium needs with foods. **J Am Coll Nutr.** 2001;20(Suppl):168S-185S.

MOAZZEZ R, AUSTIN R Medical conditions and erosive toothwear. **Br Dent J** 224:326-331, 2018.

PEGORARO CN, SAKAMOTO FF, DOMINGUES LA. Perimólise: Etiologia, Diagnóstico e Prevenção. **Rev APCD** 2000; v.54, p.156-161.

PINHEIRO MA, TORRES LF, BEZERRA MS, CAVALCANTE RC, ALENCAR RD, DONTATO AC , Prevalência e fatores associados ao consumo de álcool e tabaco entre estudantes de medicina no nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Educ. Med.** 41(2): 231-239, 2017

PIRES, CORREA NAHAS et al., Prevalence and associated factors of dental erosion in children and adolescents of a private dental practice. **Int J Paediatr Dent,** 2011; Nov; v.21, n.6, p. 451-8.

REES, J.; LOYN, T.; CHADWICK, B. Pronamel and tooth mousse: An initial assessment on erosion prevention in vitro. **Journal of Dentistry**, v. 35, p. 355–357, 2007.

SEOW, W. K.; THONG, K. M. Erosive effects of common beverages on extracted premolar teeth. **Aust Dent J**, 2005 Sept; v.50, n.3, p. 173-178.

SMITH BGN, ROBB ND Dental erosion in patients with chronic alcoholism *J Dent England*, v. 17, p 219-221 1989

STRUZYCKA I, RUSYAN E, BOGUSLAWSKA-KAPALA A. Tooth erosion - a multidisciplinary approach. **Pol Med J**, 2016 Feb; v. 40, n.236, p. 79-83.

TEN CATE JM, IMFELD T. Dental erosion, summary. **Eur J Oral Sci**. 1996;104(2):241-4.

WHO - World Health Statistics 2016: Monitoring health for the SDGs. Printed in Luxembourg. 2016. Disponível em: <http://www.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763eng.pdf> Acesso em Outubro, 2018.

2. PROPOSIÇÃO

2.1. Objetivo geral

Avaliar *in vitro* o potencial erosivo das bebidas a base de cachaça (cachaça, caipirinha artesanal e caipirinha industrializada) nas propriedades mecânicas, morfológicas e químicas da superfície do esmalte em dentes humanos hígidos expostos à caipirinha.

A hipótese nula testada neste estudo é a de que o desafio erosivo *in vitro* com caipirinha não causa alterações físico-químicas no esmalte dentário humano.

2.2. Objetivos específicos

1. Avaliar a microdureza do esmalte dentário humano submetido a desafio erosivo com cachaça, caipirinha artesanal e industrializada por meio de Microdurômetro de Knoop.
2. Analisar a topografia superficial do esmalte antes e após a exposição às bebidas testadas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).
3. Quantificar os minerais da superfície do esmalte por meio de espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (EDS).
4. Quantificar os minerais das soluções testadas por meio de espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES).
5. Demonstrar a erosão causada no esmalte dentário exposto às bebidas testadas por meio de microscopia confocal de perfilometria óptica de não contato com reconstrução da estrutura anatômica do esmalte em três dimensões.

3. ARTIGO (Guidelines obtidas na revista American Journal of Dentistry)

TÍTULO: Impacto erosivo da caipirinha no esmalte dentário humano. Estudo *in vitro*.

Ana Clélia Roussenq DDS¹, MS

Rafael Zancan Mobile DDS¹, MS

Camila Nascimento da Silva¹

Antonio Adilson Soares de Lima, DDS, MS, PhD¹

Maria Ângela Naval Machado, DDS, MS, PhD¹

¹ Departamento de Estomatologia da Universidade Federal do Paraná – UFPR.

Autor para correspondência:

Maria Ângela Naval Machado

Departamento de Estomatologia da UFPR

Rua Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim botânico

81210-170 Curitiba/PR Brasil

Telefone: +55 41 3360-4035 Fax: +55 41 33604134

E-mail: man.machado@ufpr.br

Disclosure statement:

"All manuscript's copyright ownership is transferred from the author(s) of the article (title of article), to the American Journal of Dentistry in the event the work is published. The manuscript has not been published in any form or any language and is only submitted to the American Journal of Dentistry".

3.1 RESUMO

Objetivo: Avaliar *in vitro* o potencial erosivo das bebidas a base de cachaça no esmalte dentário humano.

Métodos: 80 espécimes de terceiros molares humanos hígidos de 4 mm x 4 mm foram aleatoriamente alocados em 4 grupos experimentais: cachaça, caipirinha artesanal; caipirinha industrializada e ácido cítrico a 0.3% (controle positivo). Cada amostra foi coberta em sua metade por verniz ácido resistente, obtendo o lado controle e o lado experimental. Os espécimes foram imersos nas soluções por 5 minutos seguido por 2 horas de saliva artificial, 6x/dia por 10 dias, em um modelo de ciclagem de erosão-rem mineralização com temperatura controlada (37°C) e agitação constante (110 rpm). As amostras de esmalte dentário foram analisadas por meio de pH, microdureza de superfície Knoop, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (EDS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e microscopia confocal de perfilometria óptica de não contato. Os dados foram analisados quanto a sua normalidade e homogeneidade por Shapiro-Wilk e Levene. Os testes estatísticos utilizados foram ANOVA seguido pelo teste de Tukey e Kruskal-Wallis, considerando um nível de significância de 5%.

Resultados: As bebidas experimentais avaliadas têm pH ácido e todos os grupos apresentaram diferença estatística significativa na perda de cálcio, fósforo e na microdureza entre os lados controle e experimental após o desafio erosivo ($p < 0.05$). As imagens de MEV e de perfilometria mostraram que a topografia do esmalte no lado experimental das amostras ficou mais irregular e rugosa em todos os grupos. As soluções analisadas via ICP-OES apresentaram aumento significativo de cálcio nos grupos testados ($p < 0.05$).

Relevância clínica: Este estudo é pioneiro ao demonstrar que bebidas a base de cachaça como a caipirinha têm alto potencial erosivo *in vitro*. O esmalte dentário humano apresentou perda de microdureza e dos minerais Ca^{++} e P após o desafio erosivo.

Palavras-chaves: erosão dentária, dureza do esmalte, alcoolismo, caipirinha, cachaça, perfilometria, ICP-OES.

3.2 INTRODUÇÃO

Erosão dentária é uma doença multifatorial que pode ser definida como a perda irreversível da estrutura dental sem o envolvimento de biofilme [1]. É ocasionada por agentes químicos ácidos, que podem ser decorrentes de fatores intrínsecos ou extrínsecos. Os ácidos da dieta são o principal fator da erosão dental de origem extrínseca e incluem as bebidas alcoólicas, refrigerantes e suco de frutas cítricas [2,3,4].

O consumo de álcool é um fator que deve ser considerado no processo da erosão, pois a literatura demonstra que alcoolistas apresentam maior prevalência de lesões erosivas [5,6,7,8].

O potencial erosivo das bebidas alcoólicas está relacionado a diversos fatores. Existem aspectos químicos importantes que modulam o impacto erosivo nos dentes, como o pH [9], o pKa [9] o tipo de ácido [9], a capacidade tampão [10], as propriedades quelantes [3] e as concentrações de cálcio, fosfato e flúor [11]. Alterações específicas destes parâmetros podem levar a uma redução ou aumento do potencial erosivo.

A erosão dentária afeta a estética do sorriso e causa sensibilidade, promovendo alterações de cor, rugosidade superficial e da dureza do esmalte e da dentina. Essas alterações são resultado da ação de agentes químicos, que podem modificar as propriedades físico-químicas do dente e prejudicar a união aos materiais restauradores, comprometendo o sucesso clínico das restaurações [5].

A cachaça é a bebida destilada mais consumida no Brasil. É derivada da cana de açúcar, tem graduação alcóolica entre 38 a 48% e pH ácido. Nos últimos anos as exportações da cachaça cresceram, popularizando a

bebida em outros países como Alemanha, Espanha e Portugal [6]. A caipirinha, composta por cachaça, limão e açúcar, é o drink mais conhecido e exportado do Brasil. Devido à acidez do limão e do álcool da cachaça a caipirinha pode apresentar alto potencial erosivo.

Embora as bebidas a base de cachaça sejam populares internacionalmente, não há na literatura estudos que avaliam o potencial erosivo dessas bebidas sobre os dentes. Há a necessidade de esclarecimentos acerca dos efeitos das bebidas alcoólicas a base de cachaça sobre os tecidos duros dentários para que não continuem sendo consumidas sem conhecimento do seu potencial erosivo.

A hipótese nula testada neste estudo é a de que o desafio erosivo *in vitro* com caipirinha não causa alterações físico-químicas no esmalte dentário humano.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná (UFPR) parecer n° 2.361.993 (Anexo 1).

Terceiros molares com indicação de exodontia foram obtidos do Banco de Dentes da UFPR. A doação dos dentes foi autorizada e formalizada mediante assinatura do termo de doação (Anexo 2).

Oitenta dentes permanentes foram utilizados neste estudo. Foram incluídos no trabalho dentes hígidos extraídos quando totalmente inclusos. Foram excluídos os dentes que apresentavam hipoplasia e hipomineralização de esmalte ou marcas de broca odontológica.

Cálculo amostral foi realizado para cada uma das análises (Statulator online) com poder de teste de 85%.

Preparo das amostras:

Os dentes foram seccionados utilizando cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lalke Bluff, IL, USA), gerando fragmentos de 4 mm x 4 mm x 4 mm com uma das faces completamente formada por no mínimo 2,5 mm de esmalte, obrigatoriamente. Cada fragmento foi embutido individualmente em corpo de prova com resina de poliéster cristal quimicamente polimerizável (Redelease, São Paulo, Brasil).

A face com esmalte dentário ficou exposta e teve sua superfície regularizada por uma sequência de lixas d'água com granulação decrescente (400, 600, 1200 e 1500) sob refrigeração de água corrente em uma politriz (Arotec, Aropol, São Paulo, SP, Brasil).

Cada fragmento dentário teve parte da sua área coberta por verniz ácido resistente (Revlon, NY, EUA) deixando metade da face de esmalte exposta ao desafio erosivo (lado experimental) e metade protegida (lado controle).

Experimento *in vitro*:

Oitenta amostras foram confeccionadas e alocadas aleatoriamente em 4 grupos: caipirinha artesanal, caipirinha industrializada, cachaça (aguardente 51) e ácido cítrico 0,3% (controle). A saliva artificial foi utilizada para o processo de remineralização durante o desafio erosivo (Tabela 1).

O modelo dinâmico de ciclagem de pH e temperatura foi escolhido por simular *in vitro* o desenvolvimento da erosão dentária em situações de alto consumo de bebida alcoólica [18,19,21,22,23]. Foi utilizada uma sequência de desafio erosivo [18], conforme ilustrado pelo diagrama (Figura 1). Todas as amostras foram submetidas ao desafio erosivo simultaneamente.

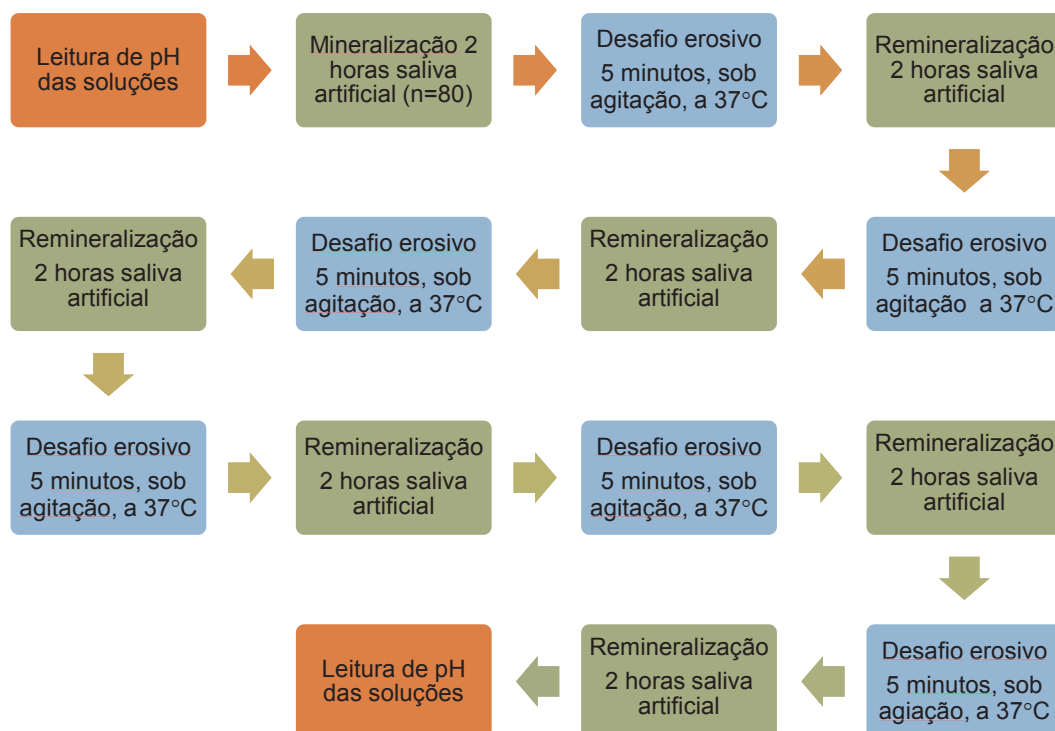


Figura1: Diagrama de ciclo erosivo diário que foi repetido durante 10 dias.

Método das Análises :

Para a realização das análises, o verniz de proteção do lado controle foi removido com o uso de acetona pura (Dinâmica, Brasil).

a) pH

Foi realizada a mensuração do pH dos 4 grupos (cachaça, caipirinha artesanal, caipirinha industrializada e ácido cítrico) e da saliva artificial com peagâmetro digital de alta precisão previamente calibrado (KR20, AKROM®, São Leopoldo, RS, Brasil) antes e após cada ciclo erosivo (Figura 1). Os valores medidos não demonstraram diferença estatística entre si, por isso foi utilizado o valor médio de todas as medições diárias de pH ao longo dos 10 dias de experimento (Tabela 2).

b) Microdureza (n=15)

Foi utilizado um microdurômetro (BUEHLER – Micronet 5104) após calibração e análise de concordância intra-avaliador. O coeficiente de correlação intra-classe (CCI) para a média das microdurezas (números Knoop), foi de 0,96, correlação muito forte, considerando o nível de significância de 5%. Utilizou-se um penetrador de diamante piramidal tipo Knoop, com carga de 50g aplicada por 5 segundos no lado experimental das amostras. Em cada espécime foram realizadas 3 indentações com distância de 100 μ m entre elas antes da exposição às soluções experimentais. A média das indentações (número Knoop) iniciais foi calculada e os espécimes com valores similares de microdureza (média \pm um desvio padrão) foram selecionados.

Após o desafio erosivo foi realizada a mensuração da microdureza superficial final do esmalte nos mesmos parâmetros da microdureza inicial. A diferença percentual entre as médias de microdureza inicial e final do esmalte foi avaliada representando a diferença de microdureza das amostras.

c) Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) (n=15)

Os fragmentos dentários foram retirados da resina acrílica com o uso de discos diamantados (American Burrs, Brasil), fixados em *stubs* de alumínio e mantidos por 48 h em máquina a vácuo (EM-DSC20 Vacuum Evaporator, JEOL, Akishima, Japão) para secagem e remoção de resíduos de acetona.

Para imagem de detalhamento da microestrutura e da morfologia do esmalte, as amostras foram avaliadas utilizando um microscópio com um potencial de 15 kV e corrente de 75 μ A (EVO MA 15, ZEISS, Alemanha). Para a aquisição das imagens por elétrons secundários (SE) foi realizada a metalização das amostras com ouro, por meio da técnica de *sputtering* (Balzers SCD 30, Bal-tecrmc, Tucson, AZ, USA), com posterior obtenção de micrografias com uma magnificação de 300 vezes. As imagens de micrografias servem como ferramenta de suporte para a demonstração da erosão.

A técnica de EDS se caracteriza como um acessório essencial no estudo da caracterização microscópica de materiais e permite o mapeamento da distribuição de elementos químicos por minerais. Com o objetivo de analisar a constituição química elementar das amostras, foi utilizado o espectrômetro de energia dispersiva de raios X (Oxford Instruments, Abingdon, Inglaterra) acoplado ao MEV com um potencial de 20 kV e magnificação de 300x. A análise dos dados obtidos foi realizada pelo programa AZtec 3.1 (Oxford Instruments, Abingdon, Inglaterra). Foram realizadas aferições nos dois lados das amostras com captação espontânea de todos os minerais (Wt%).

Análises estatísticas foram realizadas para comparar a quantidade percentual de cálcio e fósforo (Wt%) no lado controle e no lado experimental das amostras e a diferença entre os grupos.

d) Perfilometria óptica de não contato (n=5).

A análise perfilométrica foi realizada por meio de microscopia confocal a laser (OLYMPUS FV 1200, Japão) com fluorescência nos parâmetros: três lasers de comprimentos de onda de 405 nm, 543 nm e 635 nm, fontes de luz ultravioleta e de luz branca.

A área amostral total foi digitalizada com um scanner e analisada para a reconstrução tridimensional do perfil das amostras. A diferença de altura entre o lado controle e experimental gerada pela erosão foi medida em nanômetros por meio de software específico (Talymap Platinum). Essa diferença de altura foi analisada estatisticamente para avaliar a variação entre os grupos.

e) Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) (n=3)

O equipamento ICP-OES (Perkin Elmer, Optima Serie 8300) calibrado foi utilizado para análise das soluções amostrais. A caipirinha artesanal, caipirinha industrializada, cachaça e ácido cítrico foram analisados antes e após o desafio

erosivo para avaliar a quantidade de cálcio liberado pelo dente por meio da erosão. As amostras foram diluídas em 10 vezes em água deionizada com resistividade de 18 MΩ cm obtida por sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

A concentração de cálcio (mg/L) medida antes e após o desafio erosivo foi analisada em triplicata e comparada entre os grupos.

3.4 Análise estatística:

A análise estatística foi realizada por meio do software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS versão 13.0, IBM Inc., Chicago, IL, EUA). A normalidade e a homogeneidade das variáveis foram verificadas por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Foi utilizado nível de significância de 5%.

Para a comparação da perda de microdureza (%) entre os grupos após o desafio erosivo foi utilizado o teste de ANOVA one way seguido de Tukey HSD.

Os dados da diferença de altura entre lado controle e lado experimental obtidos pela perfilometria foram analisados pelo teste de Kruskal- Wallis.

O teste ANOVA two way foi aplicado a fim de comparar a diferença entre a concentração de cálcio e fósforo entre os lados controle e experimental detectadas pelo EDS. A mesma análise de variância foi utilizada para comparar a concentração de cálcio das soluções empregadas antes e após o desafio erosivo detectadas por ICP-OES.

Foi realizado teste de correlação de Pearson entre o pH médio das soluções e erosão dentária nas 5 análises realizadas.

3.5. Resultados

Microdureza:

No lado experimental das amostras houve diferença estatística ($p < 0.05$) entre a microdureza inicial e final analisadas em todos os grupos (Tabela 4).

A maior diferença de microdureza ocorreu no grupo da ácido cítrico que teve sua microdureza reduzida em 40.75%, seguida pelo grupo da caipirinha artesanal (37.94%) e caipirinha industrializada (37.59%). O grupo exposto a cachaça perdeu 10.79% de sua dureza inicial (Figura 3).

Não houve diferença estatística entre a perda de microdureza dos grupos da caipirinha artesanal, industrializada e ácido cítrico ($p > 0.05$). Houve diferença estatística entre esses grupos em relação a cachaça ($p < 0.05$).

Perfilometria

Houve diferença estatisticamente significativa entre a altura do lado experimental das amostras em relação ao lado controle em todos os grupos ($p < 0,05$) indicando alto impacto erosivo. Houve diferença estatística entre o resultado da cachaça e demais grupos assim como da caipirinha industrializada e demais grupos ($p > 0,05$). Não houve diferença estatística entre os grupos caipirinha artesanal e ácido cítrico ($p < 0,05$).

Além disso, foi observado aumento de rugosidade no lado experimental nas imagens de reconstrução tridimensional (Figura 3).

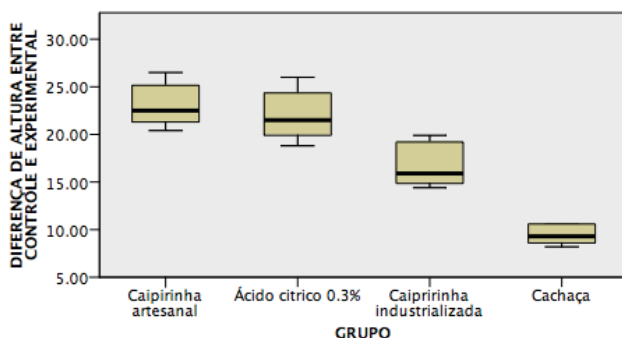


Figura 2: Gráfico das médias de desnível entre lado controle e lado experimental nos 4 grupos experimentais.

ICP-OES

Em todas as soluções houve aumento na quantidade de Cálcio ($p < 0,05$) (Tabela 6). Mais uma vez não houve diferença entre os resultados para caipirinha artesanal e ácido cítrico.

EDS

Os resultados captados por EDS corroboram com os demais achados deste estudo. Houve diferença estatística significativa entre os lados controle e experimental para todos os grupos ($p < 0,05$) e não houve diferença significativa entre os grupos da caipirinha artesanal e ácido cítrico. As soluções cachaça e caipirinha industrializada tiveram resultados diferentes entre si e dos demais grupos (Tabela 7).

MEV

Nas imagens de MEV, assim como na reconstrução por perfilometria, foi possível observar a diferença de rugosidade entre os lados controle e experimental das amostras e também a diferença entre os grupos (Figura 3).

pH:

O teste de correlação Pearson mostrou que quanto mais baixo o pH, maior a erosão causada aos fragmentos de esmalte analisados por meio de microdureza e EDS em uma correlação forte ($1 > r < 0,7$). Para a diferença de altura entre os lados controle e experimental detectada pela perfilometria foi encontrada correlação negativa muito forte ($0,7 > r < 1$). Para o aumento de cálcio analisado via ICP-OES a correlação foi negativa e forte, ou seja, quanto mais baixo o pH da solução maior o aumento de cálcio encontrado.

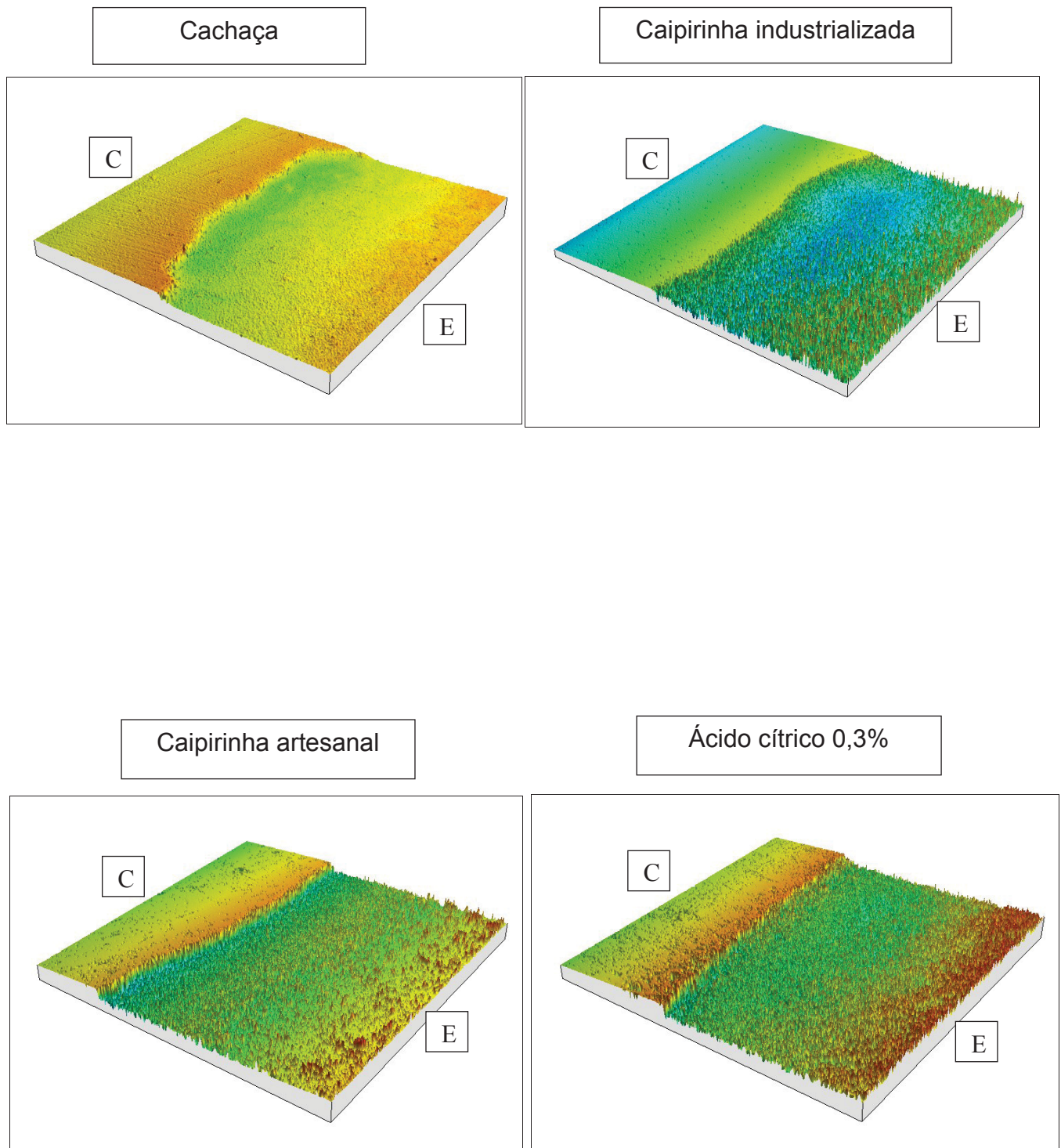
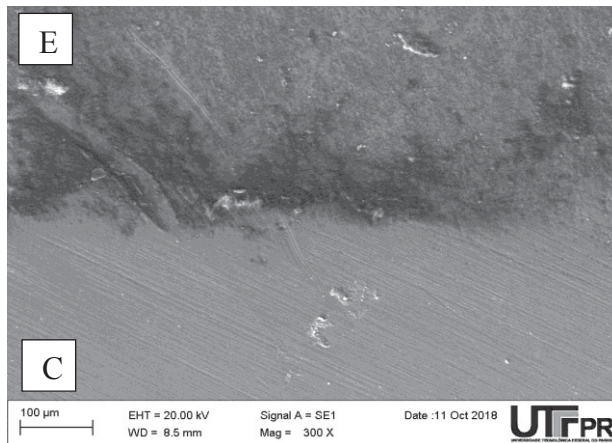
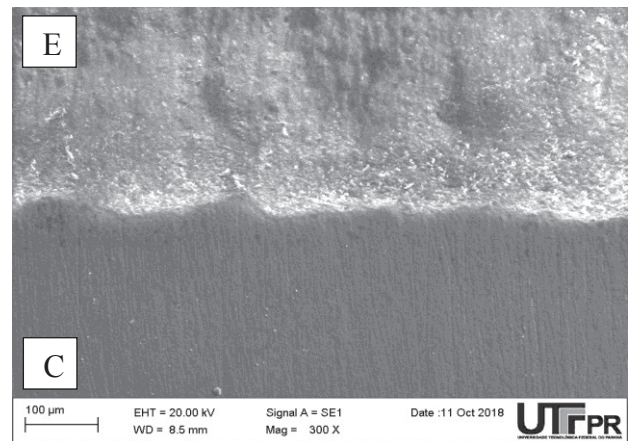


FIGURA 3: Imagens de análise de perfilometria óptica de não contato dos grupos testados (C= lado controle , E = lado experimental).

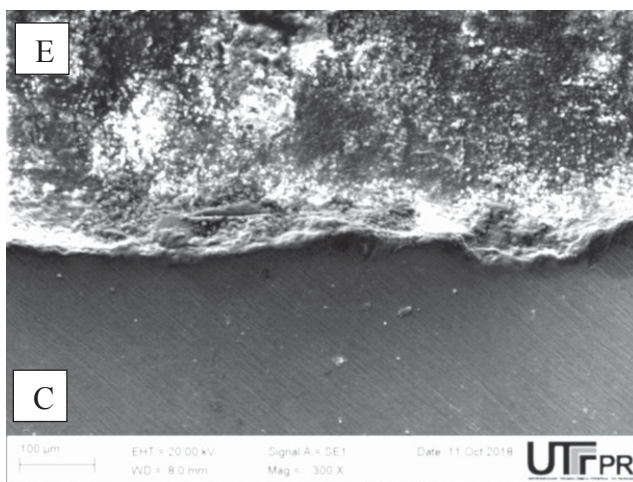
Cachaça



Caipirinha industrializada



Caipirinha artesanal



Ácido cítrico 0,3%

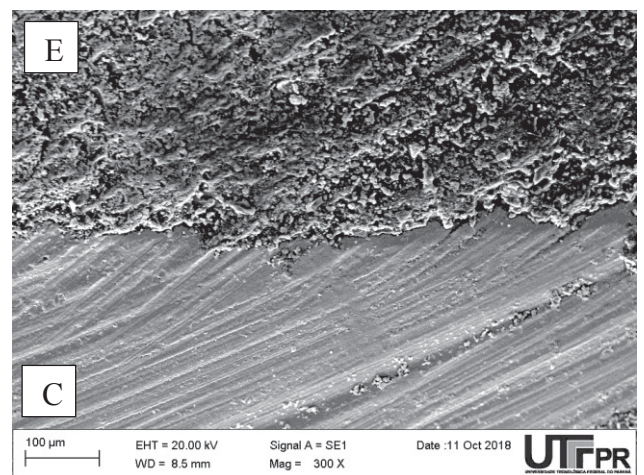


FIGURA 4: Micrografias eletrônicas de varredura dos grupos testados (C= lado controle, E = lado experimental).

Este estudo realizou análises físicas e químicas complementares para avaliar o potencial erosivo de bebidas a base de cachaça no esmalte dentário humano, comparando com ácido cítrico (controle para a erosão). O estudo inova ao utilizar a caipirinha na sua forma artesanal e industrializada além de avaliar a cachaça pura, pois até o presente momento não foram encontrados estudos sobre erosão com essa bebida.

A hipótese nula testada de que o desafio erosivo *in vitro* com caipirinha não causa alterações físico-químicas no esmalte dentário humano foi rejeitada.

A dureza superficial final, após exposição às bebidas alcoólicas testadas, apresentou valores mais baixos em relação à inicial para todos os grupos. De acordo com alguns autores [17], a análise de dureza, por avaliar o amolecimento da superfície, é um método adequado para se observar os estágios iniciais de erosão. Enquanto a perfilometria é a análise ideal para avaliar com precisão a quantidade de tecido dentário erodido pela mensuração da rugosidade, sendo mais adequada para estágios mais avançados [18,19]. Em estudo anterior que avaliou a erosão causada por refrigerantes, sucos, cervejas e “alcopops” [20] foi demonstrada a perda de esmalte por meio de análise perfilométrica óptica. No presente estudo, as análises de microdureza de Knoop e perfilometria foram realizadas de forma complementar e constatou-se perda de dureza superficial do esmalte após o desafio erosivo pelo primeiro método e perda de altura no lado experimental pelo segundo.

A capacidade erosiva das bebidas alcoólicas está associada ao seu pH [21,22] e a sua mensuração é um parâmetro importante para determinar este potencial [23]. Em concordância com estudos prévios [23,24,25], as bebidas alcoólicas cachaça, caipirinha artesanal e caipirinha industrializada testadas nesta pesquisa apresentaram pH baixo ($\text{pH} < 5,0$ para todos os grupos). Os valores de pH mais baixos registrados neste estudo foram do grupo do ácido cítrico (2,71) e da caipirinha artesanal (2,73), e não houve diferença estatística entre os resultados dos dois grupos.

A concentração de fósforo e cálcio das amostras foi mensurada para avaliar a perda do esmalte dentário nos diferentes grupos de exposição. Estudos anteriores investigaram o potencial erosivo de bebidas por meio da quantificação destes minerais [26]. A concentração destes elementos tende a aumentar nos líquidos após o experimento devido à dissolução da hidroxiapatita e diminuir na superfície dentária [27]. Na análise por EDS houve redução na concentração de cálcio e fósforo da superfície experimental em todos os grupos. E, na análise por ICP-OES a concentração do cálcio aumentou significativamente nos 4 grupos testados após o desafio erosivo. Outros pesquisadores [28] analisaram soluções de extratos de frutas ácidas utilizando a ICP-OES e observaram que os dentes podem sofrer uma perda significativa de metais como cálcio para o meio líquido por meio da erosão do esmalte.

No processo químico da erosão, há perda de cálcio e fósforo do esmalte dentário levando a alterações na sua topografia e morfologia. A MEV é uma técnica apropriada para a avaliação topográfica e morfológica da erosão [18,36]. É possível encontrar na literatura trabalhos que demonstraram por meio de MEV que bebidas como refrigerantes, sucos, vinho, vodka e whisky foram capazes de modificar a superfície de materiais dentários e do esmalte [3,22,23,29]. Além das imagens da MEV, este estudo fez uma reconstrução tridimensional da topografia de algumas amostras (n=5) por meio de um software específico conectado ao microscópio de perfilometria óptica (Talymap Platinum, USZ). Corroborando as observações deste estudo, outros autores já mostraram que é possível notar modificações morfológicas na estrutura do esmalte erodido [37] e a avaliação tridimensional superficial apontou visualmente uma superfície de esmalte mais áspera e irregular. A diferença de altura do esmalte entre os lados controle e experimental foi estatisticamente significativa neste estudo. Além disso foi possível notar uma irregularidade maior nos lados experimentais das amostras quando comparados com seus respectivos lados controles.

A principal bebida alcoólica investigada neste estudo foi a cachaça. Os resultados deste grupo experimental não puderam ser comparados com bebidas do mesmo tipo, pois até o presente momento e nas bases de dados consultadas, não foram encontrados estudos de erosão envolvendo a cachaça. No presente estudo, o grupo da cachaça foi capaz de reduzir significativamente a microdureza do esmalte, concentração de Ca^{++} e P. Além disso, quando associada ao limão, tanto na forma artesanal quanto industrializada teve impacto erosivo ainda mais alto.

O modelo de erosão utilizado neste estudo permitiu a observação de ciclos erosivos por um período de 10 dias. O ciclo de desmineralização-rem mineralização selecionado baseou-se em estudos anteriores [12] que avaliaram o processo de erosão *in vitro*. Os parâmetros de agitação constante (110 rpm), temperatura (37°C), tempo de desmineralização e remineralização, uso da mesma fórmula de saliva artificial (0.213 g/l de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0.738 g/l de KH_2PO_4 ; 1.114 g/l de KCl; 0.381 g/l de NaCl; 12 g/l tampão Tris; 2.2 Mucina) [12,13] e grupo controle (ácido cítrico a 0.3%) foram reproduzidos [13,15].

O ácido cítrico é um ácido usado como conservante natural e confere sabor ácido e refrescante em alimentos e bebidas. Foi utilizado como controle para a erosão neste estudo por estar presente na maioria das frutas, sobretudo nas cítricas como o limão. O limão contém cerca de 6% de ácido cítrico, em qualquer uma de suas variedades siciliano ou Tahiti [31]. Este ácido é utilizado como parâmetro para erosão em vários estudos [12,13,14,15,16,20] tanto para avaliar o processo erosivo quanto como parâmetro de erosão para agentes químicos que atuam como protetores contra a perda mineral.

A exposição à saliva é fator importante para proteção dentária e tem se mostrado eficaz na remineralização do esmalte erodido [30]. A saliva forma uma película adquirida sobre a superfície do esmalte, aumentando a deposição de cálcio e fosfato e dificultando a difusão de ácidos sobre a superfície

mineralizada [34,35]. A saliva artificial é comumente utilizada nos experimentos *in vitro* para promover a proteção da superfície dentária antes do desafio erosivo, visando mimetizar a película adquirida salivar. A formulação de saliva artificial utilizada neste estudo (Tabela 1) simula a mucina da saliva e contém níveis comparáveis de componentes inorgânicos [30]. O pH médio da saliva artificial utilizada foi similar ao da saliva humana [30] (Tabela 2) para que o processo de ciclagem de acidez e pH do desafio erosivo ficasse semelhante ao da saliva humana.

O processo erosivo do esmalte dentário depende diretamente da dieta do indivíduo. Uma dieta que inclui alimentos ricos em cálcio pode reduzir a perda mineral do tecido dentário [23,33]. O presente estudo analisou o impacto erosivo de bebidas alcoólicas sem a considerar a influência da dieta e por isso pode não reproduzir precisamente o que ocorreria *in vivo*.

Devido ao caráter *in vitro* do experimento não é possível afirmar que estes resultados se reproduzam clinicamente para todos os indivíduos. Desta forma, do ponto de vista clínico, os indivíduos que consomem frequentemente bebidas a base de cachaça, nas suas diversas formulações (cachaça pura, caipirinha artesanal ou caipirinha industrializada) podem ter um maior risco a erosão. É importante que o cirurgião-dentista conheça o potencial erosivo das bebidas a base de cachaça para que possam ser aplicadas práticas de orientação e prevenção. Além disso, seria importante o desenvolvimento de novos estudos nesta área com outros drinks que possuem limão e outras bebidas alcoólicas em sua composição, como a caipirosca, mojito e pisco sour.

Referências

- [1.] Imfeld T. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(2):215-20.
- [2.] Martini T, Rios D, Cassiano Lps, Silva Cms, Taira Ea, Ventura Tms, Pereira Habs, Magalhães Ac, Carvalho Ts, Baumann T, Lussi A, Oliveira Rb, Palma-Dibb Rg, Buzalaf Mar. Proteomics of acquired pellicle in gastroesophageal reflux disease patients with or without erosive tooth wear. *J Dent.* 2018 Dec 21.
- [3.] Lussi A.; Jaeggi T.; Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004; 38 Suppl 1:34-44.
- [4.] Aguiar As, Catelli R, Toledo Le, Ubaldo L, A study of the behavior of medical students towards alcoholic patients as a result of their knowledge and self-drinking patterns. - *Rev. bras. educ. med.* vol.42 no.3 Brasília jul./set. 2018
- [5.] Bertoldo, C.E.S. et al. Surface hardness and color change of dental enamel exposed to cigarette smoke. In *J Dent Clin*, v. 3, n.4, p. 1-4, 2011.
- [6.] Instituto Brasileiro da Cachaça (IBRAC) IBRAC celebra crescimento das exportações de cachaça em 2016. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/noticias/cachaca-na-midia/509-ibrac-celebra-crescimento-das-exportacoes-de-cachaca-em-2016>> Acesso em: Agosto de 2017.
- [7.] Gomes, W. O. O perfil da cachaça. Biblioteca Digital do SEBRAE – BDS, 2004. Disponível em: <<http://bis.sebrae.com.br/conteudoPublicacao.zhtml?id=117>>. Acesso em: 21 de abril 2017.
- [8.] Ablal Ma, Kaur Js, Cooper L, Jarad Fd, Milosevic Sm, Higham Sm, Preston Aj The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: an in vitro study *Journal of Dentistry*, v 37, issue 11, p 835-839
- [9.] West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil.* 2000;27(10):875-80.
- [10.] Hanning C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. *Arch Oral Biol.* 2005;50 (6):541-52.
- [11.] Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res.* 1999;33(1):81-7.

- [12.] Zanatta Rf, Avila Dmds, Miyamoto Km, Torres Crg, Borges AB. Influence of surfactants and fluoride against enamel erosion. *Caries Res.* 2019;53(1):1-9. doi: 10.1159/000488207. Epub 2018 Jun 6.
- [13.] Scaramucci T., Carvalho J.C., Hara A.T., Zero D.T. (2015) Causes of Dental Erosion: Intrinsic Factors. In: Amaechi B. (eds) *Dental Erosion and Its Clinical Management.* Springer, Cham
- [14.] Bezerra S.J.C., João-Souza S.H., Aoki I.V., Borges A.B., Hara A.T., Scaramucci T. Anti-Erosive Effect of Solutions Containing Sodium Fluoride, Stannous Chloride, and Selected Film-Forming Polymers *Caries Res* 2019;53:305–313 (DOI:10.1159/000493388)
- [15.] Steiger-Ronay V, Steingruber A, Becker K, Aykul-Yetkiner A, Wiedemeier DB, Attin T. Temperature-dependent erosivity of drinks in a model simulating oral fluid dynamics. *J Dent.* 2018 Mar;70:118-123. doi: 10.1016/j.jdent.2018.01.002. Epub 2018 Jan 31.
- [16.] T. Scaramucci, S.H. João-Souza, F. Lippert, G.J. Eckert, I. V Aoki, A.T. Hara, Influence of Toothbrushing on the Antierosive Effect of Film-Forming Agents., *Caries Res.* 50 (2016) 104–10. doi:10.1159/000443619.
- [17.] Attin T. Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006 ;v.20:152-72
- [18.] Barbour Me, Rees SJ. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent.* 2004;32(8):591-602.
- [19.] Ganss C. Definition of Erosion and Links to Tooth Wear. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:9- 16.
- [20.] Jager, D.H.J.; Vieira, A.M.; Ruben, J.L.; Huysmans, M.C.D.N.J.M. Influence of beverage composition on the results of erosive potential measurement by different measurement techniques. *Caries Res*, Switzerland, v. 42, p. 98-104, 2008.
- [21.] Marshall TA, Dietary assessment and counseling for dental erosion *The Journal of the American Dental Association*, v149, issue 2, p 148-152
- [22.] Wang Yk, Chan Hh, Chiang Y, Lu Yc, Lin Cpl, Effects of fluoride and epigallocatechin gallate on soft-drink-induced dental erosion of enamel and root dentin. *V* 117, issue 4, p 276-282
- [23.] Lussi, A.; Megert, B. ; Shellis, R. P. ; Wang, X. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *Br J Nutr*, England, v. 107, p. 252-262. 2012.

- [24.] Zanatta, R. F.; Esper, M. A. L. R.; Valera, M. C.; Melo, R. M.; Bresciani, E. Harmful effect of beer on bovine enamel microhardness – in vitro study. PLOS ONE, United States, v. 11, n. 10, p. 1-7, October 19, 2016.
- [25.] Seow, W. K.; Thong, K. M. Erosive effects of common beverages on extracted premolar teeth. Aust Dent J, 2005 Sept; v.50, n.3, p. 173-178.
- [26.] Grenby, T., Mistry, M., & Desai, T. (1990). Potential dental effects of infants' fruit drinks studied in vitro. British Journal of Nutrition, 64(1), 273-283. doi:10.1079/BJN19900028
- [27.] Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P, Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro. Journal of Dentistry v33, issue 7, p 569-575
- [28.] Nandakumar M , Nasim I Comparative evaluation of grape seed and cranberry extracts in preventing enamel erosion: An optical emission spectrometric analysis J Conserv Dent 21(5): 516–520.
- [29.] Karda, B.; Jindal, R.; Mahajan, S.; Sandhu, S.; Sharma, S.; Kaur, R. To analyse the erosive potential of commercially available drinks on dental enamel and various tooth coloured restorative materials – an in vitro study. J Clin Diagn Res, India, v. 10, n. 5, p. 117-121, May. 2016.
- [30.] Amaechi, B.T.; Higham, S.M. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. J. Dent., 29, p.371–376, 2001.
- [31.] Carvalho, T.S., Baumann, T. & Lussi, A. In vitro salivary pellicles from adults and children have different protective effects against erosion Clin Oral Invest (2016) 20: 1973.
- [32.] International Bartenders Association <http://iba-world.com/cocktails/caipirinha/> Acesso em Janeiro de 2019.
- [33.] Lorente J, Vegara S, Martí N, Ibarz A, Coil L, Hernandez j, Valero M, Saura, D. Chemical guide parameters for Spanish lemon (Citrus limon (L.) Burm.) juices. Food Chem 2014 Nov 1;162:186-91. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.04.042. Epub 2014 Apr 21
- [34.] Cheung, A.; Zid, Z.; Hunt, D.; McIntyre, J. The potential for dental plaque to protect against erosion using an in vivo-in vitro model – A pilot study. Australian Dental Journal, v. 50. n. 4, p. 228-234, 2005.

[35.] Mandel, ID Saliva The Functions of Saliva. Journal of Dental Research Volume: 66 issue: 1_suppl, page(s): 623-627 1987 Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/00220345870660S103>

[36.] Soares Le, Soares AI, De Oliveira R, Nahorny S, The effects of acid erosion and remineralization on enamel and three different dental materials: FT-Raman spectroscopy and scanning electron microscopy analysis. Microsc Res Tehc 2016 Jul;79(7):646-56. doi: 10.1002/jemt.22679. Epub 2016 May 4.

[37.] Sauro S, Mannocci F, Piemontese M, Mongiorgi R, In situ enamel morphology evaluation after acidic soft drink consumption: protection factor of contemporary toothpaste. International Journal of Dental Hygiene v.6, issue 3

4. CONCLUSÃO

As bebidas a base de cachaça têm alto potencial erosivo no esmalte dentário humano quando analisadas *in vitro*. Os grupos testados (caipirinha artesanal, caipirinha industrializada, cachaça e ácido cítrico) apresentaram perda significativa de cálcio, fósforo e de microdureza indicando forte impacto erosivo. Também houve aumento na concentração de cálcio das soluções testadas após o desafio erosivo.

REFERÊNCIAS

ABLAL MA, KAUR JS, COOPER L, JARAD FD, MILOSEVIC SM, HIGHAM SM, PRESTON AJ The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: an in vitro study *Journal of Dentistry*, v 37, issue 11, p 835-839

AGUIAR AS, CATELLI R, TOLEDO LE, UBALDO L, A study of the behavior of medical students towards alcoholic patients as a result of their knowledge and self-drinking patterns. - **Rev. Bras. Educ. Med.** vol.42 no.3 Brasília jul./set. 2018

AL-ASHTAL A, JOHANSSON A, OAR R, JOHANSSON AK, Dental erosion in children and adolescents of a private dental practice. **Int J Paediatr Dent**, v. 21, n. 6, p 451-8, 2011

AMAECHEI, B.T.; HIGHAM, S.M. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J. Dent.*, 29, p.371–376, 2001.

ATTIN T. Methods for assessment of dental erosion. **Monogr Oral Sci.**;20:152-72. 2006

BARAC R, GASIC J, TRUTIC N, SUNARIC S, POPOVIC J, DJEKIC P, RADENKOVIC G, MITIC A, Erosive Effect of Different Soft Drinks on Enamel Surface in vitro: Application of Stylus Profilometry. **Med Princ Pract** 2015;24:451-457. doi: 10.1159/000433435 Disponível em : <https://www.karger.com/Article/FullText/433435> Acesso em Dezembro de 2018

BARBOUR ME, REES SJ. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. **J Dent**, England, v. 32, p.591-602. 2004

BARBOUR, M E.; SHELLIS, R. P. An investigation using atomic force microscopy nanoindentation of dental enamel demineralization as a function of undissociated acid concentration and differential buffer capacity. **Phys Med Biol**, England, v. 52, p. 899-910. 2007

BARDOLIA P, BURNSIDE G, ASHCROFT A, MOLOSEVIC A, GOODFELLOW SA, ROLFE EA, PINE CM. Prevalence and risk indicators of erosion in thirteen to fourteen-year-olds on the Isle of Man. **Caries Res**. V. 44, n.2, 165-8, 2010

BENJAKUL, P.; CHUENARROM, C. Association of dental enamel loss with the pH and titratable acidity of beverages. **J Dent Sci**, Netherlands, v. 6, p. 129-133. 2011

BERTOLDO, C.E.S. et al. Surface hardness and color change of dental enamel exposed to cigarette smoke. **In J Dent Clin**, v. 3, n.4, p. 1-4, 2011.

BEZERRA S.J.C., JOÃO-SOUZA S.H., AOKI I.V., BORGES A.B., HARA A.T., SCARAMUCCI T. Anti-Erosive Effect of Solutions Containing Sodium Fluoride, Stannous Chloride, and Selected Film-Forming Polymers *Caries Res* 2019;53:305–313 (DOI:10.1159/000493388)

BOWMAN SA. Beverage choices of young females: changes and impact on nutrient intakes. **J Am Diet Assoc.** 2002;102(9):1234-9.

CARVALHO, T.S., BAUMANN, T. & LUSSI, A. In vitro salivary pellicles from adults and children have different protective effects against erosion *Clin Oral Invest* (2016) 20: 1973.

CENTRO DE INFORMAÇÕES SOBRE SAÚDE E ÁLCOOL (CISA). A associação entre o uso de álcool e tabaco entre universitários. Disponível em: <http://www.cisa.org.br/artigo/383/-associacao-entre-uso-alcool-tabaco-entre.php> Acesso em Agosto de 2017

CHEUNG, A.; ZID, Z.; HUNT, D.; MCINTYRE, J. The potential for dental plaque to protect against erosion using an in vivo-in vitro model – A pilot study. *Australian Dental Journal*, v. 50. n. 4, p. 228-234, 2005.

CHIKTE, UM, NAIDOO TJ, GROBLER, SR, Patterns of tooth surface loss among winemakers, **SADJ.** 60 (2005)370-374

DEDAID BA, GOMES, CI, MACHADO, G Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Porto Alegre, **EDIPUCRS** 2007.

GANSS C. Definition of Erosion and Links to Tooth Wear. **Monogr Oral Sci.** 2006;20:9- 16.

GANSS C. How valid are current diagnostic criteria for dental erosion? **Clin Oral Investig.** 2008;12(Suppl 1):S41-9.

GOMES, W. O. O perfil da cachaça. Biblioteca Digital do SEBRAE – BDS, 2004. Disponível em: <<http://bis.sebrae.com.br/conteudoPublicacao.zhtml?id=117>>. Acesso em: 21 de abril 2017.

GRENBY, T., MISTRY, M., & DESAI, T. Potential dental effects of infants' fruit drinks studied in vitro. *British Journal of Nutrition*, 64(1), 273-283. doi:10.1079/BJN19900028

HANNING C, HAMKENS A, BECKER K, ATTIN R, ATTIN T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. **Arch Oral Biol.** 2005;50 (6):541-52.

HEDE, B Determinantes of oral health in a group of Danish alcoholics, **Eur J Oral Sci.** 104 (1996) 403-408

HORNECKER E, EHRENREICH H, MUUSS T, MAUSBERG RF, Oral condition of abstaining alcoholics. A case-control study. **Eur PMC V.** 113, n. 12,: 1281-88, 2003.

IMFELD T. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. **Eur J Oral Sci.** 1996; 104(2):215-20.

INSTITUTO BRASILEIRO DA CACHAÇA (IBRAC) IBRAC celebra crescimento das exportações de cachaça em 2016. Disponível em: <<http://www.ibrac.net/index.php/noticias/cachaca-na-midia/509-ibrac-celebra-crescimento-das-exportacoes-de-cachaca-em-2016>> Acesso em: Agosto de 2017.

INTERNATIONAL BARTENDERS ASSOCIATION <http://iba-world.com/cocktails/caipirinha/> Acesso em Janeiro de 2019.

JAGER, D.H.J.; VIEIRA, A.M.; RUBEN, J.L.; HUYSMANS, M.C.D.N.J.M. Influence of beverage composition on the results of erosive potential measurement by different measurement techniques. **Caries Res**, Switzerland, v. 42, p. 98-104, 2008.

JENSDOTTIR T, BARDOW A, HOLBROOK P, Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro. **Journal of Dentistry** v33, issue 7, p 569-575

KANZOW P, WEGEHAUPT FJ, ATTIN T, WIEGAND A, Etiology and pathogenesis of dental erosion. **Quintessence Int** 47 (2016), n°4, p 275-278

KARDA, B.; JINDAL, R.; MAHAJAN, S.; SANDHU, S.; SHARMA, S.; KAUR, R. To analyse the erosive potential of commercially available drinks on dental enamel and various tooth coloured restorative materials – an in vitro study. **J Clin Diagn Res**, India, v. 10, n. 5, p. 117-121, May. 2016.

KUMAR, S.; TADAKAMADLA, J.; TIBDEWAL, H.; DURAISWAMY, P.; KULKARNI, S. A pilot study into the effect of whisky, wine and beer consumption on tooth surface dissolution. **OHDM**, United States, v. 12, p. 151-154, Sept, 2013.

LARANJEIRAS, R. et al. II Levantamento Nacional de Álcool e drogas (LENAD) - 2012. São Paulo: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Políticas Públicas de Álcool e Outras Drogas (INPAD), UNIFESP 2014. Disponível em: <<http://inpad.org.br/wp-content/uploads/2014/03/Lenad-II-Relat%C3%B3rio.pdf>> Acesso em: Agosto de 2017.

LARSEN MJ, NYVAD B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res.* 1999;33(1):81-7.

LORENTE J, VEGARA S, MARTÍ N, IBARZ A, COIL L, HERNANDEZ J, VALERO M, SAURA, D. Chemical guide parameters for Spanish lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.) juices. *Food Chem* 2014 Nov 1;162:186-91. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.04.042. Epub 2014 Apr 21

LUSSI A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38 (Suppl 1):34-44.

LUSSI A. Erosive tooth wear - a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:1-8.

LUSSI, A.; MEGERT, B. ;SHELLIS, R. P. ; WANG, X. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *Br J Nutr*, England, v. 107, p. 252-262. 2012.

MANARTE, P.; MANSO, M. C.; SOUZA, D.; FRIAS-BULHOSA, J.; GAGO, S. Dental erosion in alcoholic patients under addiction rehabilitation therapy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, Spain, v. 14, n. 8, p. 377-384, Aug 2009.

MANDEL, ID SALIVA The Functions of Saliva. *Journal of Dental Research* Volume: 66 issue: 1_suppl, page(s): 623-627 1987 Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/00220345870660S103>

MARSHALL TA, Dietary assessment and counseling for dental erosion The *Journal of the American Dental Association*, v149, issue 2, p 148-152

MARTINI T, RIOS D, CASSIANO LPS, SILVA CMS, TAIRA EA, VENTURA TMS, PEREIRA HABS, MAGALHÃES AC, CARVALHO TS, BAUMANN T, LUSSI A, OLIVEIRA RB, PALMA-DIBB RG, BUZALAF MAR. Proteomics of acquired pellicle in gastroesophageal reflux disease patients with or without erosive tooth wear. *J Dent.* 2018 Dec 21.

McCRAKEN M., O'NEAL S J, Dental erosion and aspirin headache powders. A clinical repor. *J Prosthodont*, 2000, v.9 p.:95-8

MILLER GD, JARVIS JK, McBEAN LD. The importance of meeting calcium needs with foods. **J Am Coll Nutr.** 2001;20(Suppl):168S-185S.

MOAZZEZ R, AUSTIN R Medical conditions and erosive toothwear. **Br Dent J** 224:326-331, 2018.

NANDAKUMAR M , NASIM I Comparative evaluation of grape seed and cranberry extracts in preventing enamel erosion: An optical emission spectrometric analysis *J Conserv Dent* 21(5): 516–520.

PEGORARO CN, SAKAMOTO FF, DOMINGUES LA. Perimólise: Etiologia, Diagnóstico e Prevenção. **Rev APCD** 2000; v.54, p.156-161.

PINHEIRO MA, TORRES LF, BEZERRA MS, CAVALCANTE RC, ALENCAR RD, DONTATO AC , Prevalência e fatores associados ao consumo de álcool e tabaco entre estudantes de medicina no nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Educ. Med.** 41(2): 231-239, 2017

PIRES, CORREA NAHAS et al., Prevalence and associated factors of dental erosion in children and adolescents of a private dental practice. **Int J Paediatr Dent**, 2011; Nov; v.21, n.6, p. 451-8.

REES, J.; LOYN, T.; CHADWICK, B. Pronamel and tooth mousse: An initial assessment on erosion prevention in vitro. **Journal of Dentistry**, v. 35, p. 355–357, 2007.

SAURO S, MANNOCCI F, PIEMONTESE M, MONGIORGI R, In situ enamel morphology evaluation after acidic soft drink consumption: protection factor of contemporary toothpaste. *International Journal of Dental Hygiene* v.6, issue 3

SCARAMUCCI T., CARVALHO J.C., HARA A.T., ZERO D.T. (2015) Causes of Dental Erosion: Intrinsic Factors. In: Amaechi B. (eds) *Dental Erosion and Its Clinical Management*. Springer, Cham

SCARAMUCCI, T. S.H. JOÃO-SOUZA, F. LIPPERT, G.J. ECKERT, I. V AOKI, A.T. HARA, Influence of Toothbrushing on the Antierosive Effect of Film-Forming Agents., *Caries Res.* 50 (2016) 104–110. doi:10.1159/000443619.

SEOW, W. K.; THONG, K. M. Erosive effects of common beverages on extracted premolar teeth. **Aust Dent J**, 2005 Sept; v.50, n.3, p. 173-178.

SMITH BGN, ROBB ND Dental erosion in patients with chronic alcoholism *J Dent England*, v. 17, p 219-221 1989

SOARES LE, SOARES AL, DE OLIVEIRA R, NAHORNY S, The effects of acid erosion and remineralization on enamel and three

different dental materials: FT-Raman spectroscopy and scanning electron microscopy analysis. *Microsc Res Tehc* 2016 Jul;79(7):646-56. doi: 10.1002/jemt.22679. Epub 2016 May 4.

STEIGER-RODAY V, STEINGRUBER A, BECKER K, AYKUL-YETKINER A, WIEDEMEIER DB, ATTIN T. Temperature-dependent erosivity of drinks in a model simulating oral fluid dynamics. *J Dent*. 2018 Mar;70:118-123. doi: 10.1016/j.jdent.2018.01.002. Epub 2018 Jan 31.

STRUZYCKA I, RUSYAN E, BOGUSLAWSKA-KAPALA A. Tooth erosion - a multidisciplinary approach. **Pol Med J**, 2016 Feb; v. 40, n.236, p. 79-83.

TEN CATE JM, IMFELD T. Dental erosion, summary. **Eur J Oral Sci**. 1996;104(2):241-4.

WANG YK, CHAN HH, CHIANG Y, LU YC, LIN CPL, Effects of fluoride and epigallocatechin gallate on soft-drink-induced dental erosion of enamel and root dentin. *V* 117, issue 4, p 276-282

WEST NX, HUGHES JA, ADDY M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil*. 2000;27(10):875-80.

WHO - World Health Statistics 2016: Monitoring health for the SDGs. Printed in Luxembourg. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763eng.pdf>> Acesso em Outubro, 2018.

ZANATTA RF, AVILA DMDS, MIYAMOTO KM, TORRES CRG, BORGES AB. Influence of surfactants and fluoride against enamel erosion. *Caries Res*. 2019;53(1):1-9. doi: 10.1159/000488207. Epub 2018 Jun 6.

ZANATTA, R. F.; ESPER, M. A. L. R.; VALERA, M. C.; MELO, R. M.; BRESCIANI, E. Harmful effect of beer on bovine enamel microhardness – in vitro study. *PLOS ONE*, United States, v. 11, n. 10, p. 1-7, October 19, 2016.

7. ANEXOS

ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFPR

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise in vitro do impacto erosivo das bebidas alcoólicas no esmalte dentário humano.

Pesquisador: Maria Ângela Naval Machado

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 78577317.8.0000.0102

Instituição Proponente: Departamento de Estomatologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.361.993

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa intitulado "Análise in vitro do impacto erosivo das bebidas alcoólicas no esmalte dentário humano." da pesquisadora responsável Maria Ângela Naval Machado com a colaboração de Ana Clélia Roussenq.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da erosão nas propriedades mecânicas, morfológicas e químicas da superfície do esmalte em dentes humanos hígidos expostos a bebida alcoólica.

Objetivos Específicos

- Estimar a microdureza da superfície dental;
- Realizar a análise topográfica superficial;
- Quantificar o cálcio e o fósforo na superfície dental;
- Reconstruir a estrutura anatômica do dente em três dimensões.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O principal benefício dessa pesquisa para a sociedade é esclarecer que além dos malefícios para a saúde sistêmica, o álcool pode ter efeito prejudicial na estrutura do dente, causando erosão e perda de minerais. A avaliação do impacto negativo do consumo de álcool na saúde bucal gera

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



Continuação do Parecer: 2.361.993

informação que pode ser utilizada para conscientização e alerta da população. A sociedade Odontológica se beneficia com a pesquisa ao relacionar os resultados com as propriedades mecânicas dos dentes e restaurações. Os resultados podem também ser colaborativos para outras pesquisas científicas.

O risco dessa pesquisa se dá por possível constrangimento dos participantes, devido à exposição do seu prontuário ao Banco de Dentes. Porém, os pesquisadores desse estudo não terão acesso a nenhum dado do paciente, o que garante a confidencialidade das informações. Também não haverá contato entre os pesquisadores desse estudo e os doadores, em nenhum momento, o que minimiza eventuais riscos de constrangimento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo in vitro utilizando dentes humanos de adultos provenientes do Banco de Dentes da UFPR. O estudo avaliará o potencial erosivo da caipirinha industrializada, caipirinha artesanal e seus componentes isoladamente na superfície do esmalte dentário. Para isso, serão usados 105 dentes, dos quais blocos de esmalte serão preparados a partir de terceiros molares humanos e divididos aleatoriamente em sete grupos de tratamento (n = 15): 1- cachaça; 2- limão; 3- açúcar; 4- limão e açúcar; 5- saliva artificial; 6- caipirinha artesanal padronizada e 7- caipirinha industrializada.

Os grupos serão expostos a doses padronizadas das bebidas alcoólicas em quantidade, durante um mesmo tempo e nas mesmas condições. As doses padrões estabelecidas serão de 10mL de cachaça; 10 mL de suco de limão fresco; 10mL de saliva artificial; 10mL de açúcar diluído em água destilada, 10mL de caipirinha artesanal, 10mL de caipirinha industrializada®.

O pH de cada substância será mensurado nas duas etapas (inicial e após a exposição ao líquido) com um peagâmetro (KR20, AKROM, São Leopoldo, RS, Brasil), previamente calibrado, em 1, 2, 12 e 24 horas após exposição das amostras a bebida.

A microdureza inicial de cada bloco será medida. Após essa mensuração inicial das amostras, metade de cada bloco será coberta com fita adesiva para que sirva de controle transversal. Os blocos serão alocados aleatoriamente para cada grupo.

Análises da microdureza superficial (Microdureza de Knoop), topografia superficial e mapeamento químico de cálcio e fósforo na superfície dentária (Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva acoplada) e reconstrução da estrutura anatômica do dente em três dimensões denominada de Microtomografia de raios-X (Microtomógrafo de Raios X da marca Skyscan, modelo 1172) serão realizadas.

As leituras das análises serão realizadas "às cegas", sem que o avaliador possa identificá-las. As

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.060-240

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



Continuação do Parecer: 2.361.993

amostras serão analisadas no Laboratório de Análises de Minerais e Rochas (LAMIR) e no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) ambos na UFPR.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Dispensa do TCLE, pesquisadora anexou o TCLE que o paciente assina para doar os dentes para o Banco de Dentes.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

- É obrigatório retirar na secretaria do CEP/SD uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com carimbo onde constará data de aprovação por este CEP/SD, sendo este modelo reproduzido para aplicar junto ao participante da pesquisa.

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa (Carta Circular nº. 003/2011 CONEP/CNS).

Favor agendar a retirada do TCLE pelo telefone 41-3360-7259 ou por e-mail cometica.saude@ufpr.br, necessário informar o CAAE.

Considerações Finais a critério do CEP:

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais e final, sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo: NOTIFICAÇÃO. Demais alterações e prorrogação de prazo devem ser enviadas no modo EMENDA. Lembrando que o cronograma de execução da pesquisa deve ser atualizado no sistema Plataforma Brasil antes de enviar solicitação de prorrogação de prazo.

Emenda – ver modelo de carta em nossa página: www.cometica.ufpr.br (obrigatório envio)

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1005783.pdf	09/10/2017 10:29:13		Aceito
Outros	ata_de_aprovacao.pdf	09/10/2017	Maria Ângela Naval	Aceito

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



Continuação do Parecer: 2.361.993

Outros	ata_de_aprovacao.pdf	10:26:10	Machado	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	09/10/2017 10:25:44	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Outros	Checklist.pdf	03/10/2017 22:14:30	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_responsabilidades_no_projeto.pdf	03/10/2017 21:53:28	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_BancodeDentes.pdf	03/10/2017 20:00:26	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_uso_especifico_do_material.pdf	03/10/2017 19:58:55	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_compromisso_para_o_inicio_da_pesquisa.pdf	03/10/2017 19:58:29	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_Confidencialidade.pdf	03/10/2017 19:57:44	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_do_termo_de_consentimento.pdf	03/10/2017 19:56:57	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Oficio_do_pesquisador.pdf	03/10/2017 19:50:25	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Analise_de_Merito.pdf	03/10/2017 19:38:58	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Concordancia_servico_Patologia.pdf	03/10/2017 19:38:19	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Concordancia_servicos_LAMIR.pdf	03/10/2017 19:38:04	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Concordancia_servicos_CME.pdf	03/10/2017 19:37:45	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Concordancia_servico_BancodeDentes.pdf	03/10/2017 19:37:16	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_guarda_de_material.pdf	03/10/2017 19:29:03	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_tornar_publicos_os_resultados.pdf	03/10/2017 19:28:11	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado_CEP.docx	03/10/2017 15:56:23	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico /	Declaracao_de_compromisso_BancodeDentes.pdf	03/10/2017 15:47:17	Maria Ângela Naval Machado	Aceito

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



Continuação do Parecer: 2.361.993

Biorepositório / Biobanco	Declaracao_de_compromisso_Bancode Dentes.pdf	03/10/2017 15:47:17	Maria Ângela Naval Machado	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	03/10/2017 15:40:10	Maria Ângela Naval Machado	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 01 de Novembro de 2017

Assinado por:
IDA CRISTINA GUBERT
(Coordenador)

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-240

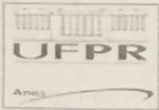
UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

ANEXO 2 – TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES DO BANCO DE DENTES DA UFPR


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA
BIOBANCO E BIORREPOSITÓRIO DE ODONTOLOGIA DA UFPR
Avenida Prefeito Lothário Meissner 632 – Jardim Botânico

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ES ESCLARECIDO Nº _____

Eu,.....

RG.....,nascido em...../...../....., residente no endereço.....,telefone.....:cedo.....dente(s) para o Biobanco e Biorrepositório de Odontologia da UFPR, declarando que este(s) dente(s) foram extraídos por indicação clínica (motivo:.....), com histórico no meu prontuário nº _____, arquivado sob minha responsabilidade. Estou ciente de que este(s) dente(s) será(ão) utilizado(s) para realização de pesquisas futuras em projetos específicos, aprovados previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa ou em atividades didáticas no processo de ensino/aprendizagem da escola de Odontologia da UFPR. Autorizo ainda, o acesso aos meus dados clínicos e histórico médico pelo pesquisador em questão, com o objetivo de obtenção de dados para fins de pesquisa em ciências da saúde. Fui informado(a) sobre a possibilidade do descarte do material armazenado, caso seja necessário, e que os dados por mim fornecidos serão sigilosos, respeitando a confidencialidade por meio de codificação. Estou ciente que nenhum incentivo ou recompensa financeira está previsto por concordar com a coleta do(s) dente(s) extraído(s).

Caso utilizado em pesquisa:

Desejo ser contatado(a) sobre as pesquisas em que o dente será utilizado.

Não desejo ser contatado (a) sobre as pesquisas em que o dente será utilizado.

Circular o número do dente(s) cedido(s) no odontograma abaixo:

Maxila

Direito 18 17 16 15 14 13 12 11 | 21 22 23 24 25 26 27 28 Esquerdo

48 47 46 45 44 43 42 41 | 31 32 33 34 35 36 37 38

Mandíbula

Curitiba, ____ de ____ de 20 ____.

Assinatura do doador ou do responsável, caso o doador seja menor de idade

ANEXO 3: Informações para autores da revista American Journal of Dentistry

Information for Authors

The **AMERICAN JOURNAL OF DENTISTRY** is published six times a year in February, April, June, August, October and December by *Mosher & Linder, Inc.*

The **AJD** invites submission of research manuscripts and reviews related to the clinical practice of dentistry. Manuscripts are considered for publication with the understanding that they have not been published elsewhere in any form or any language, are submitted solely to the **AJD**, and if accepted for publication in the **AJD**, they will not be published elsewhere in the same form or in any other language, without the consent of the Editor. Manuscripts are reviewed by at least two referees.

Statements and opinions expressed in the articles and communications herein are those of the author(s) and not necessarily those of the Editor, Managing Editor, Editorial Board members or publisher of the **AMERICAN JOURNAL OF DENTISTRY**.

All correspondence from the Editorial Office will be made with the designated Corresponding Author unless otherwise specified in a letter by the authors.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS. Papers should be written in proper American English, double spaced, with liberal margins, and **only submitted by E-mail to the Editor**, with the text and tables in Microsoft Word files and illustrations in JPEG image format.

Papers reporting results of original research should be divided into Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements (if any), and References.

CLINICAL RESEARCH PAPERS. Need to follow the CONSORT Statement [Needleman I. *et al. Am J Dent* 2008;21: 7-12].

DISCLOSURE STATEMENT. The *American Journal of Dentistry* is instituting a policy to disclose conflicts of interest, as well as sponsorship of studies published in the Journal. Please provide information regarding any conflict of interest relationships of all authors, or state that each author has no conflict.

Examples of common financial relationships include: employment, consultancies, stock ownership, honoraria, and paid expert testimony. You can read more about other potential conflict of interests and the general policy at: <http://www.nlm.nih.gov/pubs/factsheets/supplements.html> and <http://www.icmje.org/#conflicts>

COPYRIGHT RELEASE. The following statement, signed by all authors, should accompany all manuscripts:

"All manuscript's copyright ownership is transferred from the author(s) of the article (title of article), to the American Journal of Dentistry in the event the work is published. The manuscript has not been published in any form or any language and is only submitted to the American Journal of Dentistry".

TITLE PAGE should include the title of the manuscript, all authors' full names and degrees, affiliations to institution or private practice, designation and address of corresponding author, telephone and fax numbers and e-mail address.
Disclosure statement

ABSTRACT PAGE should follow the title page and only contain: the title of the manuscript, the abstract and the clinical significance sections. On the abstract page, the name(s) of the author(s) should not appear. The abstract should have the following sections: Purpose, Methods, and Results.

CLINICAL SIGNIFICANCE. As a separate sentence after the abstract, a short statement should highlight the clinical significance of the manuscript.

REFERENCES. All references and only those cited in the text should appear in the list of references. They should be numbered consecutively as they appear in the text of the paper. Reference formatting programs should not be used.

When a paper cited has three or more authors, it should appear in the text thus: Gwinnett *et al.*¹ In the Reference section, article references must include the names and initials of all the authors, the full title of the paper, the abbreviated title of the journal, year of publication, the volume number, and first and last page numbers, *e.g.*:

Journals:

1. Thornton JB, Retief DH, Bradley EA. Marginal leakage of two glass ionomer cements: Ketac-Fil and Ketac-Silver. *Am J Dent* 1988; 1: 35-38.

Abstracts:

2. Alpeggiani M, Gagliani M, Re D. Operator influence using adhesive systems: One bottle vs. multi bottles. *J Dent Res* 1998;77: 942 (Abstr 2487).

Online abstracts:

3. Bayne SC, Wilder Jr AD, Perdigão J, Heymann HO, Swift EJ. 4-year wear and clinical performance of packable posterior composite. *J Dent Res* 2003;86 (Sp Is A): (Abstr 0036).

Papers in the course of publication should only be entered in the references if they have been accepted for publication by a journal and then given in the standard manner in the text and in the list of references with the journal title, accompanied by "In press," *e.g.*:

3. Crim GA, Abbott LJ. Effect of curing time on marginal sealing by four dentin bonding agents. *Am J Dent*, In press.

Book and monograph references should include author, title, city, publisher, year of publication, and page numbers, *e.g.*:

4. Malone WFP, Koth DL. *Tylman's theory and practice of fixed prosthodontics*. St. Louis: Ishiyaku Euro-America, 1989; 110-123.
5. Ripa LW, Finn SB. The care of injuries to the anterior teeth of children. In: Finn SB. *Clinical pedodontics*. 4th ed, Philadelphia: WB Saunders, 1973; 125.

Personal communications should only appear in paren-theses in the text and not in the list of references.

ILLUSTRATIONS. Illustrations should be numbered, provided with suitable legends, and kept to the minimum essential for proper presentation of the results. Color illustrations will be published at the authors' expense. Contact the Managing Editor at (954) 888-9101 or amident@amident.com

Legends are required for all illustrations and should be typed as a group on a separate page. For photomicrographs, legends must specify original magnification and stain (if used).

TABLES should be logically organized and should supplement the information provided in the text. Each table should be typed on a separate page with the number, title and footnotes. Tables should be kept to the minimum essential for proper presentation of the results.

Permissions from author and publisher must be obtained for the direct use of previously published material including text, photographs, drawings, etc. The original permission should be then included with the manuscript.

REPRINTS. For reprints contact the Business Office at (954) 888-9101 or amident@amident.com

ADDRESS. All manuscripts should be sent to the Editor by e-mail only to: godov@amident.com

TABELAS:

Tabela 1: Grupos experimentais e fórmula da saliva artificial utilizados no desafio erosivo.

Solução	Composição
Caipirinha artesanal	50ml de cachaça, meio limão Tahiti e 2 colheres de chá de açúcar (International Bartenders Association ³²)
Caipirinha industrializada	Cachaça, suco de limão (Tahiti) e açúcar (Brunholi TM ,Brasil)
Cachaça	Cachaça (51, Brasil)
Ácido cítrico	0.3% de ácido cítrico, água deionizada (^{12,13,14,15,16})
Saliva artificial	0.213 g/l de CaCl ₂ 2H ₂ O; 0.738 g/l de KH ₂ PO ₄ ; 1.114 g/l de KCl; 0.381 g/l de NaCl; 12 g/l tampão Tris; 2.2 Mucina (^{12,13})

Tabela 2: Média das leituras de pH das soluções experimentais.

Grupo	Média do pH Inicial (\pm desvio padrão)
Cachaça	4,96 (\pm 0,34)
Caipirinha industrializada	3,91 (\pm 0,35)
Caipirinha artesanal	2,73 (\pm 0,29)
Ácido cítrico a 0,3%	2,71 (\pm 0,28)
Saliva artificial	6.75 (\pm 0,37)

Tabela 3: Análise de correlação de Pearson entre pH e erosão mensurada por diferentes análises.

		Perda de Microdureza %	Diferença de alturas entre lado controle e experimental	Perda de Ca ⁺⁺	Perda de P	Aumento de Ca ⁺⁺ no líquido
pH	Correlação de Pearson Sig. (bicaudal)	-.648* .000	-.930* .000	-.643* .000	-.641* .000	-.579* .001

Tabela 4: Média das Microdurezas (Knoop) antes e após o desafio erosivo no lado experimental das amostras (DP) e perda média (%) de microdureza (DP).

Grupo Amostral	Inicial	Final	Perda %	VALOR DE p*
Cachaça (DP)	334,89 (±43,46)	296,52 (±44,23)	12.06 (±10.79)A	p<0,001*
Caipirinha artesanal (DP)	309,26 (±32,77)	206,40 (±64,58)	37.94 (±17.58)B	p<0,001*
Caipirinha industrializada (DP)	319,03 (±29,05)	194,52 (±46,76)	37.59 (±18.52)B	p<0,001*
Ácido cítrico (DP)	330,80 (±58,78)	195 (±52,22)	40.75 (±18.31)B	p<0,001*

* Teste de Tukey HSD

Valores dos grupos com a mesma letra não foram diferentes estatisticamente (p>0.05).

Tabela 5: Concentração de cálcio e fósforo (Wt%) dos lados controle e experimental após o desafio erosivo [média(DP)] captada por EDS.

	Cachaça	Caipirinha artesanal	Caipirinha industrializada	Ácido cítrico a 0.3%
[Ca ⁺⁺] Lado Controle	29.30 (±2.84)	29.36 (±4.78)	25.09 (±6.04)	28.94 (±4.46)
[Ca ⁺⁺] Lado Experimental	25.14 (±3.24)	18.32 (±5.00)	18.62 (±4.98)	19.52 (±3.35)
[P] Lado Controle	15.30 (±1.39)	15.34 (±1.81)	14.09 (±2.02)	14.90 (±1.86)
[P] Lado Experimental	13.28 (±1.66)	9.37 (±2.32)	10.16 (±1.80)	9.86 (±1.74)
Valor de p*	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Diferença entre os grupos	A	B	C	B

* Teste de Tukey HSD

Valores dos grupos com a mesma letra não foram diferentes estatisticamente (p>0.05).

Tabela 6: Distribuição da concentração de cálcio (mg/L) dos líquidos utilizados antes e após o experimento [média(DP)] analisada por ICP-OES.

	Cachaça	Caipirinha artesanal	Caipirinha industrializada	Ácido cítrico 0.3%
Concentração de Ca ⁺⁺ Inicial (DP)	6.34 (±2.27)	17.73 (±0.72)	21.07 (±1.54)	16.77 (±.69)
Concentração de Ca ⁺⁺ Final (DP)	16.59 (±1.90)	104.72 (±5.91)	43.85 (±1.48)	104.49 (±7.72)
Diferença entre os grupos	A < 0.001	B < 0.001	C < 0.001	B < 0.001

Valor de p

* Teste de Tukey HSD

Valores dos grupos com a mesma letra não foram diferentes estatisticamente ($p > 0.05$).