

**GUSTAVO DE LUCA ALVES**

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DE COR E ANÁLISE DA  
COMPOSIÇÃO MINERAL DO ESMALTE DENTAL BOVINO  
APÓS CLAREAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO  
UTILIZANDO FOTORREFLECTÂNCIA E ESPECTROSCOPIA  
FT- RAMAN**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade em Dentística.

**GUSTAVO DE LUCA ALVES**

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DE COR E ANÁLISE DA  
COMPOSIÇÃO MINERAL DO ESMALTE DENTAL BOVINO  
APÓS CLAREAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO  
UTILIZANDO FOTORREFLECTÂNCIA E ESPECTROSCOPIA  
FT- RAMAN**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade em Dentística.

Orientadora: Profa. Adj. Ana Paula Martins Gomes

São José dos Campos

2007

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:

Bellini AB. Manual para elaboração de monografias: estrutura do trabalho científico. São José dos Campos: FOSJC/UNESP; 2007.

Alves, Gustavo de Luca

Avaliação das alterações de cor e análise da composição mineral do esmalte dental bovino após clareamento com peróxido de hidrogênio utilizando Fotorreflectância e Espectroscopia FT- Raman.

Gustavo de Luca Alves; orientador: Ana Paula Martins Gomes. \_\_ São José dos Campos, 2007.

124p. ; IL.

Tese (Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Concentração em Odontologia Restauradora) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, 2007.

1. clareamento dental – 2. peróxido de hidrogênio – 3. esmalte dental.

## AUTORIZAÇÃO

Autorizo cópia e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 20 /06 /2007

Assinatura: Gustavo de Luca Alves

E-mail: gustavo@fosjc.unesp.br

## DEDICATÓRIA

### ***Aos meus pais Márcio e Margarida***

Hoje sou, porque um dia vocês foram. Nada pode separar minha existência das suas. Sou livre, sou meu próprio eu e, ao mesmo tempo, uma extensão, um projeto de vocês, vidas entrelaçadas e únicas, entretanto, completamente independentes e separadas.

Obrigado pelo incentivo e confiança na realização de meus sonhos.

Certamente, meu aprendizado teve em vocês os maiores instrutores.

### ***Aos meus irmãos Ana, Caio e Márcio***

pelo convívio fraterno que sempre mantivemos, fundamentado na união, carinho, respeito e amizade.

### ***À minha bisavó Ana Nogueira de Luca***

um exemplo de vida para todos nós que, aos 110 anos, acompanha de perto este momento de minha vida.

### ***Às minhas tias Marina e Clélia***

que, além de transmitirem conhecimentos, ensinam como usá-los com sabedoria.

### ***À tia Lucinha e família***

que sempre me acolheram em sua casa com carinho e atenção.

### ***Ao tio Luís***

pelo constante apoio e incentivo, não só para a realização deste trabalho como também, em todos os momentos de minha vida.

## IN MEMORIAN

### *À minha querida tia "PICIDA"*

Lembrança saudosa e sofrida pela sua ausência. Uma pessoa que gerou em nós um sentimento intenso e que nos fez companhia por um tempo razoável, um tempo feliz.

Posso imaginar, neste momento, sua presença insubstituível, seu sorriso orgulhoso, seu abraço afetuoso.

Você que contribuiu de todas as formas para o meu crescimento. Mas, a sua ausência precoce, jamais se traduzirá em esquecimento, pois a cada passo me espelho em seu exemplo.

## EPÍGRAFES

Há dragões a vencer, há bruxos, monstros, feras.  
Em toda parte, em todo instante, em todas eras...  
É mister transformar a vida, essa migalha de tempo,  
no furor de uma insone batalha,  
dentro do acaso, da surpresa, errando a esmo,  
até alcançar-se o ideal de vencer-se a si mesmo,  
atingindo a emoção do milagre divino  
de quem cria por si, o seu destino!

**Menotti Del Picchia**

“O homem se torna muitas vezes, o que ele próprio acredita que é.

Se eu insisto em repetir para mim mesmo que não sou capaz de realizar alguma coisa, é possível que realmente seja incapaz de fazê-la.

Ao contrário, se tenho a convicção de que posso fazê-la, certamente adquirirei capacidade de realizá-la, mesmo que não a tenha no começo.”

**Gandhi**



## **AGRADECIMENTOS**

### **A Deus**

**“Você se fez presente em todos os momentos, firmes e trêmulos e, passo a passo, pude sentir a sua mão na minha, transmitindo-me a segurança necessária para enfrentar meu caminho a seguir.”**

(Vinícius de Moraes)

À Professora Adjunta Ana Paula Martins Gomes, orientadora desta pesquisa, que pelo seu grande saber, proporcionou-me constantes ensinamentos, sempre com paciência, confiança, disponibilidade e, principalmente, amizade em todos os momentos.

À Professora Doutora Priscila Liporoni que, sempre dispensou-me atenção e, nos imprevistos, com sensibilidade, transmitiu-me de maneira tão singular, seus dons, habilidades, conhecimentos, segurança e amizade.

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP, pela oportunidade para desenvolvimento dos meus projetos.

Ao diretor e Professor Adjunto Paulo Vilela Santos Junior e ao Vice- diretor e Professor Doutor José Roberto Rodrigues.

Ao Professor Adjunto Clóvis Pagani, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia SJC- Unesp, pela solicitude.

À Professora Adjunta Márcia Carneiro Valera Garakis pelos constantes ensinamentos durante a realização dos créditos do doutorado.

Aos amigos mestres, Gustavo Lopes Carvalho e Cláudia Cristina C. Simões Dutra pelo apoio, compreensão e, sobretudo, verdadeira amizade construída nesses anos de Pós-graduação.

À amiga Jovelina Cabral Gorgulho, pelas palavras otimistas nos momentos oportunos.

À amiga Juliana Corrêa pelo apoio e amizade nas etapas de correção desta pesquisa.

À mestranda Mariana Lerner Attia pela ajuda em fases de desenvolvimento desta pesquisa, amizade, apoio e incentivo.

Aos Professores Ilene Rosia César e Luis Eduardo Soares pelo apoio nas fases laboratoriais deste estudo.

Aos colegas doutorandos Ângela Bolanho e Júlio Tadashi Murakami pela amizade e companhia nesses 3 anos.

Aos demais colegas de Pós-graduação da FOSJC- Unesp.

A todos os Professores do Curso de Pós-Graduação da FOSJC- Unesp.

Às secretárias da Pós-Graduação, Rosemary de Fátima Salgado Pereira, Erena Michie Hasegawa e Maria Aparecida C. de Souza pela amizade, paciência, apoio e principalmente pelas orientações durante esses 3 anos.

A Professora Andréa Cavalcanti, FOP, pelo auxílio na análise estatística.

Às técnicas Josiane e Michelle do laboratório do Departamento de Odontologia Restauradora da FOSJC- Unesp pelo apoio, amizade, e prontidão em todos os momentos.

À UNIVAP e em especial ao Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IPD), pelo uso dos laboratórios coordenados pelos professores Egberto Munin e Airton Rodrigues.

*Agradeço também àqueles que colaboraram de forma direta ou indireta para o desenvolvimento desta pesquisa.*

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	16
LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	18
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	19
RESUMO.....	21
1 INTRODUÇÃO.....	22
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	27
3 PROPOSIÇÃO.....	50
4 MATERIAL E MÉTODO.....	51
4.1 Delineamento experimental.....	51
4.2 Preparo dos espécimes.....	53
4.3 Manchamento dos espécimes.....	56
4.4 Protocolo de Clareamento dental.....	58
4.5 Análise de Fotorreflectância.....	63
4.6 Análise da composição mineral através do sistema de Espectroscopia FT-Raman.....	66
4.7 Análise Estatística.....	70
5 RESULTADOS.....	71
5.1 Análise de Reflectância.....	71
5.2 Análise de Raman.....	75
6 DISCUSSÃO.....	79
7 CONCLUSÕES.....	88
8 REFERÊNCIAS.....	89
ANEXOS/ APÊNDICES.....	98
<i>ABSTRACT</i> .....	124

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	Esquema ilustrativo do delineamento experimental	52
FIGURA 2-	Esquema de obtenção dos fragmentos .....	55
FIGURA 3-	Espécimes nas dimensões de 4 x 4 x 4 mm .....	55
FIGURA 4-	Armazenamento individualizado das amostras em saliva artificial .....	56
FIGURA 5-	Refrigerante Coca-cola Light Lemon .....	57
FIGURA 6-	Espécimes após imersão em Coca-Cola Light Lemon .....	58
FIGURA 7-	Sistema Led/ Laser Ultrablue – DMC .....	59
FIGURA 8-	Agente clareador Opalescence Xtra Boost – Ultradent, PH 38% .....	60
FIGURA 9-	Agente clareador Whiteness HP Maxx – FGM, PH 35% .....	61
FIGURA 10-	Agente clareador manipulado – Fórmula e Ação, PH 35% .....	62
FIGURA 11-	Sistema completo de fotorreflectância: (A) Espectrômetro; (B) Esfera integradora .....	64
FIGURA 12-	Esfera integradora do sistema de Fotorreflectância	65
FIGURA 13-	Espécime posicionado para registros de Fotorreflectância .....	66
FIGURA 14-	Espectrômetro FT-Raman .....	68
FIGURA 15-	Compartimento dos espécimes em porta-amostras com movimentação mecânica nos eixos X, Y e Z	69
FIGURA 16-	Espectro de reflectância representando a leitura inicial dos Grupos Experimentais .....	72



FIGURA 17-	Espectro de reflectância representando a leitura intermediária dos Grupos Experimentais manchados .....	72
FIGURA 18-	Espectro de reflectância representando a Leitura final dos Grupos Experimentais .....	73

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1-	Divisão dos grupos experimentais .....	53
TABELA 1-	Média (desvio-padrão) da reflectância obtida nos grupos experimentais .....	71
TABELA 2-	Média (desvio-padrão) da reflectância em função do manchamento e tempo. Os dados dos agentes clareadores foram agrupados .....	74
TABELA 3-	Média (desvio-padrão) da reflectância dos grupos submetidos ao manchamento nos três períodos experimentais .....	74
TABELA 4-	Média (desvio-padrão) de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) obtida nos grupos experimentais .....	75
TABELA 5-	Média (desvio-padrão) de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) em função do agente clareador e do manchamento. Os dados dos períodos de tempo foram agrupados .....	76
TABELA 6-	Média (desvio-padrão) de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) em função do agente clareador e do tempo. Os dados do manchamento foram agrupados .....	77
TABELA 7-	Média (desvio-padrão) de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) dos grupos submetidos ao manchamento nos três períodos experimentais .....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT =	Associação Brasileira de Normas e Técnicas
ANOVA =	Análise de Variância
AS/GAL/AL=	Arseneto, Gálio e Alumínio
cm =	centímetro
cm <sup>-1</sup> =	deslocamento Raman
et al. =	et alii (e outros)
Fam=	gel clareador manipulado Fórmula e Ação
h=	hora
laser =	light amplification by stimulated emission of radiation
(μ) =	reflectância
Maxx=	gel clareador Whiteness HP Maxx
min =	minuto
ml =	mililitro
mm=	milímetro
Mw=	miliwatts
MEV=	microscopia eletrônica de varredura
n.=	número
nm=	nanometro
Op=	gel clareador Opalescence
p. =	página
PC=	peróxido de carbamida
PH=	peróxido de hidrogênio
pH = P:	abreviatura do alemão potenz= concentração e H: íon hidrogênio (H <sup>+</sup> ).Concentração hidrogeniônica de uma dada solução
s=	segundo
% =	por cento
°C =	grau Celsius

Nd=	Neodímio
YAG=	ytrium- aluminium-garnet
v=	volume
EDS=	espectroscopia de energia dispersiva
EDX=	espectroscopia de energia dispersiva por raio x
He-Ne=	hélio-neônio
$\mu\text{m}$ =	micrometro
LED=	light emission diode

ALVES, GL. Avaliação das alterações de cor e análise da composição mineral do esmalte dental bovino após clareamento com peróxido de hidrogênio utilizando Fotorreflectância e Espectroscopia FT- Raman (tese). São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2007.

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar as alterações de cor, as diferenças quanto ao tempo de clareamento e a susceptibilidade ao manchamento em fragmentos dentais bovinos. Foram analisadas também as alterações morfológicas e minerais do esmalte submetido ou não, à imersão em bebida pigmentante e, após o protocolo de clareamento dental, com peróxido de hidrogênio a 35% e 38%, através de dois métodos de análise: fotorreflectância e espectroscopia FT- Raman. Foram utilizados 60 fragmentos dentais bovinos nas dimensões de 4x4x4mm. Para todos os grupos experimentais realizou-se uma leitura inicial que teve como objetivo constituir os grupos controle. Os 60 espécimes foram divididos aleatoriamente em seis grupos experimentais: (G1- Whiteness Maxx + manchamento com Coca-Cola Light Lemon; G2- Whiteness Maxx sem manchamento; G3- Opalescence Xtra Boost + manchamento com Coca-Cola Light Lemon; G4- Opalescence Xtra Boost sem manchamento; G5- Gel manipulado + manchamento com Coca-Cola Light Lemon; G6- Gel manipulado sem manchamento). O clareamento foi realizado seguindo as recomendações de cada fabricante durante duas semanas. Os espécimes foram mantidos em 2ml de saliva artificial durante toda a fase experimental. Após os registros, os dados foram encaminhados para análise estatística e os resultados demonstraram que os agentes clareadores utilizados foram capazes de promover o branqueamento dos espécimes manchados e não manchados; houve perda mineral do esmalte após imersão em Coca-Cola Light Lemon nos espécimes clareados com Whiteness HP Maxx e o agente Opalescence Xtra Boost proporcionou maior perda mineral que os demais agentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** clareamento dental; esmalte dental; peróxido de hidrogênio; fotorreflectância; espectroscopia FT- Raman.

## 1 INTRODUÇÃO

Na Odontologia moderna estética, além da preocupação com a função dentária, há uma crescente e constante busca por um padrão dentário simétrico, considerando-se assim, contorno, forma, alinhamento dos dentes e principalmente a cor. A obtenção de um belo sorriso é o desejo da maioria das pessoas e para muitos pacientes, além da saúde bucal, a estética passa a ser uma das prioridades no tratamento odontológico. Certamente, mudanças no sorriso mostram efeitos surpreendentes na auto-estima do indivíduo, principalmente em uma sociedade extremamente competitiva como nos dias atuais, onde esse padrão está relacionado a novas perspectivas e possibilidades.

Um dos principais desequilíbrios estéticos do sorriso são as alterações de cor já que dentes brancos são considerados sinais de cuidado, saúde, beleza e sucesso, sendo resultantes basicamente de dois fatores: extrínsecos e intrínsecos. A pigmentação extrínseca ocorre mais freqüentemente e caracteriza-se principalmente por ser mais superficial (BARATIERI et al. <sup>4</sup>, 1993; MORATO et al. <sup>59</sup> 1998), podendo ser decorrente de bebidas que contenham corante, como café, vinho, chá, chimarrão, alguns tipos de refrigerantes, alimentos com agentes pigmentantes, tabaco e bactérias cromógenas (BARATIERI et al. <sup>4</sup>, 1993; ASFORA et al. <sup>2</sup>, 1998; MENDONÇA & PAULILLO <sup>54</sup>, 1998; BARATIERI <sup>5</sup>, 2001). Já a pigmentação intrínseca apresenta etiologias relacionadas a hereditariedade e ou alterações ocorridas nos períodos de formação dos germes dentais, como por exemplo: ingestão de tetraciclina, fluorose, eritroblastose fetal, amelogênese e dentinogênese imperfeitas, hemorragia intrapulpar (MENDONÇA & PAULILLO <sup>54</sup>, 1998). Esse tipo de manchamento apresenta maior complexidade e dificuldade para o

tratamento estético, uma vez que as manchas ou descolorações, na maioria dos casos, não estão superficiais (BARATIERI et al.<sup>4</sup> 1993).

O clareamento dental destaca-se por ser um tratamento simples, seguro e com custo relativamente baixo (HAYWOOD & HEYMANN<sup>30</sup>, 1989; HAYWOOD<sup>33</sup>, 1992; BARATIERI et al.<sup>4</sup>, 1993; HAYWOOD<sup>35</sup>, 1997; TAMES et al.<sup>77</sup> 1998; PIMENTA & PIMENTA<sup>64</sup>, 1998) sendo indicado para casos de alterações cromáticas em dentes traumatizados, pigmentados por hábitos alimentares, portadores de fluorose, manchas por tetraciclina e escurecidos fisiologicamente (BARATIERI<sup>5</sup>, 2001).

Em se tratando de padrões históricos, sabe-se que o anseio por estética e a introdução de tratamentos clareadores dentais já eram amplamente empregados desde o Antigo Egito (HIRATA et al.<sup>39</sup>, 1997), onde eram utilizados vinagre e abrasivo para tal objetivo, enquanto os romanos utilizavam urina para essa finalidade. O termo “Clareamento Dental” foi descrito pela primeira vez em 1861 pelo professor M’Quillen do Colégio Dental da Filadélfia no renomado Periódico “The Dental Cosmos”, em um artigo que destacava a atenção e o espaço que havia ocupado o tema na Convenção de New Haven (PÉCORA et al.<sup>63</sup>, 1996). Este mesmo professor preconizava a importância de se conhecer as características químicas das substâncias em questão, citando como agentes clareadores o Dióxido de Enxofre e a solução de Labarraque (hipoclorito de sódio 2,5 %) (PÉCORA et al.<sup>63</sup>, 1996; NOVAIS & TOLEDO<sup>61</sup>, 2000). Este produto foi utilizado inicialmente como um anti-séptico bucal (HAYWOOD et al.<sup>31</sup> 1991; BARATIERI et al.<sup>4</sup>, 1993; MCCracken & HAYWOOD<sup>52</sup>, 1996; HAYWOOD<sup>35</sup>, 1997; TAMES et al.<sup>77</sup>, 1998), sendo considerado um produto medicamentoso, que se utilizado de forma adequada e de acordo com as recomendações, não promove nenhum prejuízo à saúde (MCGUCKING et al.<sup>53</sup>, 1992 ; MENDONÇA & PAULILLO<sup>54</sup>, 1998).

Através da evolução proveniente da realização de várias pesquisas, novas substâncias passaram a ser preconizadas para o tratamento clareador. Estes sistemas clareadores são basicamente compostos por peróxido de hidrogênio (3- 38%), e pelo peróxido de carbamida em diferentes concentrações (10-35%). Por apresentarem pH ácido, principalmente em altas concentrações, sua aplicação fica restrita ao consultório, onde existirá supervisão profissional. Como vantagens da utilização desta técnica, o número de sessões é reduzido, o resultado do clareamento é mais rápido, porém, pode ocorrer maior sensibilidade após o tratamento (HEGEDIÛS et al. <sup>38</sup>, 1999).

Existem inúmeros géis disponíveis no mercado para a realização do clareamento de uso profissional. Esses géis diferem quanto à concentração do peróxido de hidrogênio e apresentação do produto, onde os componentes podem estar em frasco único, sem necessidade de mistura; ou com a necessidade de manipulação, estando disponíveis no formato de pó/ gel. Nos dias atuais, a introdução de pigmentos na composição dos géis clareadores tem sido foco de pesquisas, pois alguns autores afirmam que sua presença pode influenciar a efetividade do clareamento, principalmente quando a ativação por luz é associada (KWON, et al. <sup>43</sup>, 2002). Os pigmentos podem variar de vermelho (carmim e caroteno) até a coloração esverdeada.

Baseado em conceitos previamente estabelecidos pela literatura, relacionados a aplicação do calor como catalisador do processo de clareamento, novos sistemas foram desenvolvidos com o intuito de acelerar e potencializar a reação química. Estão representados pelos aparelhos Leds, luz halógena, arco de plasma ou lasers como o Argônio (GÛRGAN et al. <sup>28</sup>, 1997, SULIEMAN et al. <sup>75, 76</sup>, 2004 e 2005, DOSTALOVA et al.<sup>20</sup> 2004).

A reação química ocorre por meio do peróxido de hidrogênio que é o agente ativo. Após ser metabolizado por enzimas, degrada-se em água e oxigênio. A uréia decompõe-se em dióxido de



carbono e amônia e eleva o pH da placa dental. As soluções de peróxido apresentam baixo peso molecular, o que permite que elas transitem pelos espaços interprismáticos e provoquem a oxidação dos pigmentos. Durante os processos iniciais do clareamento, as moléculas de carbono pigmentadas, responsáveis pela alteração de cor, são quebradas e convertidas em cadeias menores, que apresentam coloração mais clara. Esta reação química altera a estrutura dessas moléculas (HAYWOOD <sup>33</sup>, 1992; BARATIERI et al. <sup>4</sup>, 1993; GOLDSTEIN et al. <sup>27</sup>, 1994; MENDONÇA & PAULILLO <sup>54</sup>, 1998). Goldstein et al. <sup>27</sup> (1994) definiram o mecanismo clareador como sendo uma reação de oxidação em que a substância a ser clareada doa elétrons ao agente clareador.

O tratamento clareador deve ser indicado para pacientes acima de 16 anos de idade, pois nessa faixa etária o esmalte e a dentina se encontram mais mineralizados e menos permeáveis, o que resulta em uma menor sensibilidade pós-tratamento; a dentina apresenta-se mais espessa diante da formação da dentina secundária fisiológica e a câmara pulpar com menor dimensão (MONDELLI <sup>56</sup>, 1998; MONDELLI <sup>57</sup>, 2003).

Um efeito adverso e indesejado do tratamento clareador é a sensibilidade relatada pelos pacientes durante os primeiros dias de utilização do gel clareador, seja por clareamento caseiro ou de consultório (RITTER et al. <sup>68</sup>, 2002; BARATIERI et al. <sup>4</sup>, 1993; HAYWOOD <sup>34</sup>, 1996; MONDELLI <sup>57</sup>, 2003). Essa sintomatologia está relacionada a um aumento da permeabilidade dos tecidos (esmalte e dentina) diante da desmineralização decorrente da ação do agente clareador, devido ao seu pH mais baixo. Dessa forma, o número de aplicações dos agentes clareadores passa a apresentar relevância, pois, quando não seguidas as recomendações corretas para a utilização, os tecidos envolvidos serão afetados, podendo acarretar sintomatologia dolorosa ou até mesmo possíveis alterações no esmalte. Nessa situação, realiza-se a interrupção do tratamento durante alguns dias para o restabelecimento da polpa e também torna-se apropriada a utilização de dessensibilizantes como o

flúor, laser de AS/GAL/AL e nitrato de potássio para minimizar esse efeito indesejável (CARDOSO & VIEIRA <sup>12</sup>, 1997; LEONARD et al. <sup>45</sup> 1997; LEONARD <sup>46</sup>, 1998; MONDELLI <sup>57</sup>, 2003).

Durante o tratamento alguns cuidados devem ser tomados, como evitar a ingestão de alimentos e substâncias corantes que possam impregnar-se sobre o esmalte, como café, chá preto, beterraba, chocolate, molhos vermelhos, nicotina, coca-cola, entre outros (MONDELLI <sup>57</sup>, 2003) e após o tratamento, torna-se imprescindível a substituição de restaurações pré-existentes, pois estas não sofrem a ação do agente clareador, comprometendo com isso a estética do sorriso (BARATIERI et al. <sup>4</sup>,1993; PIMENTA & PIMENTA <sup>64</sup>, 1998; BASTING et al. <sup>6</sup>, 2004).

Desta forma, esta pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos do clareamento com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 35 e 38% quanto às alterações de cor e a estrutura mineral do esmalte dental, utilizando dois métodos de análise (Fotorreflectância e Espectroscopia FT- Raman).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

A revisão da literatura abordou trabalhos, em ordem cronológica de publicação, sobre a ação dos agentes clareadores nas modificações de cor e na morfologia do esmalte dental, através da avaliação da composição química e alterações superficiais. Outros trabalhos pertinentes foram acrescentados para auxiliar o entendimento e estudo do assunto.

Goldstein et al.<sup>25</sup> (1989) relataram que a técnica de clareamento dental é eficaz no tratamento de manchas dentárias. Todavia pode ser associada a restaurações estéticas adesivas, facetas cerâmicas ou restaurações protéticas para sucesso nas modificações de cor do sorriso de uma forma mais abrangente. O agente clareador, representado pelo grupo dos peróxidos, apresenta baixo peso molecular e habilidade de desnaturar proteínas, o que favorece sua movimentação através dos tecidos dentários.

Haywood & Heyman<sup>30</sup> (1989) apresentaram uma técnica revolucionária para clareamento de dentes com vitalidade pulpar, representada pela aplicação em moldeira plástica do peróxido de carbamida 10% durante a noite. Pela manhã, o agente deveria ser removido seguido da escovação dos dentes. Durante cinco semanas de tratamento, com aplicações por um período de sete a oito horas, os dentes apresentaram modificações em sua cor inicial quando comparados com a escala Vita. A partir desta data, o clareamento noturno caseiro passou a ser indicado como uma alternativa eficaz no tratamento das alterações de cor.

Bitter<sup>8</sup> (1992) verificou, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), a superfície do esmalte quando exposta a agentes clareadores. A comparação entre o esmalte tratado e o não

tratado revelou que no esmalte submetido ao tratamento clareador ocorreu alteração superficial e porosidade após a exposição ao agente clareador peróxido de hidrogênio por 30h sendo estas verificadas em vários níveis. O grau de alteração não foi uniforme e foi influenciado pela escovação.

Souza<sup>72</sup> (1993) estudou os efeitos de agentes de clareamento dental a base de peróxido de carbamida 10% sobre dentes humanos *in vitro* e sobre a mucosa de ratos. Foram utilizados terceiros molares humanos extraídos com o intuito de verificar a permeabilidade do esmalte e dentina à passagem de corantes e alteração da morfologia superficial do esmalte submetido ao clareamento. Os dentes permaneceram em contato com o gel clareador por 240h e para a avaliação da permeabilidade ficaram imersos em azul de metileno por 48h. Para avaliar os efeitos do agente clareador na mucosa foram utilizados 16 ratos, os quais receberam aplicação tópica de gel clareador diariamente sobre o sulco gengival inferior direito, enquanto o lado esquerdo correspondente permaneceu como controle. Os animais foram sacrificados após 2, 7, 14, 21 dias e realizou-se uma análise histológica das mucosas. Os resultados encontrados quanto a permeabilidade mostraram que os dentes clareados ficaram mais permeáveis à passagem de corante que os não clareados. A análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) demonstrou alterações no esmalte tratado, estando este, mais poroso. A avaliação histológica das mucosas evidenciou alteração das papilas epiteliais, aumento de espessura do epitélio e da camada de queratina, no entanto, o tecido conjuntivo não evidenciou nenhuma reação inflamatória.

Rotstein et al.<sup>69</sup> (1996) avaliaram os efeitos de agentes clareadores nos tecidos duros. Foram utilizados 21 prémolares, extraídos por razões ortodônticas. Cada grupo experimental foi tratado com um agente clareador: peróxido de hidrogênio 30%, perborato de sódio, peróxido de carbamida 10%, Nu Smile, Opalescence e DentlBright. Como

grupo controle foram usadas seis amostras adicionais tratadas apenas com solução salina. O tratamento consistiu na imersão dos espécimes nos respectivos materiais experimentais, seguido de armazenamento a 37°C durante sete dias. As amostras foram lavadas e secas em temperatura ambiente e então preparadas para análise histoquímica superficial. Os níveis de cálcio, fósforo, sulfato e potássio do esmalte, dentina e cemento de cada espécie foram mensurados usando microscopia eletrônica de varredura e espectrômetro de energia dispersiva. Os resultados indicaram que materiais clareadores podem causar alterações nos tecidos duros dentários e devem ser usados com cautela.

Zalkind et al.<sup>81</sup> (1996) analisaram as mudanças ocorridas nos tecidos dentários humanos (esmalte, dentina e cemento) após exposição ao clareamento dental, através de MEV. Foram utilizados 18 pré-molares humanos, intactos e extraídos por finalidade ortodôntica. Os dentes foram seccionados, limpos e distribuídos em seis grupos experimentais. Para cada grupo, foram utilizados os respectivos géis clareadores: peróxido de hidrogênio 30%, peróxido de carbamida 10%, perborato de sódio, Nu smile, Opalescence e DentalBright. Após o término do tratamento clareador, as amostras foram submetidas à avaliação por MEV. Os espécimes foram armazenados em água destilada a 37° C. Os resultados mostraram mudanças morfológicas na superfície dental em decorrência do tratamento clareador na maioria dos agentes. O peróxido de hidrogênio e o Dental Bright foram associados diretamente com as mudanças de superfície do esmalte, dentina e cemento. Para as alterações em cemento, os agentes Peróxido de hidrogênio, Dental Bright, Nu smile e Opalescence demonstraram alterações superiores aos demais tecidos (esmalte e dentina). Dessa forma, os agentes clareadores, por alterarem os tecidos duros, deveriam ser utilizados com cautela.

Crews et al.<sup>19</sup> (1997) observaram o efeito do clareamento dental na composição química do esmalte através de análise de EDS. Foram utilizados três agentes diferentes: Brite Smile (peróxido de hidrogênio 10%), Nu Smile (peróxido de carbamida 15%) e Rembrandt Lighten (peróxido de carbamida 10% + carbopol). Os agentes foram aplicados nas amostras durante o período de três semanas e após as sessões eram mantidas em 100% de umidade relativa. Para avaliação a face distal de cada amostra manteve-se intacta e na face mesial, foram realizados os procedimentos de clareamento. Os autores concluíram que o agente clareador Rembrandt Lighten, causou maior perda dos níveis de cálcio e de fósforo quando comparado aos demais géis testados.

Faria & Santos<sup>22</sup> (1997) realizaram uma demonstração sobre o espalhamento inelástico de luz, repetindo o experimento de Raman. Os autores afirmaram que as técnicas espectroscópicas fornecem informações detalhadas sobre os níveis de energia dos espécimes testados, particularmente no caso da espectroscopia vibracional. A grande vantagem reside na maior riqueza de detalhes ocasionada pelos níveis de energia vibracional que representam a impressão digital das moléculas. A utilização deste sistema está relacionada à possibilidade de analisar de forma qualitativa e quantitativa, estruturas minerais e orgânicas, sem que haja destruição das amostras como em outros sistemas.

Bonfim et al.<sup>9</sup> (1998) descreveram que a superfície do esmalte pode se apresentar tão mineralizada que não apresentaria alteração significativa após o clareamento. A desmineralização do esmalte inicia-se a partir do contato com soluções com pH inferior a 5,2, enquanto que a da superfície radicular inicia-se com pH em torno de 6,0. Os autores destacam que a área de preferência dos agentes está representada pela junção amelo-cementária e dessa forma é conveniente

utilizar agentes dessensibilizantes para obliteração dos túbulos nessa região.

Campos<sup>11</sup> (1998) avaliou quantitativamente em estudo *in vitro*, através de penetração de corante, quanto tempo após o término do clareamento caseiro com peróxido de carbamida 10%, deve-se esperar para substituir as restaurações de resina composta. Foram selecionados cem dentes humanos recém-extraídos e realizados preparos cavitários padronizados do tipo classe V, na junção esmalte-dentina/cimento e posterior restauração com resina composta. Os corpos-de-prova foram clareados por três semanas e divididos aleatoriamente em cinco grupos: 1) restaurações substituídas 21 dias após o término do tratamento clareador, 2) restaurações substituídas 14 dias após o término do tratamento clareador, 3) restaurações substituídas sete dias após o término do tratamento clareador, 4) restaurações substituídas imediatamente após o término do tratamento clareador e 5) grupo controle, no qual as restaurações não foram trocadas. Concluídas as substituições das restaurações, os corpos-de-prova foram submetidos a 1000 ciclos térmicos. E então os dentes foram imersos em solução de azul de metileno a 2% por 4h. Para análise qualitativa dos corpos-de-prova, os dentes foram seccionados e a microinfiltração avaliada em lupa estereoscópica. Concluiu-se que para substituição das restaurações de resina composta, independente da margem, deve-se aguardar 21 dias após o término do clareamento dental.

Bevilacqua et al.<sup>7</sup> (1999) estudaram os efeitos de dois clareadores à base de peróxido de carbamida 10% (Karisma pH 5.5 e Opalescence pH 6.5) sobre as variações de pH salivar. Analisaram o pH inicial, pH com a moldeira sem clareador; pH com a moldeira e com clareador de 5 em 5 min durante 30 min e de 10 em 10 min até completar 1h do início. Concluíram que esses clareadores são seguros clinicamente quanto ao risco de desmineralização da estrutura dental.

Spyrides et al.<sup>74</sup> (1999) submeteram dentina bovina à ação prévia de três agentes clareadores: peróxido de carbamida 10 e 35% e peróxido de hidrogênio 35%, para então avaliar, comparar e quantificar *in vitro*, a possível influência na diminuição da resistência adesiva do sistema Single Bond-Z100 (3M). Os corpos-de-prova foram obtidos a partir de 120 incisivos bovinos, submetidos aos tratamentos realizados até que fossem avaliados por teste de cisalhamento numa máquina de ensaios mecânicos INSTRON. Os corpos-de-prova foram aleatoriamente divididos em oito grupos experimentais com 15 repetições cada, dois desses grupos foram controle, ou seja, sem uso de agente clareador. Os demais grupos foram submetidos a três tratamentos clareadores superficiais. Os períodos de tempo de avaliação foram dois, um deles logo após o preparo dos corpos-de-prova e outro avaliado sete dias após. Os resultados foram avaliados a partir do modelo estatístico de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey. A maior redução nos níveis de adesão ocorreu nos grupos de ensaio de um dia se comparado aos grupos de ensaio de sete dias. Nenhum dos grupos tratados com peróxido, mesmo após sete dias, recuperou o nível de adesão do grupo controle de um dia.

Gultz et al.<sup>29</sup> (1999) analisaram as modificações morfológicas no esmalte, quando associadas a aplicação de calor e absorção de luz na técnica de clareamento dental através de MEV. Foram utilizados doze dentes, recém extraídos e posteriormente separados em quatro grupos experimentais: G1- Controle, G2- Peróxido de carbamida 35%, Opalescence Quick, aquecido em água fervendo por 2 a 3 min, G3- Peróxido de hidrogênio 35%, Opalescence Xtra ativado por luz halógena por um período de 4 a 5 min, G4- Ácido fosfórico 35% de 15 a 20 s. Após a avaliação por MEV, os autores observaram que não existiram alterações morfológicas nos grupos 2 e 3 quando comparados ao grupo controle. Entretanto, foram encontradas diferenças estatísticas significativas no grupo tratado com ácido fosfórico 35%.



MCCaslin et al.<sup>51</sup> (1999) realizaram um estudo com o objetivo de validar a mudança de cor da dentina e determinar se a alteração de cor foi uniforme ou ocorreu do meio externo (junção dentina esmalte) para o meio interno (parede pulpar). Foram utilizados dez dentes anteriores humanos extraídos e seccionados longitudinalmente ao meio. Cada espécime foi posicionado com o lado seccionado para baixo sobre uma lâmina de vidro, e a periferia dos espécimes foi selada com adesivo cianocrilato para prevenir micro-infiltração na interface entre o vidro e o dente. A raiz, desde o ápice até a junção cimento- esmalte, foi coberta com três camadas de esmalte vermelho para unhas. Somente a porção coronária foi acessível ao agente clareador. No lado oposto da lâmina de vidro foi usada tinta marcadora permanente para fazer duas marcas em alinhamento direto no vidro ao redor do dente. Essas marcas foram usadas posteriormente para padronização no nível cinza. Antes da aplicação da solução clareadora, foi fotografada a superfície cortada de cada espécime para estabelecer a linha de base. Todas as imagens foram obtidas através de condições padronizadas de luz, distância e exposição. O processador de imagens usado foi o Photoshop-Adobe Systems Inc. Foi realizada a análise de densidade radiométrica da dentina usando o programa NIH Image que produz um histograma (distribuição da frequência dos níveis de cinza) permitindo comparação entre as imagens. Foi usado peróxido de carbamida 10% diretamente no esmalte, sem a necessidade de moldeira. Os dentes foram clareados por dez dias. No primeiro dia o corte de dentina, coberto pelo vidro, foi fotografado em sua linha de base em intervalos de 2h nas primeiras 8h posteriores a aplicação do clareamento, para se estabelecer mudança imediata de cor. Durante os próximos nove dias, os dentes foram fotografados a cada manhã, lavados com água e armazenados. Concluíram que ocorreu uma significativa mudança de cor da dentina durante o clareamento com peróxido de carbamida 10%. Essa mudança ocorreu em toda a dentina de um modo uniforme.

Mokhlis et al.<sup>55</sup> (2000) realizaram um estudo duplo cego *in vivo* para avaliar a eficácia do peróxido de carbamida 20% e peróxido de hidrogênio 7,5%, durante uso diário. O grau de alteração de cor, a recorrência da cor, sensibilidade dental e gengival também foram avaliados. Vinte e quatro pacientes participaram desse estudo. Os pacientes foram orientados quanto a colocação do gel na moldeira e uso de 1 h, duas vezes por dia durante duas semanas. Os pacientes retornaram em 1, 2, 3, 6 e 12 semanas para avaliação da cor. Os autores avaliaram a sensibilidade perguntando aos pacientes, diariamente por 21 dias qualquer sensibilidade relatada. O uso de peróxido de carbamida 20% resultou em maior clareamento que o peróxido de hidrogênio a 7,5% durante os primeiros 14 dias, mas no final do estudo não houve diferença entre os produtos. Não foram encontradas diferenças significantes quanto a sensibilidade causada pelos dois produtos.

Sobral et al.<sup>71</sup> (2000) estudaram a importância do pH da dieta líquida na etiologia e prevenção das lesões de erosão dental (pH de algumas bebidas e sucos, supostamente ácidos). Foi utilizado e processado, apenas um exemplar de cada fruta madura (limão, maracujá, acerola, morango, caju, uva, laranja, goiaba, abacaxi e manga) de forma que ficassem liquefeitos. Em seguida, o pH foi medido com o auxílio de um pHmetro imediatamente e após 30 min e em seqüência, as amostras de suco eram diluídas em água na proporção de 1:2 e novos registros eram realizados. Já para as bebidas industrializadas (Coca-cola, Gatorade, Coca-Cola diet, guaraná, guaraná diet, iogurte e vitamina C) os registros foram realizados exatamente após a abertura dos frascos e após 30 min. As bebidas analisadas mostraram valores abaixo do pH crítico de dissolução da estrutura dental, sugerindo a possibilidade de favorecerem a desmineralização. A orientação quanto a dieta ácida parece ser um fator importante no tratamento e prevenção das lesões de erosão dental.

Haywood et al.<sup>36</sup> (2001) analisaram a possibilidade de redução de sensibilidade pós -clareamento através da utilização de moldeira de clareamento com nitrato de potássio e fluoreto. Trinta pacientes tiveram seus dentes clareados com peróxido de carbamida utilizado em moldeira e uso noturno. Se houvesse sensibilidade dentária o paciente aplicaria um gel contendo nitrato de potássio 5% e fluoreto de sódio (1.000 ppm). Um diário do tratamento e entrevistas com os pacientes foram utilizados para comparar os efeitos do gel antes e após o tratamento da sensibilidade. Concluíram que o uso de gel nitrato de potássio a 5% e fluoreto aplicado na moldeira, associado ao clareamento dental, pode reduzir a sensibilidade na maioria dos pacientes permitindo o tratamento completo do clareamento.

Leonard<sup>47</sup> (2001) determinaram a eficiência clínica e a duração dessa eficiência em 3, 6 e 47 meses pós-tratamento com solução clareadora contendo peróxido de carbamida 10% e percepção dos pacientes a técnica clareadora a partir em um estudo clínico longitudinal. Nesse estudo, envolvendo humanos, foram clareados os dentes incisivos superiores e a tomada de cor foi feita no terço médio dos dentes. Foram avaliadas as alterações no índice gengival, índice de placa, índice gengival não marginal, índice de mucosa oral não gengival e vitalidade dentária. Estudo das alterações radiográficas e sensibilidade dentária percebida pelo paciente ou irritação gengival durante o tratamento e pós-tratamento também foram avaliadas. Os resultados mostraram que o peróxido de carbamida a 10% é eficaz e seguro, com efeitos colaterais mínimos. A estabilidade da cor em longo prazo foi relatada por 82% dos participantes no final do estudo, sem nenhum efeito adverso.

Reis et al.<sup>67</sup> (2001) avaliaram se a aplicação de flúor em conjunto com o peróxido de carbamida poderia produzir efeitos deletérios relacionados a cor final dos dentes clareados. Foram utilizados dez incisivos centrais humanos hígidos, extraídos por razões periodontais. As

coroas foram divididas ao meio, totalizando vinte fragmentos. Todos os fragmentos foram submetidos à análise de cor através do uso de um espectrofotômetro antes e após o clareamento. Em uma das metades de cada dente (grupo 1) foi realizado o clareamento com peróxido de carbamida a 10% e na outra metade, foi aplicado flúor gel por 4 min entre cada sessão de clareamento (grupo 2). Os dentes foram submetidos a tratamento clareador por 8h diárias durante duas semanas. Após o término das 8h, os fragmentos do Grupo 1 foram escovados por 1 min em água corrente e então armazenados em água destilada por 16h até que fossem submetidos a novo ciclo clareador. No grupo 2, após as 8h de clareamento, foram lavados com água e escova dental e realizou-se a aplicação de flúor gel incolor e neutro a 1,23% por 4min. Os fragmentos foram submetidos novamente à análise de cor em espectrofotômetro após o clareamento. Concluíram que o tratamento clareador com ou sem aplicação de flúor foi efetivo no clareamento dos dentes e que o uso do flúor, concomitante ao tratamento clareador não prejudicou a eficácia do clareamento caseiro.

Jorgensen & Carroll<sup>41</sup> (2002) conduziram um estudo duplo cego aleatório para determinar a incidência de sensibilidade dentária após o clareamento caseiro. Cinqüenta indivíduos adultos usaram gel de peróxido de carbamida 15% e fluoreto de sódio a 0,11%. Outros cinqüenta indivíduos adultos usaram gel placebo diariamente por quatro semanas. Foi registrado de cada indivíduo o índice de placa, recessão gengival, nível de cárie, dentifrício atual e cigarro. Os pesquisadores avaliaram a sensibilidade semanalmente através de entrevista durante quatro semanas. Concluíram que sensibilidade dentária leve pode ser esperada na metade dos pacientes que usaram o gel estudado. Aproximadamente 10% dos pacientes podem ter uma experiência moderada de sensibilidade e 4% podem ter experiência de sensibilidade severa em uma a duas semanas. Pacientes com recessão gengival tem maior probabilidade de apresentar experiência de sensibilidade.

Estudos com animais sugeriram que agentes clareadores caseiros poderiam causar alterações na proliferação do epitélio oral de ratos. Costa Filho et al.<sup>18</sup> (2002) utilizaram agente clareador peróxido de carbamida 10% com carbopol em 11 mulheres (cinco fumantes e seis não-fumantes) durante um período de cinco semanas. Foram realizadas duas biópsias, uma 15 dias antes de iniciar o tratamento clareador caseiro e outra imediatamente após cinco semanas de tratamento clareador. Os resultados indicaram aumento da atividade proliferativa nas camadas do epitélio gengival, resultando em alterações na morfologia do tecido em pacientes fumantes e não fumantes.

Wang & Spencer<sup>79</sup> (2002) investigaram através de Raman, alterações na composição e estrutura molecular de restos dentinários e camadas de *smear* de dentina *in situ*. Os tratamentos testados foram realizados a partir de ácido cítrico 10%, 35% de ácido fosfórico e 0,5% de EDTA. Para a análise morfológica foi utilizada a MEV. Os resultados demonstraram que a composição dos *debris* e da dentina *in situ*, estavam representadas por uma mistura desorganizada de colágeno e minerais. Mudanças relacionadas ao espectro nos *debris* sugeriram que o colágeno desorganizado foi desnaturado pelo condicionamento ácido. O colágeno desnaturado formou uma matriz gelatinosa ao redor da camada mineral. A micro Raman espectroscopia demonstrou que parte do colágeno não foi removida e a estrutura mineral foi parcialmente removida pelos condicionadores ácidos.

Ritter et al.<sup>68</sup> (2002) avaliaram a percepção de participantes da técnica de clareamento caseiro aproximadamente dez anos pós-tratamento. O estudo incluiu trinta dos 38 participantes que completaram um estudo prévio sobre clareamento caseiro usando solução de peróxido de carbamida 10% durante seis semanas. Pacientes foram questionados sobre alguma mudança na tonalidade de seus dentes no pós-tratamento e a quantificar a alteração em uma escala verbal. Os resultados mostraram que 92% dos 38 participantes originais relataram

sucesso no clareamento em seus dentes. Houve estabilidade de cor na percepção de 48% dos participantes no pós-tratamento. Concluíram que o tratamento é seguro e efetivo e não foi notificado nenhum efeito em aproximadamente dez anos.

Freitas et al.<sup>24</sup> (2002) em um estudo *in vitro*, avaliaram a microdureza da dentina humana exposta a dois agentes clareadores a base de peróxido de carbamida 10% (Opalescence e Rembrandt) em períodos de tempo diferentes. Como grupo controle, foi usada uma solução placebo com pH neutro. Foram selecionados sessenta fragmentos de dentina humana hígida, divididos em dois grupos de tratamento com agentes clareadores e um grupo controle. Os agentes clareadores e placebo foram aplicados na superfície de fragmentos por 8 h e então armazenados em recipientes com saliva artificial, permanecendo 16 h por dia. Foram realizados testes de microdureza após 8 h, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de tratamento e 7 e 14 dias pós-tratamento. Concluíram que agentes clareadores com peróxido de carbamida a 10% diminuíram a microdureza dentinária em todos os períodos de tempo, mas após 14 dias de conclusão de tratamento armazenado em saliva artificial, o padrão de microdureza foi recuperado devido aos efeitos remineralizantes da saliva.

Carvalho et al.<sup>13</sup> (2002) analisaram, através de espectrofotometria, a alteração cromática de coroas dentais humanas, clareadas internamente com peróxido de hidrogênio 30% e perborato de sódio ativado por calor (Pirógrafo 123º C ou pelo laser de ER:YAG (350/J). Foram realizadas avaliações : Leitura inicial (LI), Leitura após escurecimento (LE), Leitura após clareamento (LC) , Leitura após 15 dias ( LC 15) e leitura após trinta dias (LC30). Para análise quantitativa das modificações de cor, foram avaliados os valores de luminosidade, matiz e saturação, posteriormente encaminhados para o sistema CIE lab. Os resultados não demonstraram diferenças estatísticas significativas entre o clareamento tradicional e o ativado por laser Er: YAG. Não foram

encontradas diferenças relacionadas aos períodos de tempo experimentais de 15 e 30 dias.

Os efeitos causados pela utilização do peróxido de hidrogênio 35% na superfície do esmalte bovino foram observados em 2002 por Kwon et al.<sup>43</sup> através de MEV e espectrofotometria. Foram utilizados cinco incisivos bovinos, posteriormente clareados por 0, 1, 2 e 3 dias. Para mensurar e quantificar a mudança de cor do esmalte utilizou-se a fotorreflectância. Após os procedimentos clareadores, os espécimes foram analisados e pôde-se observar que a maior alteração de cor foi encontrada no primeiro dia de clareamento, podendo ser notada também visualmente. A superfície do esmalte bovino clareado encontrou-se com alterações morfológicas, maior irregularidade e aumento da porosidade. Os autores concluíram que os dentes bovinos clareados sofreram mudanças aparentes quanto a morfologia e cor quando submetidos ao tratamento clareador.

Hosoya et al.<sup>40</sup> (2003) estudaram a influência do clareamento vital na alteração da superfície do esmalte e adesão de *S.mutans* no esmalte dentário. Foram extraídos setenta terceiros molares hígidos, divididos em dois grupos experimentais: G1- o esmalte foi clareado em um, três ou cinco períodos usando agente clareador com ou sem ataque ácido; G2- condicionamento ácido sem clareamento. A rugosidade superficial dos espécimes foi mensurada e paralelamente, uma cultura de *S.mutans* com 3% de glicose foi cultivada por 72 h antes de adicionar os espécimes. Com o uso de microscopia eletrônica de varredura, foi contado o número de colônias e analisado estatisticamente. Concluíram que a rugosidade superficial e a adesão de *S.mutans* ao esmalte aumentaram após clareamento.

Attin et al.<sup>3</sup> (2003) avaliou os resultados da aplicação de chá em vários intervalos de tempo após o clareamento do esmalte, realizado com peróxido de carbamida 10%. Foram utilizados noventa espécimes obtidos de dentes bovinos e distribuídos entre seis grupos. As

amostras dos grupos A, B, C, D foram clareadas com gel peróxido de carbamida 10% durante 8h seguidas de armazenamento em saliva artificial o período remanescente do dia. Os espécimes foram removidos da saliva em diferentes intervalos de tempo: 0 min no grupo A, 60 min no grupo B, 240 min no grupo C e imersas em chá preto por 10 min. Serviram como controle os grupos D (clareado e sem imersão em chá), E (sem clareamento, imerso em chá) e F (sem clareamento e sem imersão em chá). Esses procedimentos foram repetidos durante oito dias. Foram realizadas medidas iniciais, após cada dia usando o sistema CIELab. Concluíram que a aplicação de chá diretamente após o clareamento com peróxido de carbamida 10% não causa efeito significativo no resultado do clareamento dental, independente do intervalo de tempo decorrido entre o procedimento clareador e o contato do dente com o chá.

Spalding et al.<sup>73</sup> (2003) avaliaram os efeitos dos agentes clareadores na morfologia superficial do esmalte. Foram utilizados doze dentes extraídos distribuídos em três protocolos experimentais. No G1, os espécimes foram tratados com peróxido de hidrogênio 35%; G2, após o tratamento com peróxido hidrogênio 35% os espécimes foram imersos em saliva natural durante uma semana; G3, peróxido de hidrogênio 35% foi aplicado uma vez e peróxido carbamida foi aplicado por uma semana (12h de peróxido de carbamida 10% alternado com 12h na saliva). A microscopia eletrônica de varredura mostrou variação na morfologia da superfície dentária, excedendo os efeitos do peróxido usado de acordo com os grupos experimentais. O peróxido de hidrogênio 35% teve a tendência de promover o aumento da densidade das depressões. Algumas precipitações foram verificadas nas superfícies imersas em saliva natural no G2. Entretanto, uma superfície lisa foi observada nos espécimes do G3. Apesar das alterações mostradas ocorrerem na superfície do esmalte, parece que a variação normal existente em dentes erupcionados e não erupcionados pode exceder os efeitos dos agentes



clareadores na superfície dentária quando executada como descrita nesse estudo.

Leonard et al.<sup>48</sup> (2003) pesquisaram através da realização de um estudo longitudinal, a estabilidade do clareamento, efeitos pós-tratamento e satisfação dos pacientes em noventa meses pós-tratamento e após seis meses de tratamento em dentes manchados por tetraciclina utilizando como agente o peróxido de carbamida na concentração de 10%. Quinze dos vinte e um participantes envolvidos no estudo foram contactados e convidados para participar sua experiência de clareamento. Aos participantes questionou-se se ocorreram possíveis mudanças na cor de seus dentes após o tratamento e se eles apresentaram efeito que podiam estar associados ao tratamento. Realizou-se um exame clínico em oito dos 15 pacientes. Dessa forma pode-se constatar discreta alteração de cor não notada pelas outras pessoas (nove participantes (60%)). Nenhum paciente relatou recorrência a cor original, no entanto quatro fizeram retratamento em seus dentes. Os resultados indicaram que o clareamento vital caseiro em dentes manchados com tetraciclina pode ser utilizado com sucesso, quando aumentado o tempo de tratamento; e a estabilidade de cor permanece, no mínimo, por noventa meses pós-tratamento.

Worschech et al.<sup>80</sup> (2003) observaram, em diferentes períodos de tempo, a rugosidade superficial do esmalte humano submetido ao tratamento clareador com peróxido de carbamida 35% e a diferentes tratamentos superficiais de limpeza: G1- não escovado, G2- escovado com dentifrício fluoretado abrasivo, G3- escovado com dentifrício não fluoretado, G4- escovado sem dentifrício. Foram utilizados 60 fragmentos de molares humanos com dimensões de 4x4 mm. Após o seccionamento, as amostras foram polidas e lixadas com pastas abrasivas. Um perfilômetro foi utilizado para determinar os valores de rugosidade inicial e a cada 7 dias após o início do clareamento. A técnica clareadora constituiu-se na aplicação do gel por 1 h, semanalmente e os

tratamentos superficiais, por 3 min diariamente. No restante do tempo, as amostras eram armazenadas em saliva artificial. A análise estatística demonstrou diferenças estatísticas significantes relacionadas ao tempo. Os grupos G2 e G3 demonstraram aumento nos valores de rugosidade superficial enquanto que G1 e G4, não apresentaram diferenças. Os autores concluíram que o peróxido de carbamida a 35% não altera a rugosidade superficial do esmalte humano, mas, quando associado ao tratamento superficial com dentifrícios abrasivos, ocorre aumento significativo da rugosidade superficial.

Browning et al.<sup>10</sup> (2004) buscaram determinar a segurança e eficácia de um agente clareador experimental de baixa sensibilidade, uma vez que, a sensibilidade transitória durante o clareamento, é relatada em 67% dos pacientes. Participaram do clareamento 22 pacientes no tempo mínimo de 6h por noite durante duas semanas. O agente clareador utilizado, (produto experimental), apresentava em sua formulação: gel peróxido de carbamida, contendo nitrato de potássio e fluoreto de sódio. As avaliações foram realizadas em 1, 2, 13 e 26 semanas. A mudança de cor foi medida com Escala Vita. A sensibilidade dos dentes, língua e gengiva foi medida diariamente através de anotações realizadas pelos pacientes. Os resultados indicaram que 13,7% dos participantes relataram sensibilidade durante o clareamento. Concluíram que o produto experimental mostrou -se seguro e efetivo, já que os participantes constataram menor sensibilidade durante o clareamento.

Lewinstein et al.<sup>49</sup> (2004) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de dois agentes clareadores de consultório e dois agentes clareadores caseiros, aplicados por diferentes períodos de tempo na dureza do esmalte e da dentina e os efeitos na subsequente imersão em solução de baixa concentração de fluoreto, na dureza do esmalte e dentina clareados. O esmalte e dentina de 12 molares humanos hígidos foram seccionados longitudinalmente, embutidos em resina acrílica e em seguida, divididos em quatro grupos experimentais com n=12. Realizou-

se o teste de microdureza Knoop e em seguida, os espécimes foram armazenados em água destilada durante 1h. O teste de microdureza foi repetido como no grupo controle. Para o clareamento de consultório foram utilizados: Opalescence Xtra (peróxido de hidrogênio 35%) e Opalescence Quick (peróxido de carbamida 35%) respectivamente por 5, 15 ou 35 min. Após o clareamento, a dureza foi testada novamente ao final de cada período de tempo. Para o clareamento caseiro foram utilizados: Opalescence F (peróxido de carbamida 15%) e Opalescence (peróxido de carbamida 10%) posteriormente aplicados por 14h em intervalos de 24h e então testada a dureza. Os espécimes foram imersos em solução fluoreto 0,05% por 5 min e a dureza novamente testada. Concluíram que a técnica de clareamento em consultório reduziu significativamente a dureza quando comparada com a técnica de clareamento caseiro.

Cobankara et al.<sup>16</sup> (2004) avaliaram *in vitro*, os efeitos dos agentes clareadores a base de peróxido de carbamida 10% e 15% na rugosidade de superfície e morfologia do esmalte humano. Noventa incisivos inferiores humanos foram divididos em dois grupos (esmalte e dentina). Os espécimes do grupo dentina foram desgastados para expor a superfície dentinária. As amostras de ambos os grupos foram aleatoriamente divididas em três grupos principais e três subgrupos de acordo com o tempo de aplicação do clareamento. As amostras dos grupos esmalte e dentina foram tratadas com peróxido de carbamida 10% (grupos 1 e 4) e peróxido de carbamida 15% (grupos 2 e 5) e água destilada (grupos 3 e 6). A rugosidade de superfície das amostras foi analisada antes do clareamento, após 4h e após 28h de aplicação do clareamento usando teste de rugosidade computadorizado. A morfologia da superfície dos espécimes tratados e de controle, também foram examinadas por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre

rugosidade de superfície dos espécimes tratados e espécimes de controle.

Collins et al.<sup>17</sup> (2004) estudaram o efeito da aplicação de dois géis (peróxido de carbamida 18% e peróxido de hidrogênio 6%), nos tecidos moles após duas semanas em quatro períodos de avaliação. Foram selecionados 20 pacientes divididos em dois grupos de acordo com a idade. Os participantes foram instruídos a realizar escovação duas vezes ao dia com dentífrício fluoretado e a aplicar o gel na face vestibular nos dentes de canino a canino, superiores e inferiores. As aplicações do gel foram realizadas com intervalo de 30 min entre elas. As mucosas foram examinadas 1 dia antes da aplicação e após 2, 5, 8 e 15 dias. Durante as duas semanas de tratamento, foram observadas 12 casos de reações adversas atribuídas aos produtos testados. Os sintomas foram resolvidos sem necessidade de intervenção médica. Diante da extrapolação do protocolo de tratamento realizado neste estudo, os autores puderam concluir que os produtos testados são seguros quando utilizados dentro de sua indicação.

Luk et al.<sup>50</sup> (2004) observaram o efeito da fotoativação dos peróxidos no clareamento dental através de 250 dentes humanos divididos em 10 grupos (n=10). Os grupos experimentais eram compostos por um gel placebo (controle), peróxido de hidrogênio a 35% e peróxido de carbamida a 10%, sem fotoativação (controle) e fotoativados por luz halógena, infra-vermelho, laser de argônio, dióxido de carbono ou laser CO<sup>2</sup>. As mudanças de cor foram avaliadas imediatamente após um dia e uma semana no período pós- tratamento através de um guia para orientação de tonalidades e um analisador eletrônico de cor dental. As temperaturas da superfície externa do esmalte e interna da dentina foram monitoradas antes e imediatamente após 30s de aplicação da luz através de um termômetro Thermocouple. Os resultados demonstraram que a interação dos agentes clareadores,

com as fontes de ativação resultaram em mudanças na cor e temperatura. A fotoativação melhorou de forma significativa a eficácia do clareamento em alguns agentes; entretanto, esse fator causou aumento de temperatura significativo no exterior e interior da superfície dental. As maiores temperaturas foram encontradas quando utilizados o infra-vermelho e laser CO<sup>2</sup>.

Park et al.<sup>62</sup> (2004) analisaram as mudanças no esmalte bovino após tratamento com o agente clareador peróxido de hidrogênio a 30% em um longo período de exposição. As superfícies vestibulares foram clareadas por 120h e em seguida encaminhadas para análise em microscopia de força atômica e, para análise referente a mudanças na composição e microdureza do esmalte, foram utilizados o FT- Raman e Microdurômetro Vickers. O grupo controle permaneceu armazenado em água destilada. Quanto a composição, os espectros do FT- Raman de ambos os esmaltes, clareados e não clareados, não demonstraram mudanças nos picos remanescentes, exceto por um declínio não significativo de intensidade. Os testes de microdureza demonstraram um declínio significativo após clareamento. Os autores concluíram que o uso do peróxido de hidrogênio para o clareamento dental deve ser monitorado diante dos efeitos resultantes na morfologia e estrutura dental.

Suliman et al.<sup>75</sup> (2004) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, 5 a 35%, no resultado final da técnica de clareamento dental. Foram utilizados terceiros molares, seccionados no sentido vestibulo-lingual. Os espécimes foram manchados com chá, até alcançarem a cor C4 da escala Vita e em seguida submetidos a tratamento clareador com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 5, 10, 15 e 25%. Para cada sessão de clareamento, aplicou-se o gel durante 10min em três repetições, totalizando 30min de contato do gel com a superfície do esmalte. Todos os dentes foram clareados até alcançarem a cor B1 da escala Vita. O

número de sessões das diferentes concentrações dos géis variou, representando dessa forma uma curva exponencial: 12 aplicações necessárias para o gel a 5% para somente uma aplicação do gel a 35%. A utilização de géis com maior concentração de peróxido necessitam de um menor número de sessões para o clareamento de dentes manchados.

Kawamoto & Tsujimoto<sup>42</sup> (2004) estudaram os possíveis mecanismos de clareamento e as conseqüências do peróxido de hidrogênio nos tecidos duros dentários. Foram utilizadas 4 amostras no formato de blocos de dentes humanos. Os blocos dentais ficaram imersos em água destilada e peróxido de hidrogênio e a quantidade de cálcio resultante foi mensurada com o auxílio de um espectrofotômetro de emissão de plasma atômico. A quantidade de cálcio diminuiu de acordo com o tempo e concentração do peróxido. Para avaliação do composto orgânico da dentina foram utilizados raios X de difração. Foi encontrada maior dissolução proporcionalmente a maior concentração do peróxido e tempo de imersão. Como conclusão, os autores relataram que a alta concentração do peróxido aliada a um maior tempo de aplicação foi prejudicial ao componente orgânico da dentina e proporcionou significativa redução de cálcio.

Cesar et al.<sup>14</sup> (2005) estudaram os efeitos de produtos de clareamento associados a irradiação com laser de argônio. As amostras foram seccionadas em quatro partes totalizando 75 espécimes. Após o corte e limpeza, os espécimes foram mantidos em estufa a 37°C até início do procedimento clareador. Os agentes clareadores utilizados foram peróxido de carbamida a 35% (Opalescence Quick) e peróxido de carbamida a 37% (Whiteness Super). O grupo 1 foi separado como controle, G2- exposto a 37% de peróxido de carbamida com ativação com laser de argônio, G3- exposto a 37% de peróxido de carbamida com ativação com lâmpada de luz halógena; G4 e G5 – foram expostos a 35% de peróxido de

carbamida. O tratamento clareador foi realizado durante três semanas. Os espécimes foram submetidos à dureza Vickers e à fotorreflectância. Os resultados demonstraram que o grupo 2 apresentou mais espectros brancos que o grupo 3. Entretanto, os grupos 4 e 5 demonstraram os mesmos resultados, independentemente da diferença de fonte de ativação. Em relação aos agentes clareadores, o Opalescence Quick foi mais eficiente na técnica clareadora. Quanto aos testes de dureza Vickers não houveram diferenças significativas entre os grupos testados.

Sulieman et al.<sup>76</sup> (2005) observaram a penetração do peróxido de hidrogênio 35% em esmalte e dentina e, associaram esta condição a mudança de cor dos dentes. Foram utilizadas 24 coroas de incisivos humanos, manchadas internamente com uma solução de chá. Doze espécimes foram clareados com peróxido de hidrogênio 35% e os outros 12 eram armazenados em água; ambos com tempo de exposição de 30 min. Para a avaliação da cor, utilizaram três métodos: visual, colorímetro e um cronômetro. As leituras da cor foram realizadas antes e depois do manchamento com chá e após os tratamentos com água e gel clareador. Seis espécimes do grupo controle e seis do experimental foram seccionados no sentido mésio-distal para análise da área manchada. Os espécimes clareados e seccionados no sentido mésio-distal mostraram um manchamento de 28 a 39%, enquanto que os seccionados no sentido vestibulo-lingual, 58 a 72%. O grupo controle seccionado nos sentidos vestibulo-lingual ou mésio-distal, apresentou manchamento ao longo de toda dentina nos valores de 97 a 100% e dessa forma puderam concluir que o clareamento realizado com peróxido de hidrogênio 35% apresenta penetração uniforme ao longo da dentina.

Schiavoni et al.<sup>70</sup> (2006), avaliaram os efeitos dos agentes clareadores na permeabilidade do esmalte dental em 75 caninos humanos. Como agentes clareadores foram utilizados os

peróxidos de carbamida nas concentrações de 10, 16, 37% e peróxido de hidrogênio a 35%. O grupo controle permaneceu em saliva artificial. Os agentes clareadores foram aplicados segundo as orientações dos fabricantes durante 21 dias e entre as sessões de clareamento os espécimes eram mantidos na saliva artificial. Em seguida, as amostras foram preparadas para análise histoquímica e através da captação de imagens digitais em um microscópio óptico, a porcentagem da penetração de íons cobre sobre a superfície do esmalte foi calculada. Como resultado, verificou-se que o uso de peróxido de carbamida a 10% e peróxido de hidrogênio a 35% causou maior permeabilidade no esmalte quando comparado ao grupo controle. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas nos grupos PC 10, 16, 37% e PH 35%.

Duschner et al.<sup>21</sup> (2006) estudaram a ação do peróxido de hidrogênio das tiras para clareamento (bleaching strips) na microdureza da superfície e morfologia do esmalte e composição química do esmalte e dentina. Foram utilizados molares inclusos humanos, posteriormente preparados de forma uniforme para realização dos procedimentos clareadores. Os espécimes foram expostos à saliva e temperatura semelhante a cavidade bucal. Para o tratamento clareador foram utilizadas as tiras para clareamento Crest que possuem como princípio ativo o peróxido de hidrogênio nas concentrações de 6,0 e 6,5%. Como grupo controle, foram utilizadas amostras somente armazenadas em água destilada sem nenhum tratamento. A utilização das tiras Crest simulou 2 vezes o protocolo de uso por um período de 28 h, reproduzindo assim o ciclo clínico. A cor foi registrada antes e após o clareamento para verificar a efetividade da técnica. Os efeitos do clareamento nas propriedades físicas do esmalte foram mensurados a partir de testes de microdureza. Já os efeitos ultra- estruturais foram observados através de (CLSM) e SEM. Para análise dos efeitos do clareamento na composição química dos tecidos



dentais, foi utilizado a Espectroscopia FT-Raman. Os resultados demonstraram que as tiras foram efetivas no clareamento das amostras. Os testes de microdureza e SEM demonstraram não existir efeitos prejudiciais à superfície do esmalte. As análises micro-morfológicas de CLMS detectaram confiabilidade no uso das tiras Crest no esmalte, dentina e junção amelo-dentinária. A análise de Espectroscopia FT-Raman, utilizada para verificar composição química dos tecidos dentários esmalte e dentina, não demonstrou mudanças estruturais significativas após a realização do clareamento dental. Os autores concluíram que o clareamento com as tiras Crest não produziram mudanças na histomorfologia da superfície e sub-superfície, ou na microdureza e ultraestrutura de dentes tratados. A técnica também demonstrou confiabilidade a partir dos registros de Espectroscopia FT-Raman.

### 3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste trabalho foram:

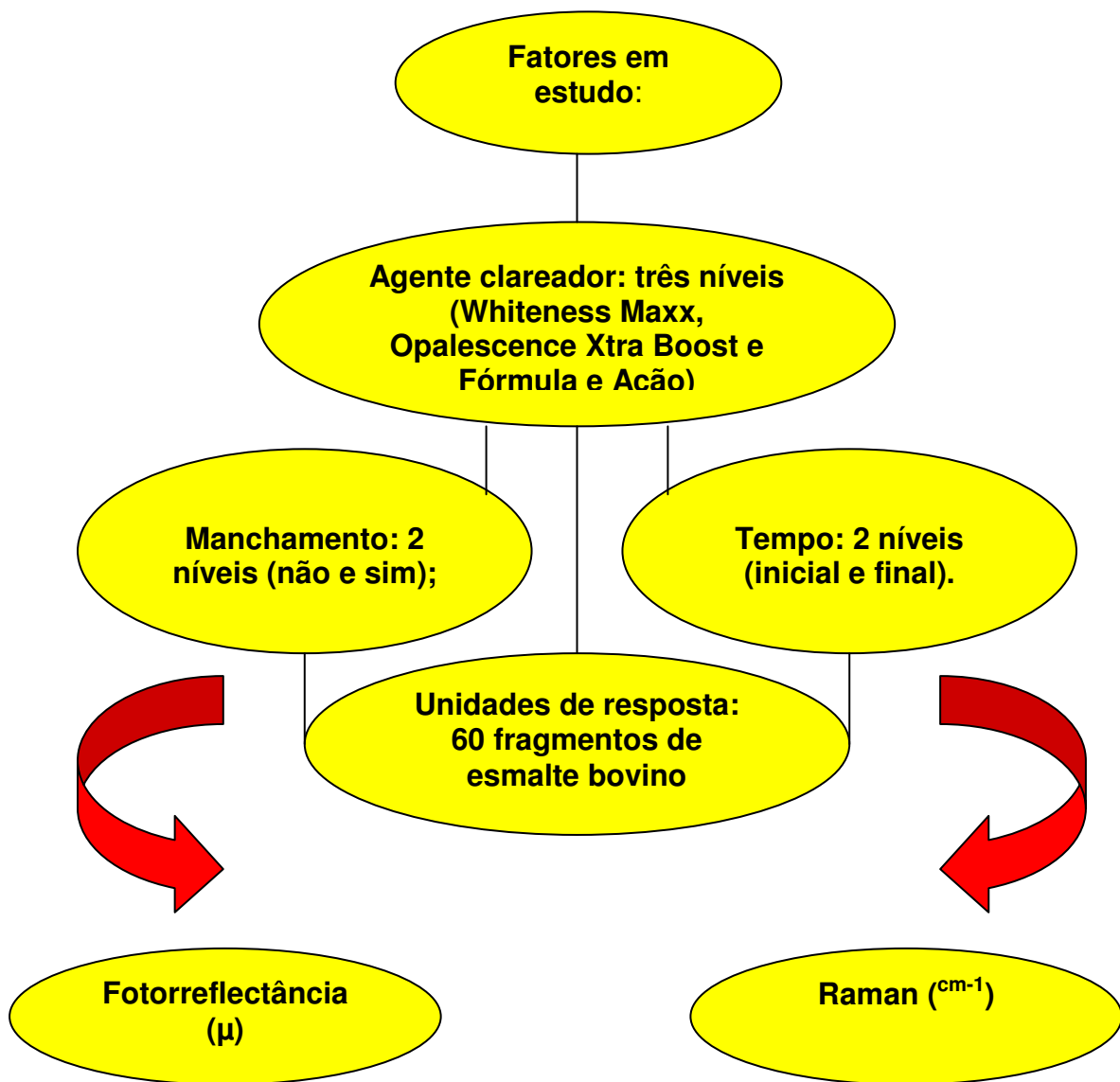
- a) analisar, através da fotorreflectância, as alterações de cor do esmalte dental após o clareamento com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 35 e 38% ;
- b) analisar, através da fotorreflectância, as alterações de cor do esmalte dental após a imersão em refrigerante à base de cola e clareamento com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 35 e 38% ;
- c) avaliar a composição mineral do esmalte após o clareamento dental utilizando espectroscopia FT-Raman;
- d) avaliar a composição mineral do esmalte após a imersão em refrigerante à base de cola e clareamento com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 35 e 38% utilizando espectroscopia FT- Raman.

## **4 MATERIAL E MÉTODO**

### **4.1 Delineamento experimental**

O presente estudo teve como propósito avaliar a mudança de cor, a diferença do tempo de clareamento e a susceptibilidade ao manchamento em fragmentos dentais bovinos. Foram analisadas também, as alterações morfológicas e minerais do esmalte, submetido ou não à imersão em refrigerante à base de cola e após o protocolo de clareamento dental dos espécimes conforme Figura 1.

O agente clareador utilizado foi o peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações, 35 e 38%, nas marcas comerciais (Whiteness HP Maxx – FGM; Opalescence Xtra Boost - ULTRADENT; gel clareador manipulado, Fórmula & Ação, Farmácia de manipulação). Como agente pigmentante utilizou-se a Coca-Cola Light Lemon. Foram utilizados 60 fragmentos dentais bovinos, divididos em 6 grupos (n= 10) e distribuídos aleatoriamente, conforme o Quadro 1.



**Figura 1-** Esquema ilustrativo do delineamento experimental

**Quadro 1** – Divisão dos grupos experimentais

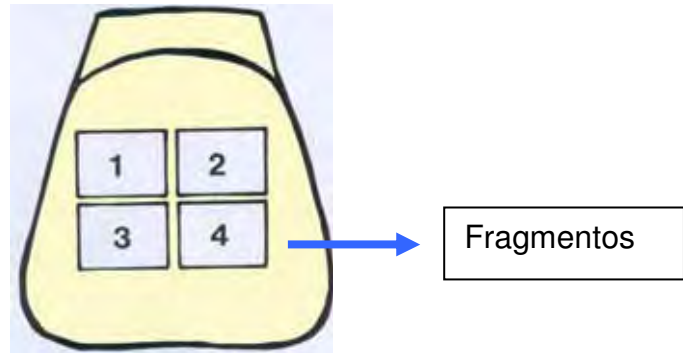
<b>GRUPOS EXPERIMENTAIS</b>	<b>IMERSÃO EM REFRIGERANTE (Coca-Cola Light Lemon)</b>	<b>AGENTE CLAREADOR</b>
<b>Grupo 1</b>	sim	PH 35% Whiteness Maxx
<b>Grupo 2</b>	não	PH 35% Whiteness Maxx
<b>Grupo 3</b>	Sim	PH 38% Opalescence Xtra Boost
<b>Grupo 4</b>	Não	PH 38% Opalescence Xtra Boost
<b>Grupo 5</b>	sim	PH 35% Whiteform
<b>Grupo 6</b>	não	PH 35% Whiteform

#### **4.2 Preparo dos espécimes**

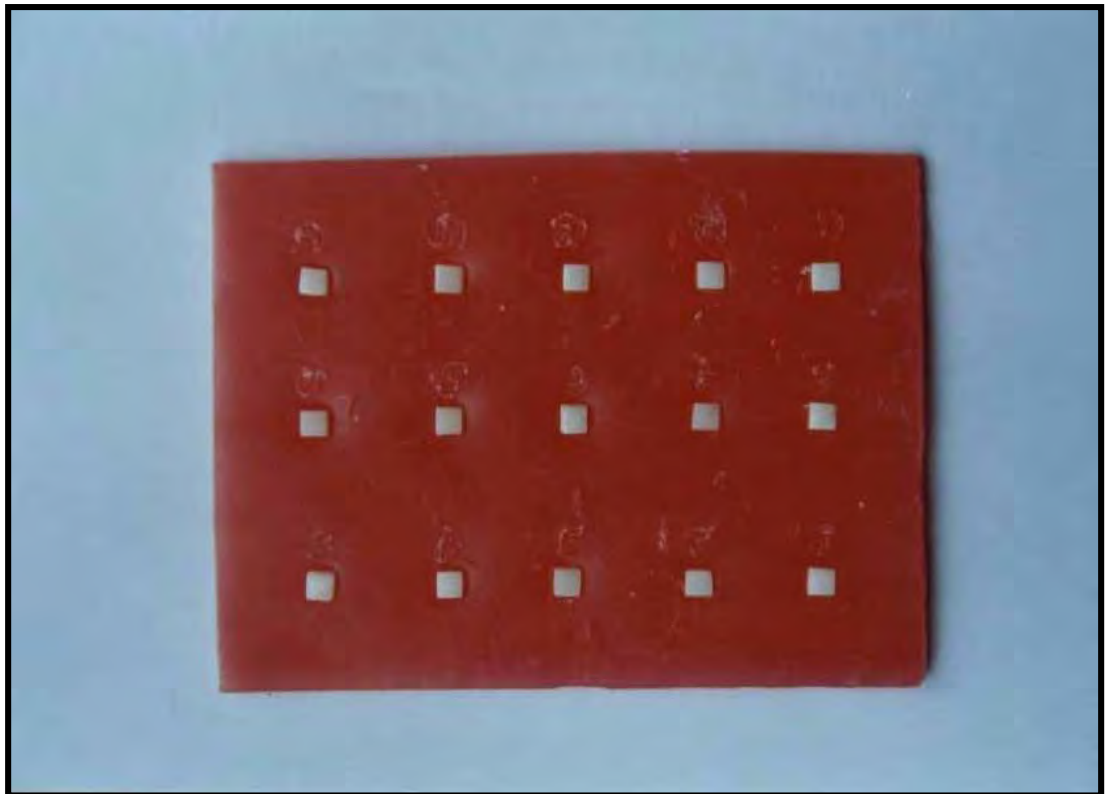
Foram utilizados 50 dentes incisivos bovinos, provenientes do mesmo lote de animais, para que houvesse segurança quanto ao tipo de alimentação recebida pelos mesmos e ao grau de calcificação de seus

dentes. Após a exodontia, os dentes permaneceram armazenados em água destilada até os procedimentos de limpeza. Após a desinfecção (timol 0,1%), os dentes foram submetidos à raspagem manual com cureta periodontal número 11-12 (Hu Fridedy - USA) e jatos de bicarbonato de sódio e água para remoção de restos orgânicos. Em seguida, foram examinados sob lupa estereomicroscópica (Stemi 2000-C – Carl Zeiss Jena) com aumento de 4X, para verificação da presença de linhas de fratura e trincas, que eventualmente poderiam ter influência nos resultados deste estudo. Os dentes permaneceram armazenados em recipientes fechados contendo água destilada sob refrigeração (Brastemp, 15°C) até o momento da sua utilização.

As raízes dos dentes foram removidas com o auxílio da cortadeira de baixa velocidade com disco diamantado (LABCUT 1010, EXTEC Corp). As faces proximais (mesiais e distais), incisal e cervical foram descartadas com o propósito de obtenção de uma superfície mais plana e regular. As coroas dentárias foram então divididas em quatro partes, obtendo-se assim o formato aproximado de um cubo (Figura 2). As faces proximais e a região correspondente a face lingual do cubo sofreram desgastes com lixa de carbureto de silício de granulação #600 e óxido de alumínio de granulação #1200, em politriz (DP10 - Panambra) sob refrigeração com água, obtendo-se fragmentos com dimensões de 4 x 4mm de comprimento e largura e 4mm de espessura (Figura 3), verificados com auxílio de um paquímetro digital (Digimess, Brasil Hobby, Rio de Janeiro, Brasil). O esmalte presente na região vestibular permaneceu intacto. Os espécimes permaneceram armazenados em água destilada em estufa a 37°C antes do início do tratamento clareador; em seguida, foram mantidos individualmente, em recipientes contendo 2 ml de saliva artificial (Byofórmula, Farmácia de Manipulação, São José dos Campos, SP), também em estufa a 37°C (Figura 4). A saliva foi trocada a cada 24h.



**Figura 2:** Esquema de obtenção dos fragmentos



**Figura 3:** Espécimes nas dimensões de 4 x 4 x 4 mm



**Figura 4-** Armazenamento individualizado das amostras em saliva artificial

### **4.3 Imersão dos espécimes**

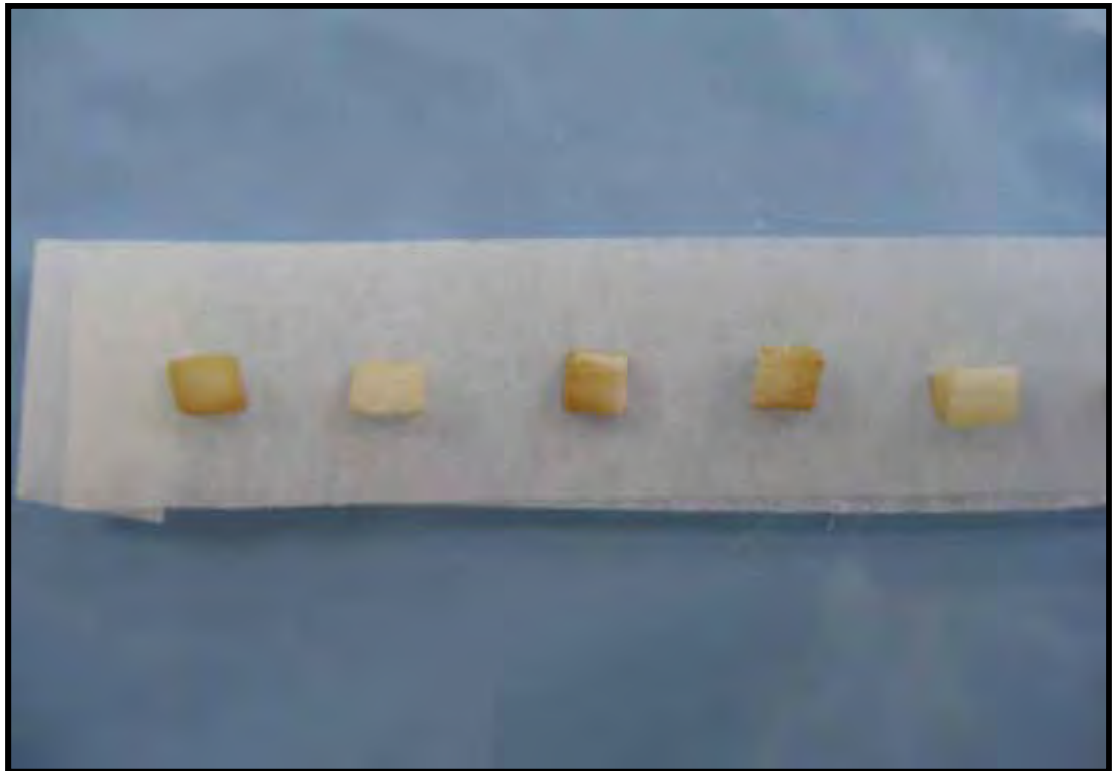
A pigmentação dos grupos G1, G3 e G5 foi realizada por meio de imersão dos espécimes em Coca-Cola Light Lemon em latas de 350ml (Figura 5). Previamente à imersão no refrigerante, a superfície do esmalte foi protegida com uma fita dupla face adesiva (3M, Brasil) e as superfícies expostas (faces mesiais, distais e linguais) impermeabilizadas com esmalte de unha incolor (Monangè, Barueri-SP). Foram realizadas duas aplicações do esmalte, sendo a segunda realizada após 24h para que ocorresse completa secagem da primeira camada. A fita adesiva foi retirada e na superfície vestibular realizou-se uma limpeza com gaze umedecida. A face vestibular representada pelo esmalte, não sofreu impermeabilização.



Após a impermeabilização dos espécimes, os mesmos foram submetidos à pigmentação através da imersão no refrigerante Coca-Cola Light Lemon na quantidade de 2ml por espécime, padronizados pela utilização de uma seringa hipodérmica de vidro (Yale Becton Dickinson, Brasil). Os espécimes permaneceram imersos no refrigerante por 10min durante dez dias. Imediatamente após sua retirada do refrigerante, os espécimes foram lavados em água corrente por 10s e retornavam para recipientes individualizados contendo 2ml de saliva artificial. Ao término dos dez dias, os espécimes foram encaminhados para os registros das análises de Fotorreflectância e Espectroscopia FT Raman, e início do tratamento clareador (Figura 6).



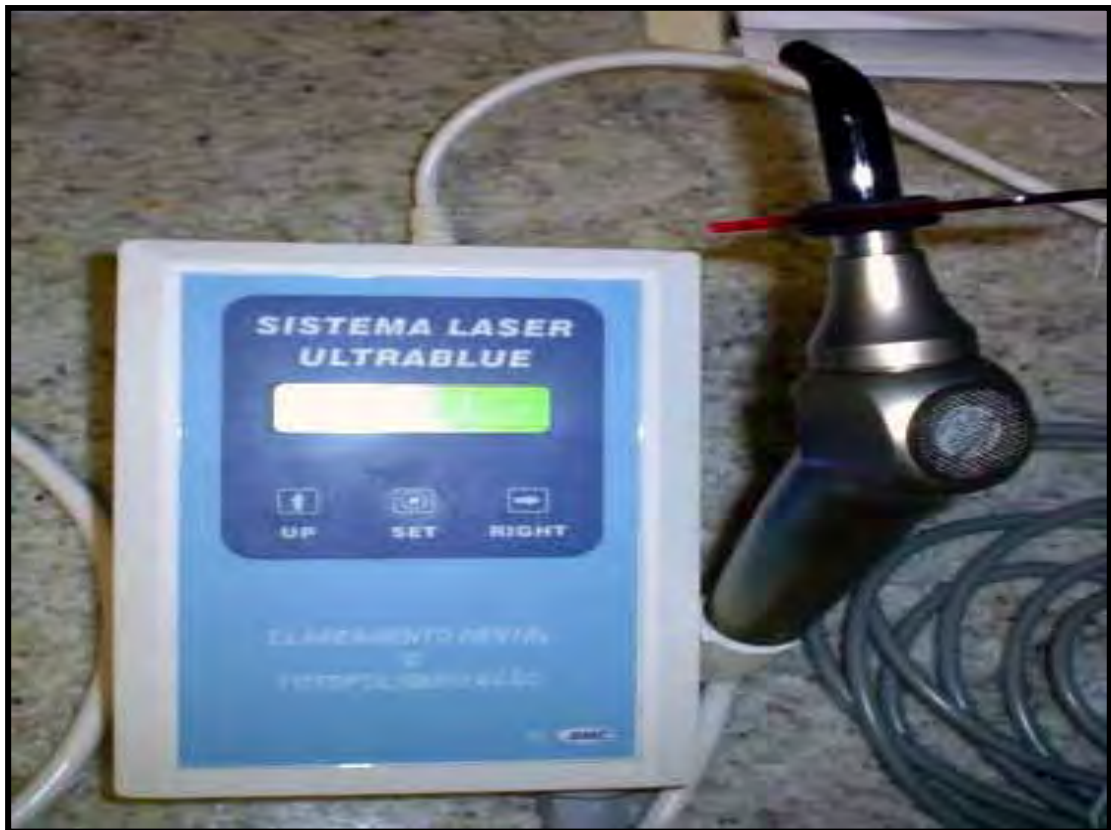
**Figura 5** – Refrigerante Coca-Cola Ligth Lemon



**Figura 6** - Espécimes após imersão em Coca-Cola Light Lemon

#### **4.4 Protocolo de Clareamento Dental**

Os espécimes foram fixados em uma placa de vidro com fita adesiva dupla face (3M), para impedir o seu deslocamento e dessa forma, facilitar a manipulação e inserção do material. Os agentes clareadores foram manipulados nas proporções recomendadas pelos fabricantes e, uma camada de aproximadamente 1mm era aplicada sobre a superfície dos espécimes através da utilização de uma seringa hipodérmica de vidro (Yale Becton Dickinson, Brasil). Para fotoativação dos géis utilizou-se o sistema Led/ Laser Ultrablue, DMC com comprimento de onda de 470nm. (Figura 7).



**Figura 7** – Sistema Led/Laser Ultrablue – DMC

Para o agente clareador Opalescence Xtra Boost (Figura 8), o gel era aplicado na espessura de aproximadamente 1mm em cada espécime através do uso de uma seringa hipodérmica (Yale Becton Dickinson, Brasil). Foram aguardados 5min, e em seguida, realizada a agitação do gel, utilizando um *microbrush* (Dentsply-Brasil), aguardando-se mais 10min. Posteriormente, o gel era removido com gaze e mais duas aplicações foram realizadas. Os fragmentos foram lavados e armazenados em saliva artificial, em estufa a 37°C por 7 dias para realização da primeira leitura pós-clareamento. Foi realizada mais uma aplicação conforme a descrição anterior, seguida de armazenamento dos espécimes para a segunda leitura pós – clareamento (14 dias).



**Figura 8-** Agente clareador Opalescence Xtra Boost – Ultradent, PH 38%

Para o agente clareador Whiteness HP Maxx (Figura 9), 9 gotas de peróxido de hidrogênio foram misturadas à 3 gotas de espessante, em seguida aplicadas em todos os espécimes na espessura de aproximadamente 1 mm através do uso de uma seringa hipodérmica (Yale Becton Dickinson, Brasil). Em seguida, foi realizada a ativação por 20s através do uso do sistema Led/ Ultrablue (DMC), seguida de agitação utilizando-se um *microbrush* (Dentsply-Brasil). Nova ativação por mais 20s, nova agitação, espera de 2min, nova agitação e espera de mais 8min, totalizando assim, uma ativação de 40s e permanência do gel por mais 10min por espécime. Posteriormente, o gel era removido com gaze e mais duas aplicações foram realizadas. Os espécimes foram lavados e armazenados em saliva artificial, em estufa a 37°C por 7 dias para realização da primeira leitura pós-clareamento. Foi realizada mais uma

aplicação conforme a descrição anterior, seguida de armazenamento dos espécimes para a segunda leitura pós – clareamento (14 dias).



**Figura 9-** Agente clareador Whiteness HP Maxx – FGM, PH 35%

Para o agente clareador manipulado em farmácia Whiteform (Figura 10), o gel foi aplicado, seguido da fotoativação pelo sistema Led/ Laser Ultrablue (DMC) por 20s em cada espécime na espessura de aproximadamente 1mm através do uso de uma seringa hipodérmica (Yale Becton Dickinson, Brasil). Foram aguardados 5min, e em seguida, realizada a agitação do gel, utilizando um *microbrush* (Dentsply-Brasil), aguardando-se mais 10min. Posteriormente, o gel era removido com gaze e mais duas aplicações foram realizadas. Os espécimes foram lavados e armazenados em saliva artificial, em estufa a 37°C por 7 dias para realização da primeira leitura pós-clareamento. Foi realizada mais uma aplicação conforme a descrição anterior, seguida de

armazenamento dos espécimes para a segunda leitura pós – clareamento (14 dias).



**Figura 10-** Agente clareador manipulado – Fórmula e Ação, PH 35%

#### **4.5 Análise de fotorreflectância**

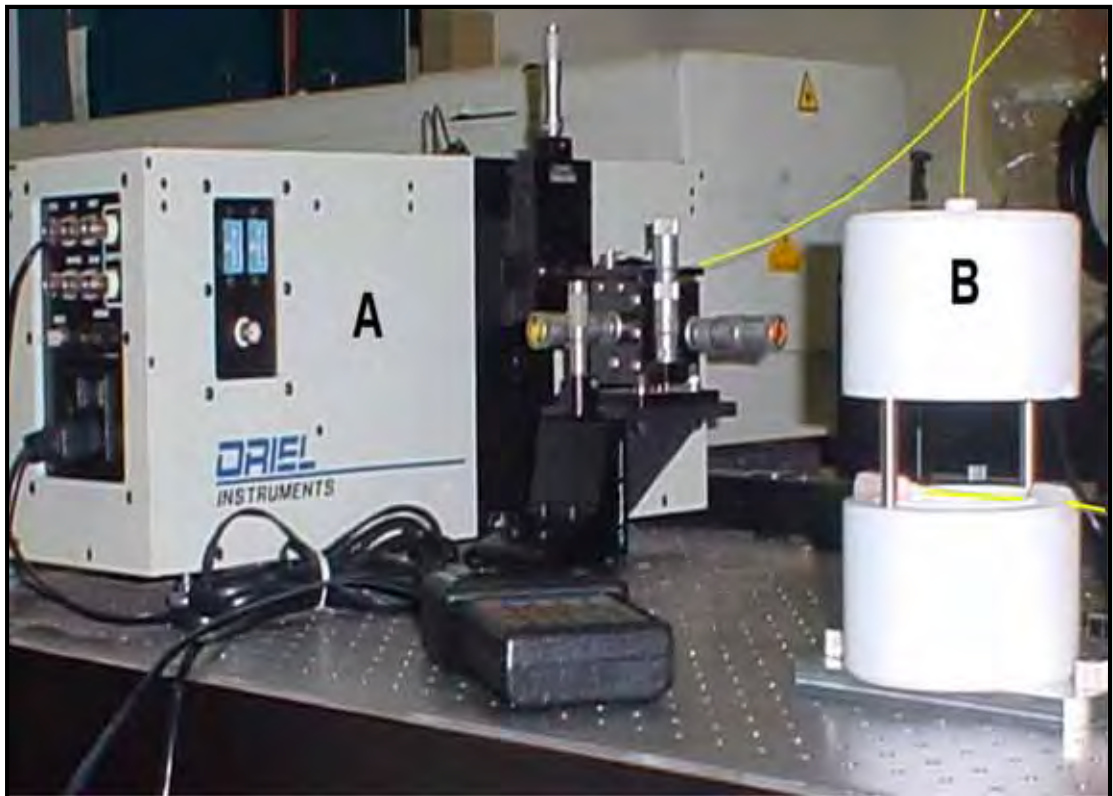
Os espécimes, previamente ao procedimento de clareamento, foram posicionadas em um sistema de fotorreflectância (Figuras 11, 12 e 13) para se obter a leitura inicial, o que representou o grupo controle dos grupos experimentais. Após a segunda sessão de clareamento (14 dias), foi realizada a leitura de fotorreflectância e esta anotada para posterior tabulação. Para isso, foi utilizado um sistema de análise composto por um espectrômetro, uma esfera integradora de Teflon™, uma lâmpada halógena (ROI - Ram Optical Instrumentation -

modelo 150 Illuminator) como fonte de luz branca, duas fibras ópticas e um computador (Figura 11 e Figura 12). A luz halógena foi acoplada a uma fibra óptica de 600 $\mu$ m de diâmetro (Fiberguide Ind. – Superguide G fiber SFS 600/660T) incidindo sobre cada amostra dentro da esfera integradora a uma distância de 3mm (Figura 13). A potência de luz branca medida na extremidade desta fibra de excitação foi de 4mW. A radiação espalhada pela amostra foi captada por uma fibra óptica de 600  $\mu$ m de diâmetro, acoplada a um espectrômetro (Oriel Instruments – modelo 77702, grade de difração de 300 linhas/mm) e transferida deste para o computador para visualização dos gráficos.

Antes da captura do espectro, o sistema foi calibrado quanto ao comprimento de onda, irradiando-se sobre a esfera integradora o feixe do laser de He-Ne vermelho (632,8nm), amarelo (594nm) e a lâmpada de mercúrio do ambiente (435,8nm e 546,1nm). Para minimizar erros de medida provenientes de eventuais instabilidades instrumentais, o sinal de background, bem como o sinal de referência proveniente do corpo branco padrão (Teflon<sup>TM</sup>), eram captados antes das medidas e a cada 10min.

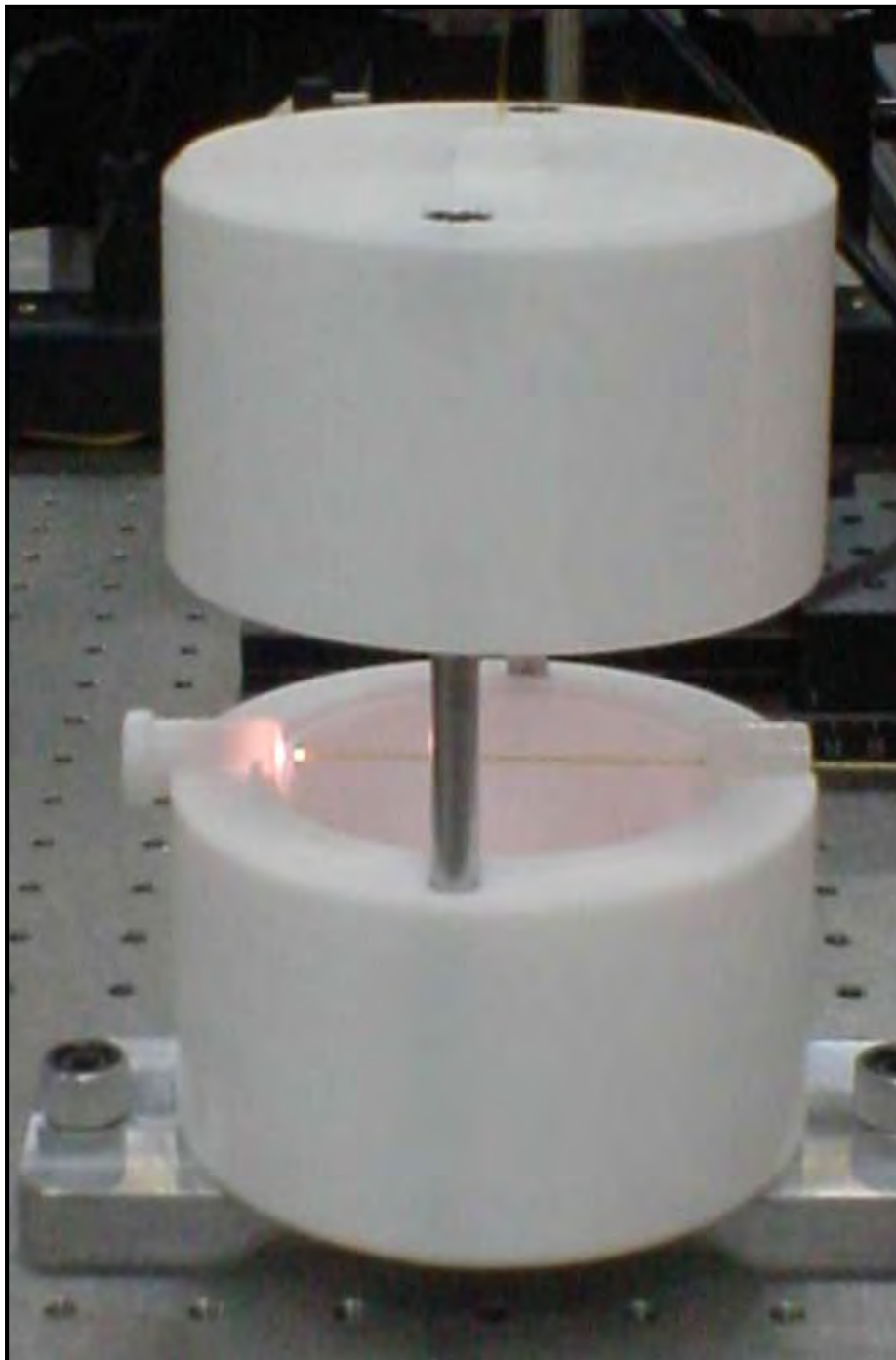
Os sinais foram analisados no programa *Microcal Origin6.0<sup>TM</sup>*, observando-se o formato da curva espectral e a área sob a curva.



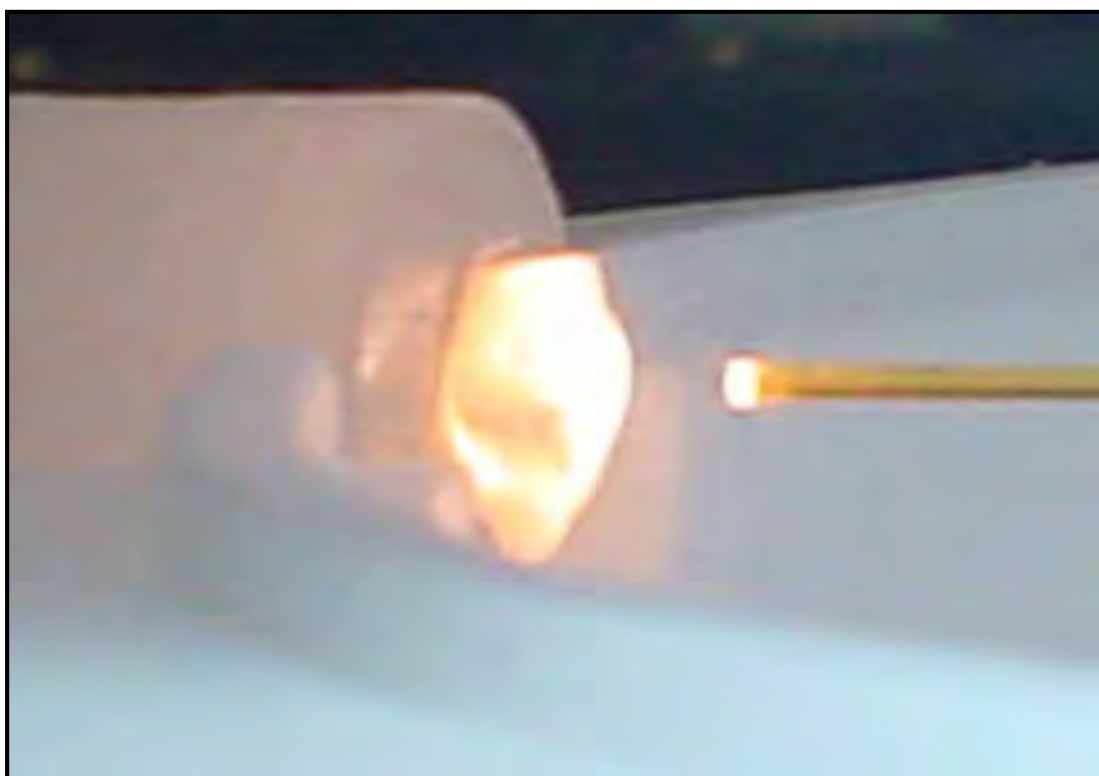


**Figura 11** – Sistema completo de Fotorrefletância: (A) Espectrômetro;  
(B) Esfera integradora





**Figura 12-** Esfera integradora do sistema de Fotorreflectância



**Figura 13-** Espécime posicionado para registros de Fotorreflectância

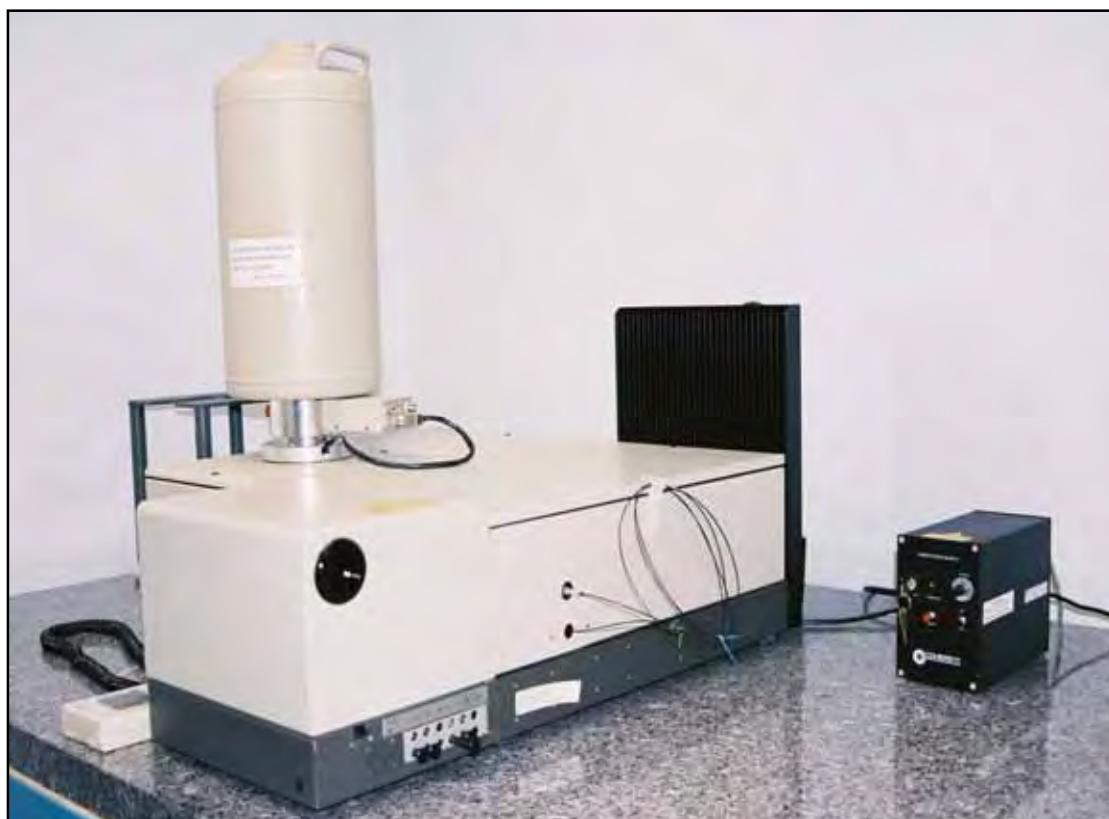
#### **4.6 Análise da composição mineral através do sistema de Espectroscopia FT- Raman**

Foi realizada uma leitura inicial prévia a realização do tratamento clareador (grupo controle). Nova leitura foi realizada após a imersão dos espécimes em Coca-Cola Light Lemon. Após o tratamento clareador, os espécimes foram submetidos à leitura do sistema de Espectroscopia FT-Raman para avaliar suas vibrações moleculares e verificar a estrutura mineral do esmalte.

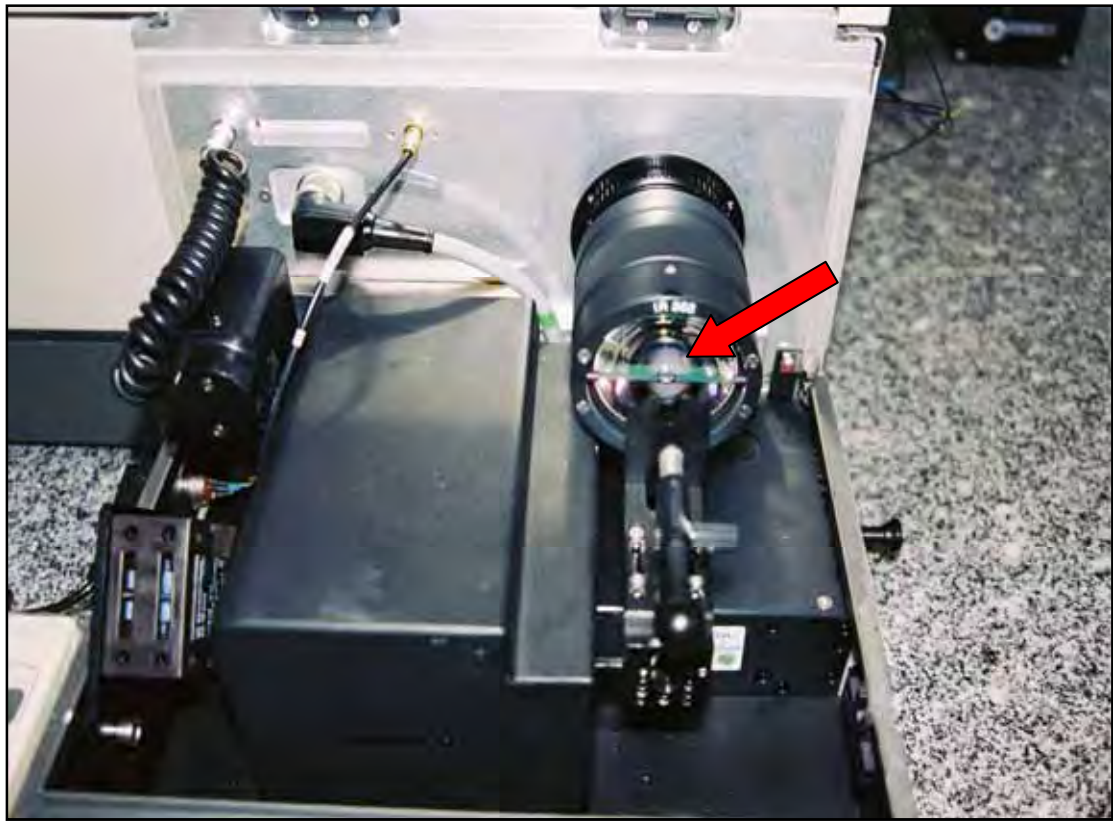
Os espectros dos espécimes dos grupos experimentais foram obtidos utilizando-se um Espectrômetro FT-Raman (RFS 100/S<sup>®</sup> – Bruker Inc., Karlsruhe, Germany) (Figura 14). Foi utilizado, para excitar o espectro, um laser de Nd:YAG com comprimento de onda em 1064.1nm. A potência máxima incidente sobre o espécime foi de 230mW, com uma resolução espectral de 4cm<sup>-1</sup>. Em seguida, as amostras foram

posicionadas em um porta-amostras com movimentação mecânica nos eixos X, Y e Z (Figura 15). O espectro FT-Raman dos espécimes foi gerado utilizando-se 100 *scans*. Para cada espécime, os espectros foram obtidos em apenas um ponto na superfície do esmalte e os picos analisados foram os correspondentes aos módulos vibracionais do fosfato (430, 451, 587, 615) e carbonato (1030, 1044, 1070 e 1102  $\text{cm}^{-1}$ ).

Após a aquisição dos espectros, realizou-se a remoção da fluorescência e correção da linha de base através do programa Microcal Origin 6.0<sup>®</sup> para cada espectro medido. Em seguida, a banda de interesse referente à ligação C-H foi analisada com deslocamento Raman em 2933 $\text{cm}^{-1}$ . A área relativa desta banda de interesse foi calculada pelo programa Microcal Origin 6.0<sup>®</sup> através do ajuste de curva desta banda a partir da forma Gaussiana, observando-se o comportamento do esmalte diante de diferentes agentes clareadores e de um refrigerante à base de cola.



**Figura 14-** Espectrômetro FT-Raman



**Figura 15-** Compartimento dos espécimes em porta-amostras com movimentação mecânica nos eixos X, Y e Z

Após a obtenção dos espectros gerados pela Fotorreflectância e Espectroscopia FT- Raman, foram realizados, respectivamente, os cálculos referentes a área da curva e a área dos picos, com o intuito de gerar dados numéricos posteriormente encaminhados para a análise estatística.

#### **4.7 Análise Estatística**

Inicialmente, foi realizada a análise exploratória dos dados no programa estatístico SAS 8.0 para determinar a adequação dos valores de Reflectância e Raman aos parâmetros da Análise de Variância (ANEXO 1). Os dados do Raman precisaram ser transformados no seu inverso para realização da análise estatística.

Para ambas as variáveis de resposta, foi aplicada Análise de Variância (ANOVA) em esquema de parcela subdividida, sendo a parcela representada pelo fatorial “agente clareador” x “imersão” (3 x 2) e a subparcela representada pelo “tempo”. Verificada significância estatística, utilizou-se o teste de Tukey para comparações múltiplas entre as médias.

Para cada agente clareador, um tratamento adicional foi analisado pela ANOVA / teste de Dunnett: o momento após imersão e antes do clareamento.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se os programas estatísticos SAS versão 8.0 e SANEST, com nível de significância ( $\alpha$ ) fixado em 5%. A análise estatística completa está apresentada no ANEXO 2.

## 5 RESULTADOS

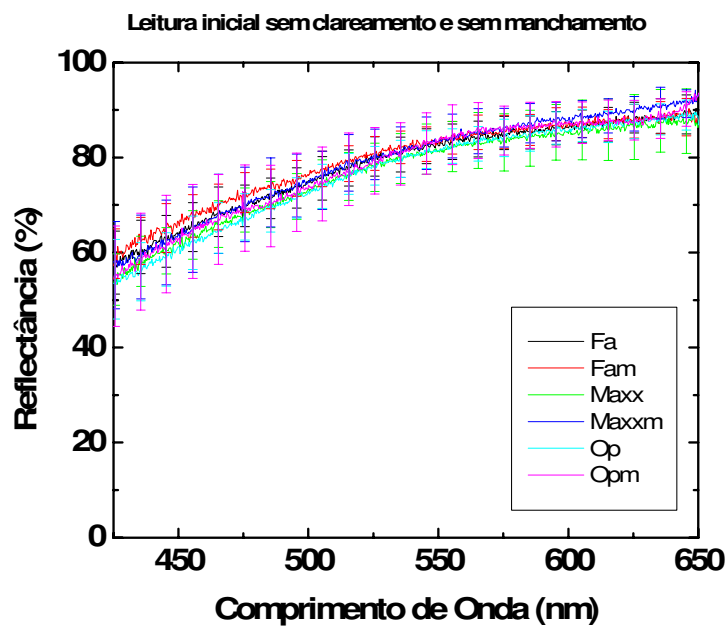
### 5.1 Análise de Reflectância

Os valores obtidos na análise de reflectância estão apresentados na Tabela 1 e Figuras 16, 17 e 18. O aumento no valor de fotorreflectância indica o clareamento das unidades experimentais.

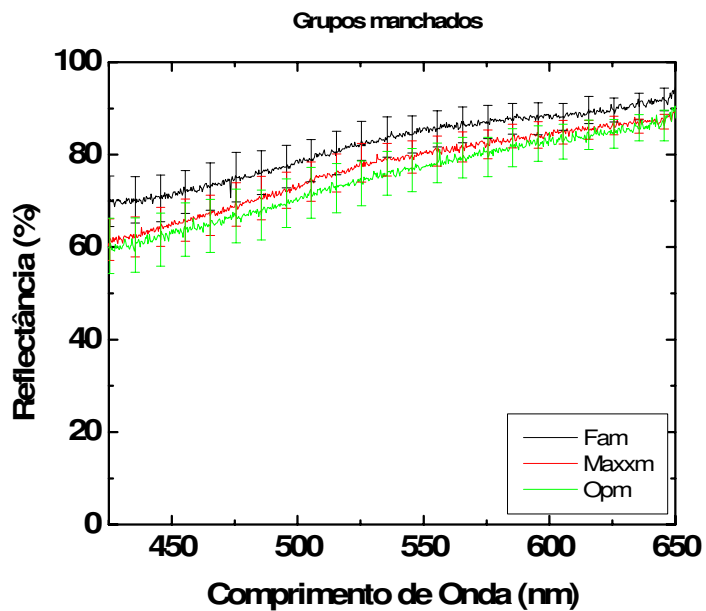
**Tabela 1** – Média (desvio-padrão) da reflectância obtida nos grupos experimentais

<b>Agente</b>	<b>Imersão em</b>	<b>Tempo</b>		
		<b>Inicial</b>	<b>Após imersão</b>	<b>Após clareamento</b>
<b>Fa</b>	<b>Não</b>	17833,66 (776,38)	-	19964,71 (314,08)
	<b>Sim</b>	18305,33 (533,76)	16836,80 (532,42)	19830,53 (606,82)
<b>Maxx</b>	<b>Não</b>	17576,26 (876,58)	-	20585,46 (825,91)
	<b>Sim</b>	18528,53 (642,37)	17105,36 (573,40)	19448,21 (962,68)
<b>Op</b>	<b>Não</b>	17433,61 (875,13)	-	20350,42 (658,77)
	<b>Sim</b>	18288,47 (1019,83)	16708,53 (470,77)	20418,05 (811,78)

Fa- agente clareador manipulado Fórmula e Ação 35%  
Maxx- agente clareador Whiteness HP Maxx 35%  
Op- agente clareador Opalescence Xtra Boost 38%

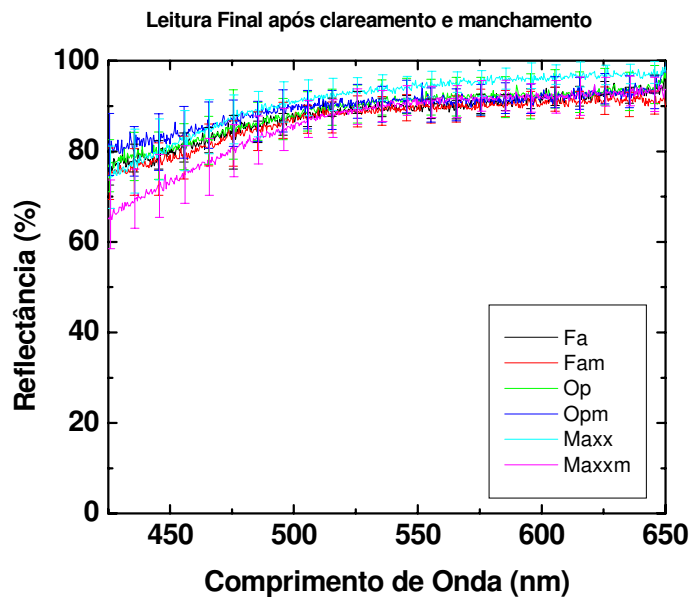


**Figura 16-** Espectro de reflectância representando a leitura inicial dos Grupos Experimentais



**Figura 17-** Espectro de reflectância representando a leitura intermediária dos Grupos Experimentais manchados





**Figura 18-** Espectro de reflectância representando a leitura final dos Grupos Experimentais

Por meio da Análise de Variância em esquema de parcela subdividida foi avaliado o efeito dos fatores “agente clareador”, “imersão” e “tempo” separadamente, e as interações entre eles.

Os resultados da Análise de Variância apontaram significância estatística para a interação entre os fatores “imersão” e “tempo” ( $p=0,0005$ ). Porém, as demais interações entre os fatores estudados não foram estatisticamente significativas ( $p>0,05$ ). Nenhuma diferença estatística foi encontrada no fator “agente clareador” ( $p=0,63$ ).

A interação significativa (“imersão” x “tempo”) foi desdobrada utilizando-se o teste de Tukey para indicar as diferenças encontradas (Tabela 2). A reflectância dos agentes clareadores foi significativamente maior após o clareamento. No período inicial, o grupo não submetido à imersão encontrava-se mais escuro. Após o clareamento, os grupos demonstraram reflectância semelhante.

**Tabela 2** – Média (desvio-padrão) da reflectância em função da imersão e tempo. Os dados dos agentes clareadores foram agrupados

Imersão	Tempo	
	Inicial	Após clareamento
<b>Não</b>	17614,51 (831,60) Bb	20300,19 (666,88) Aa
<b>Sim</b>	18374,11 (742,72) Ab	19898,93 (878,06) Aa

Médias seguidas de letras distintas representam significância estatística pelo teste de Tukey,  $\alpha=5\%$  (minúsculas comparam períodos de tempo dentro de cada manchamento e maiúsculas comparam imersões dentro de cada tempo). Coeficiente de variação: 4,53%.

Posteriormente, o teste de Dunnett foi utilizado com o objetivo de comparar o período após imersão aos demais períodos, para cada agente clareador (Tabela 3). A leitura de reflectância demonstrou que as unidades experimentais encontravam-se significativamente mais escuras no período após imersão, para todos os agentes clareadores.

**Tabela 3** – Média (desvio-padrão) da reflectância dos grupos submetidos a imersão nos três períodos experimentais

Agente Clareador	Tempo		
	Inicial	Após imersão	Após clareamento
<b>Fa</b>	18305,33 (533,76) *	16836,80 (532,42)	19830,53 (606,82) *
<b>Maxx</b>	18528,53 (642,37) *	17105,36 (573,40)	19448,21 (962,68) *
<b>Op</b>	18288,47 (1019,83) *	16708,53 (470,77)	20418,05 (811,78) *

Médias seguidas de asteriscos (\*) representam períodos significativamente diferentes do período após manchamento (ANOVA/Dunnett,  $p<0,0001$ ).

## 5.2 Análise de Raman

Os valores obtidos na análise de Raman estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** – Média (desvio-padrão) de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) obtida nos grupos experimentais

Agente Clareador	Imersão	Tempo		
		Inicial	Após imersão	Após clareamento
Fa	Não	6,04 (0,32)	-	6,32 (0,60)
	Sim	6,00 (0,37)	5,82 (0,33)	6,20 (0,52)
Maxx	Não	6,51 (0,85)	-	6,37 (0,58)
	Sim	5,69 (0,27)	5,78 (0,40)	5,91 (0,28)
Op	Não	5,85 (0,36)	-	5,68 (0,47)
	Sim	5,99 (0,58)	5,59 (0,49)	5,81 (0,60)

Fa- agente clareador manipulado Fórmula e Ação 35%

Maxx- agente clareador Whiteness HP Maxx 35%

Op- agente clareador Opalescence Xtra Boost 38%

A Análise de Variância em esquema de parcela subdividida avaliou o efeito dos fatores “agente clareador”, “imersão” e “tempo” separadamente, e as interações entre eles.

Os resultados da Análise de Variância apontaram significância estatística para as interações entre “agente clareador” e “imersão” ( $p=0,03$ ) e entre “agente clareador” e “tempo” ( $p=0,04$ ). As demais interações entre os fatores estudados não foram estatisticamente significativas ( $p>0,05$ ).

As interações significativas (“agente clareador” x “imersão” e “agente clareador” x “tempo”) foram desdobradas utilizando-se o teste de Tukey para indicar as diferenças encontradas (Tabelas 5 e 6).

**Tabela 5** – Média (desvio-padrão) de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) em função do agente clareador e do imersão. Os dados dos períodos de tempo foram agrupados

Agente Clareador	Imersão	
	Não	Sim
<b>Fa</b>	6,18 (0,49) Aa	6,10 (0,45) Aa
<b>Maxx</b>	6,44 (0,72) Aa	5,80 (0,29) Ab
<b>Op</b>	5,76 (0,42) Ba	5,90 (0,58) Ba

Médias seguidas de letras distintas representam significância estatística pelo teste de Tukey,  $\alpha=5\%$  (minúsculas comparam imersões dentro de cada agente clareador e maiúsculas comparam agentes clareadores dentro de cada imersão). Coeficiente de variação: 5,63%.

O valor de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) do agente clareador Maxx foi significativamente maior no grupo não submetido a imersão. Após o imersão, o agente clareador Maxx apresentou menor deslocamento Raman quando comparado aos outros agentes. Os demais clareadores não mostraram diferenças entre grupos submetidos ou não à imersão em refrigerante. O agente clareador Op demonstrou menor valor do deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) comparado aos outros agentes quando submetido ou não à imersão.

**Tabela 6** – Média (desvio-padrão) de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) em função do agente clareador e do tempo. Os dados da imersão foram agrupados

Agente Clareador	Tempo	
	Inicial	Final
<b>Fa</b>	6,02 (0,34) Aa	6,26(0,55) Aa
<b>Maxx</b>	6,10 (0,75) Aa	6,14 (0,50) Aa
<b>Op</b>	5,92 (0,47) Aa	5,72 (0,53) Bb

Médias seguidas de letras distintas representam significância estatística pelo teste de Tukey,  $\alpha=5\%$  (minúsculas comparam períodos de tempo dentro de cada agente clareador e maiúsculas comparam agentes clareadores dentro de cada tempo).

Coeficiente de variação: 5,63%.

O valor de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) do agente clareador Op foi significativamente menor após o clareamento. Para os demais agentes, não foi observada diferença entre período inicial e final. No período inicial, os grupos demonstraram valor de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) semelhante. Após o clareamento, o grupo Op demonstrou menor média.

Posteriormente, o teste de Dunnett foi utilizado com o objetivo de comparar o período após imersão aos demais períodos, para cada agente clareador (Tabela 7). O período após imersão não foi diferente dos outros períodos, em nenhum agente clareador.

**Tabela 7** – Média (desvio-padrão) de deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) dos grupos submetidos à imersão, nos três períodos experimentais

<b>Agente</b>	<b>Tempo</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Após imersão</b>	<b>Após clareamento</b>
<b>Clareador</b>			
<b>Fa</b>	6,00 (0,37)	5,82 (0,33)	6,2 (0,52)
<b>Maxx</b>	5,69 (0,27)	5,78 (0,40)	5,91 (0,28)
<b>Op</b>	5,99 (0,58)	5,59 (0,49)	5,81 (0,60)

Médias seguidas de asteriscos (\*) representam períodos significativamente diferentes do período após imersão (ANOVA/Dunnett,  $p > 0,05$ ).

## 6 DISCUSSÃO

Muitas são as opções para o tratamento estético das manchas e descolorações dentais como a confecção de facetas cerâmicas e resinosas ou coroas totais; entretanto, a técnica de clareamento dental destaca-se por ser um tratamento simples, não invasivo, seguro e com custo relativamente baixo. Essas vantagens, aliadas ao não desgaste dos tecidos dentais, justificam a utilização da técnica em larga escala nos dias atuais (HAYWOOD & HEYMANN<sup>30</sup>, 1989; HAYWOOD<sup>32</sup>, 1991; HAYWOOD et al.<sup>31</sup>, 1991; HAYWOOD<sup>33</sup>, 1992; BARATIERI et al.<sup>4</sup>, 1993; HAYWOOD<sup>35</sup>, 1997; TAMES et al.<sup>77</sup> 1998; PIMENTA & PIMENTA<sup>64</sup>, 1998).

Os agentes clareadores estão representados pelo grupo dos peróxidos, subdividido em hidrogênio e carbamida, em diferentes concentrações, o que está diretamente relacionado a técnica de escolha: caseira ou aplicação profissional. Esses agentes possuem baixo peso molecular, o que garante uma alta difusão entre os tecidos dentais. Dessa forma, o clareamento, representado por uma reação de oxidação, passa a promover a quebra de cadeias ramificadas carbônicas maiores em cadeias menores, responsáveis pelas alterações de cor, o que resulta em uma menor reflexão da luz, caracterizando assim o resultado do tratamento (GOLDSTEIN et al.<sup>25</sup>, 1989; GOLDSTEIN<sup>26</sup>, 1993; BARATIERI et al.<sup>4</sup>, 1993).

Diante da complexidade do mecanismo de ação, variedade de agentes, diferentes técnicas de aplicação, fontes de ativação e diferentes substratos, o presente estudo teve como principais objetivos avaliar os efeitos do clareamento com peróxido de hidrogênio a 35 e 38%, observando a cor, em dentes manchados e não manchados com Coca-

Cola Light Lemon, e a estrutura mineral do esmalte dental, utilizando dois métodos de análise: Fotorreflectância e Espectroscopia FT- Raman.

Para o seu desenvolvimento, foram utilizados dentes bovinos, pois vários autores como Spyrides et al.<sup>74</sup> (1999), Lamosa<sup>44</sup> (2001), Kwon et al.<sup>43</sup> (2002), Attin et al.<sup>3</sup> (2003) e Park et al.<sup>62</sup> (2004) afirmaram que existe grande semelhança histológica quando comparados a dentes humanos e, não existem grandes distorções inerentes aos resultados das pesquisas.

Ao término do preparo dos espécimes, a substância de armazenamento, água destilada, foi substituída por saliva artificial, em estufa a 37°C, com o intuito de reproduzir as condições do interior da cavidade bucal, e era trocada a cada 24h para manutenção de suas propriedades químicas (KWON et al.<sup>43</sup>, 2002; PIMENTEL et al.<sup>65</sup>, 2002; PARK et al.<sup>62</sup>, 2004; CESAR et al.<sup>14</sup>, 2005; DUSCHNER et al.<sup>21</sup>, 2006).

Anteriormente aos procedimentos clareadores, os espécimes foram encaminhados para registros iniciais das análises desenvolvidas: Fotorreflectância e Espectroscopia FT- Raman, o que representou o controle para todos os grupos experimentais (KWON et al.<sup>43</sup>, 2002; PARK et al.<sup>62</sup> 2004; CESAR et al.<sup>14</sup>, 2005; DUSCHNER et al.<sup>21</sup>, 2006). Tal procedimento facilitou a observação do comportamento longitudinal dos espécimes.

Existe um grande número de métodos para se determinar a cor dos dentes, como o uso de escalas, colorímetros, espectrômetros e fotografias (KWON et al.<sup>43</sup>, 2002; HAYWOOD et al.<sup>37</sup>, 2001). Os sistemas que utilizam a visão humana são influenciados por variáveis externas como iluminação, efeitos de contraste e metamerismo e variáveis internas como cansaço, idade e conhecimento (CHU<sup>15</sup>, 2003). O uso de instrumentos para a detecção da cor, utilizados para a comparação entre estudos ainda não foi estabelecido segundo Haywood<sup>37</sup> (2003). A percepção da cor é determinada pela resposta da luz que incide sobre o dente. Parte da luz incidente é absorvida pelos pigmentos encontrados



nas proteínas e em outros pigmentos existentes na estrutura dental. Como a luz é absorvida por esses componentes, a concentração de tais substâncias é um importante fator no grau de absorção do dente, ou seja, quanto maior a concentração dos cromógenos, maior absorção da luz incidente, e mais escuro o dente irá parecer. Além disso, os dentes humanos possuem maior tempo na cavidade bucal, e em muitos experimentos os dentes bovinos são mais limpos e mais claros quando comparados com os humanos (KWON et al.<sup>43</sup>, 2002). A partir de estudos realizados por Kwon et al.<sup>43</sup> (2002) e Cesar et al.<sup>14</sup> (2005), a técnica de fotorreflectância vem se consolidando, em função de sua confiabilidade e precisão graças à extrema sensibilidade para execução dos testes e dessa forma, passou a ser um método de avaliação seguro e versátil.

Os resultados deste estudo demonstram que os grupos experimentais não submetidos ao manchamento, (Whiteness HP Maxx, Opalescence Xtra Boost e Gel manipulado), após a realização do protocolo clareador de cada fabricante, apresentaram alta reflectância, a partir da análise estatística realizada entre o período inicial e o período pós-clareamento. Mesmo diante das diferenças existentes entre técnicas de aplicação dos agentes clareadores, não existiram diferenças estatísticas entre os agentes quanto ao grau do clareamento através da análise por Fotorreflectância.

As alterações de cor não são as únicas resultantes do clareamento dental. Muitos estudos comprovam e conseguem demonstrar a existência de modificações estruturais no esmalte dental; seja na sua dureza, na rugosidade da superfície ou em sua composição química (ROTSTEIN et al.<sup>69</sup> 1996; CREWS et al.<sup>19</sup> 1997; HAYWOOD et al.<sup>36</sup> 2001; HOSOYA et al.<sup>40</sup> 2003; DUSCHNER et al.<sup>21</sup>, 2006).

Algumas análises como EDS, EDX, FT-Raman, são capazes de quantificar componentes minerais com objetivo de verificar ganhos ou perdas minerais provenientes da utilização de substâncias ácidas existentes em algumas frutas, refrigerantes e também, quando

utilizada a técnica de clareamento dental onde o agente é um peróxido com alto poder de penetração devido ao seu baixo pH (KAWAMOTO & TSUJIMOTO<sup>42</sup>, 2004). No presente estudo foi utilizada a Espectroscopia FT Raman para avaliar as vibrações moleculares e conseqüentemente, verificar a estrutura mineral do esmalte. O sistema é composto por um laser de Nd:YAG com comprimento de onda em 1064.1nm e a potência máxima incidente sobre o espécime foi de 230mW, com uma resolução espectral de  $4\text{cm}^{-1}$  (PARK et al.<sup>62</sup> 2004, DUSCHNER et al.<sup>21</sup>, 2006).

Os grupos não submetidos ao manchamento, clareados com os agentes Whiteness HP Maxx, Opalescence Xtra Boost, Gel manipulado, quando analisados quanto a composição mineral, através de Espectroscopia FT- Raman, demonstraram através de análise estatística que o agente Opalescence Xtra Boost foi significativamente menor em deslocamento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ), o que comprova a existência de perda mineral do esmalte após o protocolo de clareamento. Para os demais agentes, não foi observada diferença entre o período inicial e final. A ocorrência de maior perda mineral do esmalte, através da utilização deste agente clareador, pode estar relacionada a fatores inerentes a sua composição, como possuir agente catalisador que tem como função promover a reação química e também por dispensar a ativação por luz. Outro fator que pode ter influenciado os resultados é a concentração mais elevada de peróxido de hidrogênio estabelecida em 38%. Os demais agentes clareadores testados possuem em sua concentração apenas 35% de peróxido de hidrogênio e em seu protocolo faz-se necessária a ativação por luz. Rotstein et al.<sup>69</sup> (1996) avaliaram os efeitos da aplicação nos tecidos duros e concluíram, através de microscopia eletrônica de varredura e espectrômetro de energia dispersiva, que os níveis de cálcio, fósforo, sulfato e potássio do esmalte, dentina e cemento de cada espécie sofreram alterações após o tratamento clareador. Outros autores também afirmam que o uso dos agentes clareadores em tecidos duros deve ser realizado com

cautela diante dos efeitos provocados (ZALKIND et al.<sup>81</sup>,1996). Em 1997, Crews et al.<sup>19</sup> observaram o efeito do clareamento dental na composição química do esmalte através de análise de EDS e observaram que o agente clareador Rembrandt Lighten causou maior perda nos níveis de cálcio e de fósforo, quando comparado aos outros géis testados. Kawamoto & Tsujimoto<sup>42</sup> (2004) também constataram diminuição nos níveis de cálcio e fosfato após o clareamento dental. Os estudos acima citados estão em concordância com os resultados encontrados nesta pesquisa em se tratando de perda mineral após o clareamento dental. Entretanto, o estudo realizado por Park et al.<sup>62</sup> (2004) que teve como objetivo analisar as alterações no esmalte bovino após tratamento com o agente clareador peróxido de hidrogênio a 30% e, através de análise em Espectroscopia Raman, demonstrou não existirem diferenças na composição do esmalte clareado ou não clareado. Duschner et al.<sup>21</sup> (2006) avaliaram a ação do peróxido de hidrogênio das tiras para clareamento, *bleaching strips* 6,0 e 6,5%, na composição química do esmalte dental humano, através de Espectroscopia FT- Raman, e observaram que não existiram mudanças estruturais significativas após a realização do clareamento dental. Entretanto, deve-se destacar que, em ambos os estudos, os espécimes eram mantidos em solução salina e água destilada, o que pode ter influenciado os resultados, uma vez que, neste estudo, a solução para armazenamento foi a saliva artificial a 37°C.

O uso de ativação por luz, como lasers, luz halógena e LEDs, no procedimento clareador de consultório tem sido divulgado para acelerar a reação química do processo clareador e diminuir o tempo da consulta (FEIMAN et al.<sup>23</sup>, 1987; TOH<sup>78</sup>, 1993; NAKAMURA et al.<sup>60</sup>, 2001). Entretanto alguns kits como o agente Opalescence Xtra Boost dispensam essa ativação. Luk et al.<sup>50</sup> (2004) avaliaram diversas marcas comerciais associadas a diferentes fontes de ativação. Foram avaliadas modificações na cor e aumentos da temperatura. Existiram diferenças significativas

relacionadas a cor quando realizada a fotoativação; entretanto, aumentos na temperatura foram detectados. Esse fator sugere que o que realmente exerce o efeito clareador é o contato do agente peróxido com a superfície do esmalte e não a fonte de luz ativadora.

Para manchamento dos espécimes, utilizou-se a Coca-Cola Light Lemon, diante de sua alta comercialização e pela associação da Coca-Cola ao suco de limão. Sobral et al.<sup>71</sup> (2000) analisaram o pH de diferentes frutas e refrigerantes e detectaram que o pH da Coca-Cola e do suco de limão foram os mais baixos em seus grupos experimentais, respectivamente nos valores de 2,36 e 2,16 nos períodos iniciais. Dessa forma, o contato com essas substâncias, pode promover uma perda mineral na superfície do esmalte dental, pois, Bonfim et al.<sup>9</sup> (1998) destacam que a desmineralização do esmalte inicia-se a partir do contato com soluções com pH inferior a 5,2.

Attin et al.<sup>3</sup> (2003) observaram a ação do manchamento com chá associado ao clareamento dental do esmalte dental bovino com peróxido de carbamida por 8 dias. Concluíram que a aplicação de chá diretamente após o clareamento não causa efeito significativo no resultado final, independentemente do intervalo de tempo decorrido entre o procedimento clareador e o contato do dente com o chá. O propósito deste estudo foi avaliar a ação do clareamento após manchamento com Coca-Cola Light Lemon durante 10min por 10 dias (ABU-BAKR et al.<sup>1</sup>, 2000). Os resultados demonstraram após a leitura de reflectância, que as unidades experimentais encontravam-se significativamente mais escuras no período após manchamento, para todos os agentes clareadores, ou seja, o agente pigmentante, no protocolo de manchamento proposto, foi capaz de escurecer os espécimes. Após a aplicação de cada agente clareador, sobre os espécimes manchados, as análises estatísticas demonstraram maior reflectância, demonstrando assim que os espécimes manchados foram clareados.

Em se tratando da composição química do esmalte bovino, ao analisar os agentes clareadores, pôde-se constatar que o gel Opalescence Xtra Boost apresentou menor deslocamento Raman, ou seja, alteração no fosfato e carbonato, nos dois níveis experimentais testados, com e sem manchamento. Os demais agentes clareadores (Whiteness HP Maxx e Fórmula e Ação) não apresentaram diferenças estatísticas significativas quando comparados ao Opalescence. A maior redução dos níveis de fosfato e carbonato pode estar relacionada a componentes presentes em sua formulação, não descritos pelo fabricante. Neste agente, ao seguir as orientações do fabricante, verifica-se que a fotoativação faz-se desnecessária diante da existência de um catalisador não especificado, que certamente, tem como função potencializar e acelerar a reação química. Considerando-se ainda, diferenças na formulação, observa-se também que a concentração de peróxido de hidrogênio neste agente apresenta-se mais elevada, em 38%. Price et al.<sup>66</sup> (2000) avaliaram o pH de diversos produtos para clareamento dental e observaram que o pH mais ácido encontrado foi no agente clareador Opalescence a 35%, o que pode sugerir, um pH ainda mais ácido no gel Opalescence Xtra Boost (38%). Dessa forma uma maior perda mineral é justificada. Os demais agentes apresentam menor concentração de peróxido de hidrogênio, 35%, e conseqüentemente, pH menos ácido. A técnica proposta pelo fabricante necessita de fotoativação e, em sua formulação não é descrita a existência de um agente catalisador. Os resultados encontrados discordam dos demais trabalhos propostos por Park et al.<sup>62</sup> (2004) e Duschner et al.<sup>21</sup> (2006), pois não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os períodos iniciais e finais relacionados a técnica de clareamento dental do esmalte.

Ao analisar a variável imersão, observou-se que somente o agente clareador Whiteness HP Maxx apresentou diferença estatística significativa em relação aos demais géis testados, pois, demonstrou menor deslocamento Raman, redução dos níveis de fosfato e carbonato,

no grupo submetido à imersão em Coca-Cola Light Lemon. Tal resultado sugere a existência de uma interação dos componentes de sua fórmula aos componentes existentes no refrigerante. Uma reação química diferenciada pode ter ocorrido e dessa forma, contribuído de maneira direta para a obtenção destes resultados.

Para o clareamento dental, optou-se pela realização da técnica realizada pelo profissional, onde a aplicação é feita através de altas concentrações de peróxidos. Neste estudo foi utilizado o peróxido de hidrogênio a 35 e 38% nas seguintes marcas comerciais: Opalescence Xtra Boost- Ultradent, Whiteness HP Maxx- FGM e Gel manipulado- Fórmula e Ação. Estes géis clareadores são amplamente utilizados e apresentam algumas diferenças básicas em sua composição, muitas vezes não relatadas pelos fabricantes. Estão classificados em nacionais (Whiteness), internacionais (Opalescence), e manipulados (Fórmula e Ação). A utilização do gel manipulado foi realizada devido ao seu baixo custo e amplo consumo pelos profissionais nos dias atuais. Para todos os agentes clareadores foram respeitadas as recomendações de cada fabricante, o que demonstrou algumas diferenças nos protocolos de utilização.

Estudos semelhantes (MCCasling et al.<sup>51</sup> 1999; Moklis et al.<sup>55</sup> 2000; Haywood et al.<sup>36</sup> 2001) estão em concordância com os resultados encontrados nessa pesquisa, onde pôde-se constatar que os agentes clareadores existentes no mercado são eficazes no tratamento das alterações de cor, tanto em dentes normais quanto em dentes manchados. Entretanto, a técnica de clareamento profissional requer algumas precauções, pois pode gerar modificações estruturais e na composição do esmalte, ocasionando dessa forma, maior hipersensibilidade. Com isso, é imprescindível seguir as corretas recomendações clínicas durante e após o período de clareamento, pois o esmalte apresenta-se mais poroso e dessa forma, cuidados como dieta, ingestão de refrigerantes, uso de flúor e pastas abrasivas são

importantes, pois além de gerar aumento da perda mineral, podem ocasionar escurecimento dos dentes.

## 7 CONCLUSÕES

Baseado nos resultados encontrados pôde-se concluir que:

- a) todos os agentes clareadores foram capazes de promover branqueamento dos espécimes, nos grupos submetidos à imersão em refrigerante ou não;
- b) os espécimes submetidos à imersão no refrigerante Coca-Cola Light Lemon sofreram escurecimento;
- c) os espécimes submetidos à imersão em refrigerante e posteriormente clareados com o agente Whiteness HP Maxx apresentaram perda mineral;
- d) o agente clareador Opalescence Xtra Boost ocasionou perda mineral nos espécimes submetidos ou não à imersão em refrigerante após o clareamento.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abu-Bakr N, Han L, Okamoto A, Iwaku M. Changes in the mechanical properties and surface texture of compomer immersed in various media. *J Prosthet Dent* 2000; 4 (84): 444- 52.
2. Asfora KK et al. Clareamento em dentes vitais: situação atual. *Rev Odontol Univ Santo Amaro*, jul/dez. 1998; 3 (2):90-94.
3. Attin T, Manolakis A, Buchalla W, Hannig C. Influence of tea on intrinsic colour of previously bleached. *J Oral Rehabil* 2003; (30): 488-94.
4. Baratieri LN et al. *Clareamento Dental*. São Paulo: Quintessence, 1993. 176p.
5. Baratieri LN. Clareamento de dentes. In: BARATIERI L N et al. *Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades*. São Paulo: Santos, 2001. cap.17. p.675-93.
6. Basting RT, Rodrigues JA, Serra MC, Pimenta LA. Shear bond strength after dentin bleaching with 10% carbamide peroxide agents. *Pesqui Odontol Brás* 2004 Apr./June; 18 (2):162-7.
7. Bevilacqua FM et al. Avaliação das variações do pH salivar frente ao uso de agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10 por cento. *Odonto* 2000 jan./jun.; 1999 3 (1):18-22.
8. Bitter NCA. Scanning electron microscopy study of the effect of bleaching agents on enamel: a preliminary report. *J Prosthet Dent* 1992; 67 (5):852- 55.
9. Bonfim MDC, Anauate Neto C, Youssef MN. Efeitos deletérios dos agentes clareadores em dentes vitais e não vitais. *J Brás Odontol Clin* 1998 maio/jun.; 2 (9):25-32.

10. Browning WD, Chan DC, Frazier KB, Callan RS, Blalock JS. Safety and efficacy of a nightguard bleaching agent containing sodium fluoride and potassium nitrate. *Quintessence Int* 2004 oct.; 35 (9): 693-8.
11. Campos IC. Avaliação qualitativa da microinfiltração em restaurações de resina composta substituídas após o clareamento caseiro com gel de peróxido de carbamida. 1998. 132f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 1998.
12. Cardoso SO & Vieira PAA. Efeitos adversos das técnicas de clareamento de dentes vitalizados sobre a estrutura dental e periodonto de proteção. *Rev Esc Farm Odontol Alfenas* 1997 jan/dez.;(19): 19-26.
13. Carvalho EMOF, Robazza, CRC, Lage-Marques JL. Análise espectrofotométrica e visual do clareamento dental interno utilizando laser e calor como fontes catalisadoras. *Pesqui Odontol Brás* 2002; 16 (4): 337- 42.
14. Cesar ICR, Redãgolo ML, Liporoni PCS, Munin E. Analyses by photoreflectance spectroscopy and by Vickers hardness of conventional and laser-assisted tooth bleaching. *Am J Dent* 2005 august;18 (4):219- 22.
15. Chu SJ. Use of reflectance spectrophotometer in evaluating shade change resulting from tooth-whitening products. *J Esthet Rest Dent*, 2003 15 Suppl1:S42-8.
16. Cobankara FK, Unlu N, Altinoz HC, Fusun O. Effect of home bleaching agents on the roughness and surface morphology of human enamel and dentine. *Int Dent J* 2004; 54 (4): 211-8.
17. Collins L, Maggio E, Galaher I. Safety evaluation of a novel whitening gel containing 6% hydrogen peroxide and a commercially available whitening gel containing 18% carbamide peroxide and exaggerated use clinical study. *J Dent* 2004; (32): 47-50.

18. Costa Filho LC, Costa CC, Jonia ML, Taga R. Effect of home bleaching and smoking on marginal gingival epithelium proliferation: a histologic study in women. *J Oral Pathol Med* 2002 Sept; 31 (8): 473-80.
19. Crews KM, Duncan D, Lentz D, Gordy F M, Tolbert B. Effect of bleaching agents on chemical composition of enamel. *JADA* 1997; (53): 20-21.
20. Dostalova T, Selikonova H, Housova D, Sulc J, Nemecek M, Miyagi M, Brugnera Junior A, Zanim, F. Diode laser activated bleaching. *Braz Dent J* 2004; Special issue, SI-3-SI-8.
21. Duschner H, Gotz H, White DM, Kozak KM, Zoladz JR. Effects of hydrogen peroxide bleaching strips on tooth surface color, surface microhardness, surface and subsurface ultrastructure, and microchemical (Raman spectroscopic) composition. *J Clin Dent* 2006; 17 (3): 72-8.
22. Faria D & Santos L. Uma demonstração sobre o espalhamento inelástico de luz: repetindo o experimento de Raman. *Química Nova* 1997; 20 (3):319- 23.
23. Feiman RA, Garber PA, Goldstein RE. Bleaching teeth. Quintessence publishing: Chicago, 1987.
24. Freitas P M, Basting RT, Rodrigues L, Serra MC. Effects of two 10% peroxide carbamide bleaching agents on dentin microhardness at different times intervals. *J Esthet Dent* 2002; 3 (5): 370- 75.
25. Goldstein RE, Goldstein CE, Feiman RA, Garber DA. Bleaching vital teeth: state of the art. *Quintessence Int* 1989 oct; 20 (10): 729-37.
26. Goldstein RE. Esthetic dentistry - a health service. *J Dent Res* 1993; (3):641-2.

27. Goldstein RE, Garber DA, Goldstein CE, Swartz CG, Salama MA, Gribble AR, Adar P, Ginsberg LJ. Esthetic update: the changing esthetic dental practice. *J Am Dent Assoc* 1994; (125):1447- 56.
28. Gürkan S, Bolay S, Alacam R. In vitro adherence of bacteria to bleached or unbleached enamel surfaces. *J Oral Rehabil* 1997, aug; 24 (8):624-7.
29. Gultz J, Kaim J, Scherer W, Gupta H. Two in-office bleaching systems: a scanning electron microscope study. *Compendium* 1999 oct; 20 (10):965- 69.
30. Haywood VB & Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int* 1989 mar; 20 (3): 173-6.
31. Haywood VB, Houck VM, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: how safe is it? *Quintessence Int* 1991; (22):515- 23.
32. Haywood VB. Nightguard vital bleaching: The effects of various solutions on the enamel surface morphology and color. *Quintessence Int* 1991; (22):775- 82.
33. Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. *Quintessence Int* 1992; 23 (7):471- 88.
34. Haywood VB. Achieving, Maintaining, and Recovering Successful Tooth Bleaching. *J Esthet Dent* 1996; 8 (1):31-38.
35. Haywood VB. Nightguard vital bleaching: current concepts and research. *J Am Dent Assoc* 1997;128 (4):19S-25S.
36. Haywood VB, Caughmanw F, Frazier KB, Myers ML. Traydelivery of potassium nitrate-fluoride to reduce bleaching sensitivity. *Quintessence Int* 2001 feb; 32 (2):105-9.
37. Haywood VB. Color measurement symposium 2003. *J Esthet Rest Dent* 2003; (15): Suppl1:S3-4.
38. Hegediüs C, Bistey T, Flora-Nagy E, Kesztheiyi G, Jenei A. An anatomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent* 1999; (27): 509- 15.

39. Hirata R. et al. Clareamento de dentes vitalizados: Situação clínica atual. JBC 1997 jan/fev; 1 (1):13-21.
40. Hosoya N, Honda K, Lino F, Arai T. Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching. J Dent 2003 nov; 31 (8):543-8.
41. Jorgensen MG & Carroll WB. Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment. J Am Dent Assoc 2002 aug; (133):1076-82.
42. Kawamoto K & Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. J Endod 2004 jan.; 30 (1): 45-50.
43. Kwon YH, Huo MS, Kim KH, Kim SK, Kim YS. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel. J Oral Rehabil 2002 may; 29 (5): 473-7.
44. Lamosa A C. Comparação da dentina de dentes humanos e de dentes bovinos através de microscopia eletrônica de varredura. 2001. 93 f. Dissertação em Odontologia – Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.
45. Leonard Jr RH, Haywood VB, Phillips C. Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with Nightguard vital bleaching. Quintessence Int 1997; 28 (8): 527-34.
46. Leonard Jr RH. Efficacy, longevity, side effects, and patient perceptions of Nightguard vital bleaching. Compend Contin Educ Dent 1998; 19 (8):766-74.
47. Leonard Jr RH. Nightguard vital bleaching: a long-term study on efficacy, shade retention, side effects, and patients' perceptions. J Esthet Rest Dent 2001; 13 (6): 357-69.
48. Leonard Jr RH et al. Nightguard vital bleaching of tetracycline-stained teeth: 90 months post treatment. J Esthet Rest Dent 2003; 15 (3):142-52 Discussion 153.

49. Lewinstein I, Fuhrer N, Churau N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent* 2004 oct; 92 (4): 337-42.
50. Luk K, Tam L, Hubert M. Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. *J Am Dent Assoc* 2004; 135 (2): 194- 01.
51. Mccaslin AJ et al. Assessing dentin color changes from Nightguard vital bleaching. *J Am Dent Assoc* 1999 oct; (130): 1485-90.
52. Mccracken MS & Haywood VB. Demineralization effects of 10 percent carbamida peroxide. *J Esthet Dent* 1996; 24 (6): 395- 98.
53. Mcgucking RS, Babin JF, Meyer BJ. Alterations in human enamel surface morphology following vital bleaching. *J Prosthet Dent* 1992 nov; 68 (5): 754-60.
54. Mendonça CCL & Paulillo LAMS. Clareamento em dentes vitais: utilização do peróxido de carbamida. *Rev Bras Odontol* 1998 jul/ago; 55 (4): 217- 21.
55. Mokhlis GR, Matis BA, Cochran MA, Eckert GJ. A clinical evaluation of carbamide peroxide and hydrogen peroxide whitening agent during daytime use. *J Am Dent Assoc* 2000 sept; (131): 1269-77.
56. Mondelli RFL. Clareamento Dental. *Rev Dent Rest* 1998; (1):163-215.
57. Mondelli J. Introdução à estética. In:\_\_\_\_\_. *Estética e cosmética em clínica integrada restauradora*. São Paulo: Quintessence. 2003. cap.1.
58. Mondelli RFL. Clareamento de dentes polpados: técnicas e equipamentos. *Bio Odonto Rev Odontol* 2003 jan/fev; 1 (1): 42-6.
59. Morato LH, Duarte RV, Albuquerque RC. Peróxido de carbamida: alternativa para o clareamento. *Rev do CROMG* 1998 jan/jun; 4 (1).

60. Nakamura T, Saito O, Ko T, Aruyama T. The effects of polishing and bleaching on the color of discolored teeth *in vivo*. J Oral Rehabil 2001; (28):1080-4.
61. Novais RCP & Toledo OA. Estudo *in vitro* das alterações do esmalte dentário submetido à ação de um agente clareador. JBC 2000 mar/abr; 4 (20): 48-51.
62. Park HJ, Kwon TY, Kim HJ, Kim YJ. Changes in bovine enamel after treatment with a 30% hydrogen peroxide bleaching agent. Dent Mater J 2004; 23 (4): 517-21.
63. Pécora JD et al. Guia de Clareamento Dental. São Paulo: Santos, 1996. 48p.
64. Pimenta IC & Pimenta LAF. Clareamento dental caseiro- Riscos e benefícios: o que o clínico precisa saber. Rev Bras Odontol 1998 jul/ago; 55 (4): 195-200.
65. Pimentel E, Bittencourt LP, Volscham B, Dias K. Armazenamento de dentes extraídos para estudos *in vitro*: revisão da literatura. Rev Bras Odontol 2002 jul/ago; 59 (4): 224- 26.
66. Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The ph of tooth-whitening products. J Can Dent Assoc 2000; (66): 421-6.
67. Reis A et al. Efeito do flúor na eficácia do clareamento caseiro. JBC 2001; 5 (25): 26-30.
68. Ritter AV, Bertoci C, Swift ES. Técnica caseira para Clareamento dos dentes vitais. RGO 2002 set/out; 40 (5): 363- 67.
69. Rotstein I, Danker E, Godman N, Helingi S, Staholza A, Zalkind M. Histochemical Analysis of Dental Hard Tissues following Bleaching. J Endod 1996; 22 (1): 23-26.
70. Schiavoni RJ, Turssi CP, Rodrigues AL, Serra MC, Pecora JD, Froner IC. Effect of bleaching agents on enamel permeability. Am J Dent 2006 oct; 19 (5): 313-6.

71. Sobral MAP, Luz MAAC, Gama-Teixeira A, Garone Neto N. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. *Pesq Odontol Bras* 2000 out/dez; 14 (4): 406- 10.
72. Souza MAL. Clareamento caseiro de dentes: ação do peróxido de carbamida sobre os dentes e mucosa bucal. 1993. 234f. (Tese, Doutorado em Estomatologia Clínica) - Faculdade de Odontologia, PUC-RS, Porto Alegre, 1993.
73. Spalding M, Taveira LA, De Assis GF. Scanning electron microscopy study of dental enamel surface exposed to 35% hydrogen peroxide: alone, with saliva, and with 10% carbamide peroxide. *J Esthet Rest Dent* 2003; 15 (3): 154-64 Discussion 165.
74. Spyrides GM et al. A influência dos agentes clareadores na adesão dentinária. *JBC: JBC e Estet Odontol* 1999; 3 (18): 25-31.
75. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees LS. The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening: an in vitro study. *J Dent* 2004 may; 32 (4): 259-9.
76. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees LS. The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in office product: a study in vitro. *J Dent* 2005 jan; 33 (1): 33-40.
77. Tames D, Grando JL, Tames DR. Alterações do Esmalte Dental submetido ao tratamento com peróxido de carbamida 10%. *Rev. APCD* 1998; 52 (2).
78. Toh CG. Clinical evaluation of a dual-activates bleaching system. *Asian J Aesthet Dent* 1993; (1): 65-70.
79. Wang Y & Spencer P. Analysis of acid-treated dentin smear debris and smear layers using confocal Raman microspectroscopy. *J Biom Mat R* 2002; (60): 300-08.
80. Worschech C, Rodrigues J, Martins L, Ambrosano G. Avaliação in vitro da rugosidade superficial do esmalte dental humano quando clareado com Peróxido de Carbamida 35% e submetido à



escovação com dentifícios abrasivos. Pesq Odont Bras 2003; 17 (4): 342-348.

81. Zalkind J, Arwaz J, Goldman A, Rotstein I. Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study. Endod Dentl Traumatol 1996; (12): 82-8.

Alves GL. Evaluation of the colour changes and the mineral composition of the enamel on different concentrations after dental bleaching with hydrogen peroxide 35 and 38% using photoreflectance and FT Raman analysis. 2007. 124f. Tese (Doutorado em Dentística)-Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

#### ABSTRACT

*The purpose of this study was to evaluate the color change, the difference on bleaching time and the staining on bovine dental enamel samples. Morphologic and mineral changes on enamel were also evaluated, on every samples (with or without immersion on Coca-Cola drink and after the dental bleaching protocol with hydrogen peroxide 35 and 38%, through two analysis, photoreflectance and FT-Raman spectroscopy. Sixty samples were cutted on the standardized dimensions of 4x4x4mm followed by their distribution on six experimental groups (G1- Whiteness Maxx + staining with Coca-Cola Light Lemon; G2- Whiteness Maxx without staining; G3- Opalescence Xtra Boost + staining with Coca-Cola Light Lemon; G4- Opalescence Xtra Boost without staining; G5- Manipulated bleaching agent + staining with Coca-Cola Light Lemon; G6- Manipulated bleaching agent without staining). All the samples received initial register to obtain the control group. The bleaching was done following each manufactures recommendations during two weeks. The samples were kept in artificial saliva during all the research. After the registers, the data were directed to statistics analysis and the results showed that all the tested agents were capable to promote the bleaching of the samples; agents were efficient on bleaching of stained teeth; a mineral lost were detected after the immersion of the samples on Coca-Cola Light Lemon on the group bleached with Whiteness HP Maxx, and Opalescence xtra boost promote higher mineral lost than other bleaching agents.*

*KEY-WORDS: dental bleaching; dental enamel; hydrogen peroxide; photoreflectance; FT Raman spectroscopy.*

# ANEXOS

## ANEXO 1

### ANÁLISE EXPLORATÓRIA – REFLECTÂNCIA

-----	Level of	Level of	Level of		-----valor-----
Std Dev	clarea	mancha	tempo	N	Mean
776.38037	1	1	1	10	17833.6630
314.08464	1	1	2	10	19964.7110
533.76220	1	2	1	10	18305.3280
606.81674	1	2	2	10	19830.5330
876.58408	2	1	1	10	17576.2640
825.90828	2	1	2	10	20585.4570
642.36667	2	2	1	10	18528.5350
962.67788	2	2	2	10	19448.2070
875.12631	3	1	1	10	17433.6090
658.76750	3	1	2	10	20350.4190
1019.83540	3	2	1	10	18288.4660
811.77917	3	2	2	10	20418.0520

	Level of	Level of	N	-----valor-----	
	mancha	tempo		Mean	Std Dev
	1	1	30	17614.5120	831.601473
	1	2	30	20300.1957	666.881528
	2	1	30	18374.1097	742.724268
	2	2	30	19898.9307	878.062447

#### Tests for Normality

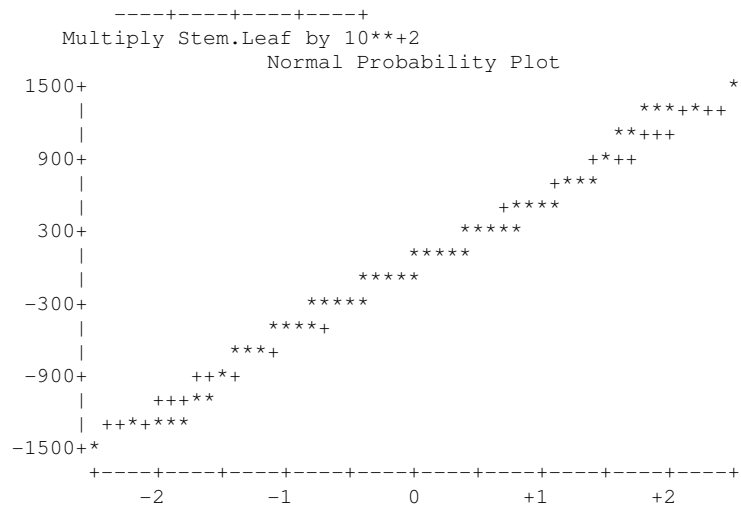
Test	--Statistic--	-----p Value-----
Shapiro-Wilk	W 0.98745	Pr < W 0.3362

#### Extreme Observations

-----Lowest-----                      -----Highest-----

Value	Obs	Value	Obs
-1554.68	98	1257.22	102
-1381.53	77	1304.46	43
-1317.98	58	1317.98	48
-1304.46	53	1381.53	67
-1257.22	112	1554.68	88

Stem	Leaf	#	Boxplot
14	5	1	0
12	6028	4	
10	25	2	
8	09	2	
6	466116	6	
4	1199012478	10	
2	1223441113367889	16	+-----+
0	1124455677223666999	19	*-----*
-0	9996663227765544211	19	
-2	9887633111443221	16	+-----+
-4	8742109911	10	
-6	611664	6	
-8	90	2	
-10	52	2	
-12	8206	4	
-14	5	1	0



-----	Level of	Level of	Level of		-----valor-----
Std Dev	clarea	mancha	tempo	N	Mean
0.31692972	1	1	1	10	6.04000000
0.59777365	1	1	2	10	6.32000000
0.37416574	1	2	1	10	6.00000000
0.52281290	1	2	2	10	6.20000000
0.85433535	2	1	1	10	6.51000000
0.58509259	2	1	2	10	6.37000000
0.26853512	2	2	1	10	5.69000000
0.27668675	2	2	2	10	5.91000000
0.36285902	3	1	1	10	5.85000000
0.47328638	3	1	2	10	5.68000000
0.57629082	3	2	1	10	5.99000000
0.60452001	3	2	2	10	5.81000000

Level of	Level of		-----valor-----	
clarea	tempo	N	Mean	Std Dev
1	1	20	6.02000000	0.33810618
1	2	20	6.26000000	0.55002392
2	1	20	6.10000000	0.74621854
2	2	20	6.14000000	0.50408855
3	1	20	5.92000000	0.47417518
3	2	20	5.74500000	0.53259543

Level of	Level of		-----valor-----	
clarea	mancha	N	Mean	Std Dev
1	1	20	6.18000000	0.48731272
1	2	20	6.10000000	0.45421998
2	1	20	6.44000000	0.71627692
2	2	20	5.80000000	0.28837111
3	1	20	5.76500000	0.41961762
3	2	20	5.90000000	0.58219187

**Tests for Normality**

Test	--Statistic--	-----p Value-----
Shapiro-Wilk	W 0.990733	Pr < W 0.6013

**Extreme Observations**

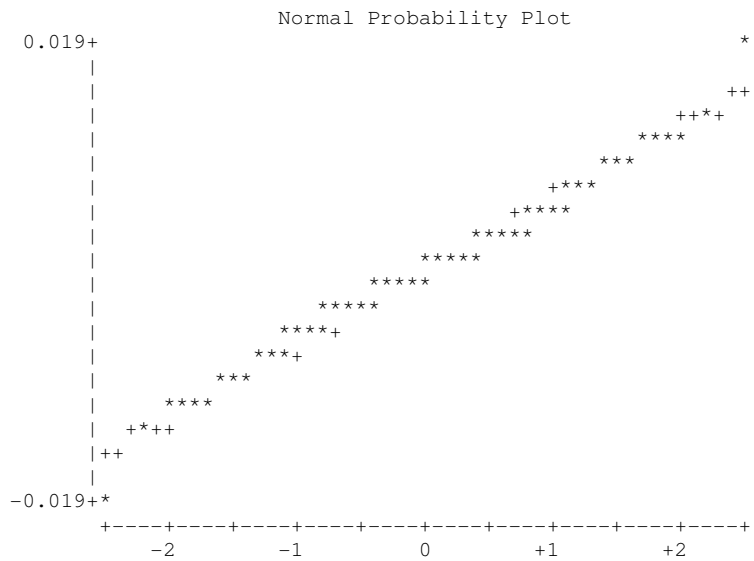
-----Lowest-----		-----Highest-----	
Value	Obs	Value	Obs
-0.0193431	50	0.0110133	118
-0.0122054	2	0.0111191	43
-0.0118940	46	0.0118940	56

-0.0111191	53	0.0122054	12
-0.0110133	108	0.0193431	60

Stem Leaf	#	Boxplot
18 3	1	0
16		
14		
12 2	1	
10 9019	4	
8 54556	5	
6 0678557	7	
4 001279577	9	
2 1347777788912388	16	+-----+
0 01124457801234779	17	*--*--*
-0 97743210875442110	17	
-2 8832198877777431	16	+-----+
-4 775972100	9	
-6 7558760	7	
-8 65545	5	
-10 9109	4	
-12 2	1	
-14		
-16		
-18 3	1	0

-----+-----+-----+-----+

Multiply Stem.Leaf by 10\*\*<sup>-3</sup>



## ANEXO 2

### ANÁLISE ESTATÍSTICA – REFLECTÂNCIA

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
clarea	3	1 2 3

mancha	2	1 2
tempo	2	1 2
rep	10	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Dependent Variable: valor  
Number of observations 120

Pr > F	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value
<.0001	Model	65	175091089.9	2693709.1	3.61
	Error	54	40250389.5	745377.6	
	Corrected Total	119	215341479.3		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	valor Mean
0.813086	4.532763	863.3525	19046.94

Pr > F	Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value
0.7677	clarea	2	395961.2	197980.6	0.27
0.2607	mancha	1	963017.3	963017.3	1.29
0.3641	clarea*mancha	2	1534739.0	767369.5	1.03
0.9779	clarea*mancha*rep	54	23139512.0	428509.5	0.57
<.0001	tempo	1	132962621.6	132962621.6	178.38
0.1718	clarea*tempo	2	2713075.3	1356537.7	1.82
0.0005	mancha*tempo	1	10107016.0	10107016.0	13.56
0.1210	clarea*mancha*tempo	2	3275147.5	1637573.7	2.20

Tests of Hypotheses Using the Type III MS for clarea\*mancha\*rep as an Error Term

Pr > F	Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value
0.6325	clarea	2	395961.203	197980.601	0.46
0.1397	mancha	1	963017.250	963017.250	2.25
0.1766	clarea*mancha	2	1534739.014	767369.507	1.79

Least Squares Means  
Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey

mancha	tempo	valor LSMEAN	LSMEAN Number
1	1	17614.5120	1
1	2	20300.1957	2
2	1	18374.1097	3

2 2 19898.9307 4

Least Squares Means for effect mancha\*tempo  
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: valor

i/j	1	2	3	4
1		<.0001	0.0066	<.0001
2	<.0001		<.0001	0.2845
3	0.0066	<.0001		<.0001
4	<.0001	0.2845	<.0001	

mancha\*tempo Effect Sliced by mancha for valor

mancha	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr >
1	1	108193451	108193451	145.15	<.0001
2	1	34876186	34876186	46.79	<.0001

mancha\*tempo Effect Sliced by tempo for valor

tempo	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr >
1	1	8654829	8654829	11.61	0.0012
2	1	2415204	2415204	3.24	0.0774

**Dunnett Fam**

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
tempo	3	1 2 3

Number of observations 30

Dependent Variable: valor

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	----------------	-------------	---------	--------







Number of observations 30

Dependent Variable: valor

Pr > F	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value
<.0001	Model	2	69306292.55	34653146.27	54.13
	Error	27	17286039.87	640223.70	
	Corrected Total	29	86592332.42		

R-Square 0.800374  
 Coeff Var 4.331710  
 Root MSE 800.1398  
 valor Mean 18471.68

Pr > F	Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value
<.0001	tempo	2	69306292.55	34653146.27	54.13

**Dunnett's t Tests for valor**

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all treatments against

a control.

Alpha 0.05  
 Error Degrees of Freedom 27  
 Error Mean Square 640223.7  
 Critical Value of Dunnett's t 2.33347  
 Minimum Significant Difference 834.99

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by \*\*\*.

tempo Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
3 - 2	3709.5	2874.5 4544.5 ***
1 - 2	1579.9	744.9 2414.9 ***

Level of tempo	N	Mean	Std Dev
1	10	18288.4660	1019.83540
2	10	16708.5300	470.76687
3	10	20418.0520	811.77917

## ANÁLISE ESTATÍSTICA – RAMAN

```

*****
*           SANEST - SISTEMA DE ANALISE ESTATISTICA           *
*   Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado   *
*   Empresa de Pesquisa Agropecuaria de Minas Gerais-EPAMIG *
*           ANALISE DA VARIÁVEL VALOR - ARQUIVO: ERAM       *
*****

```

### NOME DOS FATORES

FATOR	NOME
A	AGENTE
B	MANCHAM
C	TEMPO
D	REP

### QUADRO DA ANALISE DE VARIANCIA

PROB.>F	CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F
0.02120	AGENTE	2	0.0019950	0.0009975	4.1134
0.05523	MANCHAM	1	0.0009075	0.0009075	3.7423
<b>0.03314</b>	<b>AGE*MAN</b>	<b>2</b>	<b>0.0017450</b>	<b>0.0008725</b>	<b>3.5979</b>
	RESIDUO (A)	54	0.0130950	0.0002425	
0.92013	PARCELAS	59	0.0177425		
	TEMPO	1	0.0000008	0.0000008	0.0094
<b>0.04416</b>	<b>AGE*TEM</b>	<b>2</b>	<b>0.0005817</b>	<b>0.0002908</b>	<b>3.2753</b>
0.29142	MAN*TEM	1	0.0001008	0.0001008	1.1356
0.13128	AGE*MAN*TEM	2	0.0003717	0.0001858	2.0928
	RESIDUO (B)	54	0.0047950	0.0000888	

TOTAL 119 0.0235925

MEDIA GERAL = 0.167250  
 COEFICIENTE DE VARIACAO (A) = 6.584 %  
 COEFICIENTE DE VARIACAO (B) = 5.634 %

INFORMACOES PARA OS TESTES DE SIGNIFICANCIA

VARIANCIAS COMPLEXAS  
 VARIANCIA DO FATOR A  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (A)]/40  
 VARIANCIA DO FATOR B  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (A)]/60  
 VARIANCIA DO FATOR C  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (B)]/60  
 VARIANCIA DO FATOR B(A)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (A)]/20  
 VARIANCIA DO FATOR A(B)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (A)]/20  
 VARIANCIA DO FATOR C(A)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (B)]/20  
 VARIANCIA DO FATOR A(C)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (A) + 2.\*Q.M.RESIDUO (B)]/40  
 VARIANCIA DO FATOR B(C)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (A) + 2.\*Q.M.RESIDUO (B)]/60  
 VARIANCIA DO FATOR C(B)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (B)]/30  
 VARIANCIA DO FATOR A(B\*C)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (A) + 2.\*Q.M.RESIDUO (B)]/20  
 VARIANCIA DO FATOR B(A\*C)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (A) + 2.\*Q.M.RESIDUO (B)]/20  
 VARIANCIA DO FATOR C(A\*B)  
 [2.\*Q.M.RESIDUO (B)]/10

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE AGENTE  
 DENTRO DE NAO DO FATOR MANCHAM

	NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	
5% 1%							
A	1	3	OP	20	0.174500	0.174500	a
b AB	2	1	FA	20	0.162000	0.162000	
b B	3	2	MAXX	20	0.157000	0.157000	



A	2	1	NAO	20	0.162000	0.162000	a
---	---	---	-----	----	----------	----------	---

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE MANCHAM  
DENTRO DE MAXX DO FATOR AGENTE

	NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	
5% 1%							
A	1	2	SIM	20	0.172500	0.172500	a
b B	2	1	NAO	20	0.157000	0.157000	

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE MANCHAM  
DENTRO DE OP DO FATOR AGENTE

	NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	
5% 1%							
A	1	1	NAO	20	0.174500	0.174500	a
A	2	2	SIM	20	0.171500	0.171500	a

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA  
INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.00989 - D.M.S. 1% = 0.01316

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE TEMPO  
DENTRO DE FA DO FATOR AGENTE

	NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	
5% 1%							
A	1	1	INICIAL	20	0.166000	0.166000	a
A	2	2	FINAL	20	0.162000	0.162000	a

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE TEMPO  
DENTRO DE MAXX DO FATOR AGENTE

	NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	
5% 1%							
A	1	1	INICIAL	20	0.166000	0.166000	a
A	2	2	FINAL	20	0.163500	0.163500	a

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE TEMPO  
DENTRO DE OP DO FATOR AGENTE

	NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	
5% 1%							
A	1	2	FINAL	20	0.176000	0.176000	a
b A	2	1	INICIAL	20	0.170000	0.170000	

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA  
INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.00598 - D.M.S. 1% = 0.00796

**Dunnett Fam**

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
tempo	3	1 2 3

Number of observations 30

Dependent Variable: valor2

Pr > F	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value
0.1591	Model	2	0.00049706	0.00024853	1.97
	Error	27	0.00340817	0.00012623	
	Corrected Total	29	0.00390524		

R-Square 0.127281  
Coeff Var 6.716083  
Root MSE 0.011235  
valor2 Mean 0.167287

Pr > F	Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value
0.1591	tempo	2	0.00049706	0.00024853	1.97

**Dunnett's t Tests for valor2**

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all treatments against

a control.

Alpha 0.05  
Error Degrees of Freedom 27  
Error Mean Square 0.000126  
Critical Value of Dunnett's t 2.33347  
Minimum Significant Difference 0.0117



Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by \*\*\*.

tempo Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
1 - 2	-0.005075	-0.016800 0.006650
3 - 2	-0.009970	-0.021695 0.001754

**Dunnett Maxxm**

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
tempo	3	1 2 3
Number of observations		30

Dependent Variable: valor2

Pr > F	Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value
0.3574	Model	2	0.00022334	0.00011167	1.07
	Error	27	0.00281974	0.00010443	
	Corrected Total	29	0.00304307		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	valor2 Mean
0.073391	5.901639	0.010219	0.173161

Pr > F	Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value
0.3574	tempo	2	0.00022334	0.00011167	1.07

**Dunnett's t Tests for valor2**

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all treatments against

a control.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	27
Error Mean Square	0.000104
Critical Value of Dunnett's t	2.33347
Minimum Significant Difference	0.0107

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by \*\*\*.

tempo Comparison		Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits	
1	- 2	0.002255	-0.008410	0.012919
3	- 2	-0.004321	-0.014986	0.006343

**Dunnett Opm**

The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
tempo	3	1 2 3

Number of observations 30

Dependent Variable: valor2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value
Model	2	0.00069123	0.00034562	1.47
Error	27	0.00633282	0.00023455	
Corrected Total	29	0.00702405		

R-Square 0.098409  
 Coeff Var 8.803161  
 Root MSE 0.015315  
 valor2 Mean 0.173971

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value
tempo	2	0.00069123	0.00034562	1.47

Pr > F 0.2470

**Dunnett's t Tests for valor2**

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error for comparisons of all treatments against

a control.

Alpha 0.05  
 Error Degrees of Freedom 27  
 Error Mean Square 0.000235  
 Critical Value of Dunnett's t 2.33347  
 Minimum Significant Difference 0.016

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by \*\*\*.

tempo Comparison		Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits	
3	- 2	-0.006381	-0.022363	0.009601

1 - 2 -0.011743 -0.027725 0.004239

Fatorial Sub - Reflectância						
Clareador	Manchamento	Tempo	Rep	Valor		
1	1	1	1	19099.50	Clareador 1	Fa
1	1	1	2	18021.27	Clareador 2	Maxx
1	1	1	3	17634.70	Clareador 3	Op
1	1	1	4	18491.68		
1	1	1	5	18187.63	Manchamento 1	não
1	1	1	6	18477.91	Manchamento 2	sim
1	1	1	7	16530.00		
1	1	1	8	16969.93	Tempo 1	inicial
1	1	1	9	17299.82	Tempo 2	final
1	1	1	10	17624.19		
1	1	2	1	19910.22		
1	1	2	2	20418.61		
1	1	2	3	19814.02		
1	1	2	4	20233.86		
1	1	2	5	19694.07		
1	1	2	6	19519.03		
1	1	2	7	20074.50		
1	1	2	8	20231.39		
1	1	2	9	19549.51		
1	1	2	10	20201.90		
1	2	1	1	18408.61		
1	2	1	2	18042.95		
1	2	1	3	18671.02		
1	2	1	4	17718.61		
1	2	1	5	17817.84		
1	2	1	6	18144.12		
1	2	1	7	18865.62		
1	2	1	8	18606.60		
1	2	1	9	17575.22		
1	2	1	10	19202.69		
1	2	2	1	20165.37		
1	2	2	2	19652.31		
1	2	2	3	19423.56		
1	2	2	4	20293.67		
1	2	2	5	19719.02		
1	2	2	6	19003.53		
1	2	2	7	20775.95		
1	2	2	8	19813.03		
1	2	2	9	18961.62		
1	2	2	10	20497.27		
2	1	1	1	17387.01		
2	1	1	2	17709.09		
2	1	1	3	19693.94		
2	1	1	4	17067.72		
2	1	1	5	16791.80		
2	1	1	6	17484.08		
2	1	1	7	16899.97		
2	1	1	8	18407.14		
2	1	1	9	17195.43		
2	1	1	10	17126.46		
2	1	2	1	21022.46		

2	1	2	2	20690.61
2	1	2	3	20094.22
2	1	2	4	20797.00
2	1	2	5	20618.61
2	1	2	6	21150.73
2	1	2	7	21514.10
2	1	2	8	18780.37
2	1	2	9	21370.91
2	1	2	10	19815.56
2	2	1	1	17926.84
2	2	1	2	18195.63
2	2	1	3	18345.72
2	2	1	4	19142.67
2	2	1	5	17992.57
2	2	1	6	18203.21
2	2	1	7	20010.80
2	2	1	8	18430.59
2	2	1	9	18179.34
2	2	1	10	18857.98
2	2	2	1	19474.12
2	2	2	2	20091.70
2	2	2	3	20268.84
2	2	2	4	18018.69
2	2	2	5	19388.25
2	2	2	6	19019.03
2	2	2	7	18167.42
2	2	2	8	19837.48
2	2	2	9	21194.07
2	2	2	10	19022.47
3	1	1	1	16540.28
3	1	1	2	17242.46
3	1	1	3	16598.73
3	1	1	4	17687.37
3	1	1	5	16517.82
3	1	1	6	18036.22
3	1	1	7	17212.18
3	1	1	8	19231.24
3	1	1	9	17029.39
3	1	1	10	18240.40
3	1	2	1	21247.02
3	1	2	2	20250.58
3	1	2	3	20489.07
3	1	2	4	19859.08
3	1	2	5	19860.90
3	1	2	6	20819.12
3	1	2	7	20142.32
3	1	2	8	19038.69
3	1	2	9	20956.97
3	1	2	10	20840.44
3	2	1	1	17002.19
3	2	1	2	19745.55
3	2	1	3	16587.02
3	2	1	4	17933.04
3	2	1	5	19325.37
3	2	1	6	18594.75
3	2	1	7	18206.31
3	2	1	8	18536.49

3	2	1	9	17685.32
3	2	1	10	19268.62
3	2	2	1	19953.36
3	2	2	2	19360.69
3	2	2	3	19175.15
3	2	2	4	21384.55
3	2	2	5	20171.87
3	2	2	6	21163.03
3	2	2	7	21086.52
3	2	2	8	20590.20
3	2	2	9	21326.01
3	2	2	10	19969.14

**Dunnett - Reflectância**

Clareador	Tempo	Rep	Valor	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
Fa	1	1	18408.61	inicial		
Fa	1	2	18042.95	manchamento		
Fa	1	3	18671.02	final		
Fa	1	4	17718.61			
Fa	1	5	17817.84			
Fa	1	6	18144.12			
Fa	1	7	18865.62			
Fa	1	8	18606.60			
Fa	1	9	17575.22			
Fa	1	10	19202.69			
Fa	2	1	17008.21			
Fa	2	2	16327.52			
Fa	2	3	17111.07			
Fa	2	4	16475.04			
Fa	2	5	16124.51			
Fa	2	6	17696.09			
Fa	2	7	17599.23			
Fa	2	8	16599.23			
Fa	2	9	16446.54			
Fa	2	10	16980.56			
Fa	3	1	20165.37			
Fa	3	2	19652.31			
Fa	3	3	19423.56			
Fa	3	4	20293.67			
Fa	3	5	19719.02			
Fa	3	6	19003.53			
Fa	3	7	20775.95			
Fa	3	8	19813.03			
Fa	3	9	18961.62			
Fa	3	10	20497.27			

Clareador	Tempo	Rep	Valor
Maxx	1	1	17926.84
Maxx	1	2	18195.63
Maxx	1	3	18345.72
Maxx	1	4	19142.67
Maxx	1	5	17992.57
Maxx	1	6	18203.21
Maxx	1	7	20010.80
Maxx	1	8	18430.59

Maxx	1	9	18179.34
Maxx	1	10	18857.98
Maxx	2	1	16193.06
Maxx	2	2	17232.40
Maxx	2	3	17414.81
Maxx	2	4	16988.45
Maxx	2	5	17280.06
Maxx	2	6	16989.02
Maxx	2	7	17330.76
Maxx	2	8	17966.55
Maxx	2	9	16117.82
Maxx	2	10	17540.71
Maxx	3	1	19474.12
Maxx	3	2	20091.70
Maxx	3	3	20268.84
Maxx	3	4	18018.69
Maxx	3	5	19388.25
Maxx	3	6	19019.03
Maxx	3	7	18167.42
Maxx	3	8	19837.48
Maxx	3	9	21194.07
Maxx	3	10	19022.47

<b>Clareador</b>	<b>Tempo</b>	<b>Rep</b>	<b>Valor</b>
Op	1	1	17002.19
Op	1	2	19745.55
Op	1	3	16587.02
Op	1	4	17933.04
Op	1	5	19325.37
Op	1	6	18594.75
Op	1	7	18206.31
Op	1	8	18536.49
Op	1	9	17685.32
Op	1	10	19268.62
Op	2	1	17033.88
Op	2	2	16054.27
Op	2	3	16054.27
Op	2	4	17344.56
Op	2	5	16318.44
Op	2	6	17278.20
Op	2	7	17058.32
Op	2	8	16756.71
Op	2	9	16583.81
Op	2	10	16602.84
Op	3	1	19953.36
Op	3	2	19360.69
Op	3	3	19175.15
Op	3	4	21384.55
Op	3	5	20171.87
Op	3	6	21163.03
Op	3	7	21086.52
Op	3	8	20590.20
Op	3	9	21326.01
Op	3	10	19969.14

**Fatorial Sub - Raman**

Clareador	Manchamento	Tempo	Rep	Valor
1	1	1	1	6.2
1	1	1	2	6.6
1	1	1	3	6.3
1	1	1	4	5.9
1	1	1	5	5.9
1	1	1	6	6.2
1	1	1	7	5.8
1	1	1	8	5.5
1	1	1	9	6.2
1	1	1	10	5.8
1	1	2	1	7.0
1	1	2	2	5.9
1	1	2	3	7.3
1	1	2	4	6.1
1	1	2	5	6.1
1	1	2	6	6.4
1	1	2	7	6.8
1	1	2	8	5.2
1	1	2	9	6.2
1	1	2	10	6.2
1	2	1	1	5.7
1	2	1	2	5.8
1	2	1	3	5.6
1	2	1	4	5.6
1	2	1	5	5.8
1	2	1	6	6.8
1	2	1	7	6.2
1	2	1	8	6.1
1	2	1	9	6.2
1	2	1	10	6.2
1	2	2	1	6.0
1	2	2	2	5.6
1	2	2	3	5.9
1	2	2	4	5.5
1	2	2	5	6.5
1	2	2	6	6.9
1	2	2	7	6.8
1	2	2	8	6.7
1	2	2	9	5.7
1	2	2	10	6.4
2	1	1	1	7.0
2	1	1	2	6.2
2	1	1	3	5.6
2	1	1	4	5.9
2	1	1	5	6.5
2	1	1	6	6.7
2	1	1	7	6.6
2	1	1	8	5.5
2	1	1	9	6.6
2	1	1	10	8.5
2	1	2	1	6.9
2	1	2	2	5.9
2	1	2	3	6.3
2	1	2	4	6.3
2	1	2	5	6.9

**Clareador 1**  
**Clareador 2**  
**Clareador 3**

**Fa**  
**Maxx**  
**Op**

**Manchamento 1**  
**Manchamento 2**

**não**  
**sim**

**Tempo 1**  
**Tempo 2**

**inicial**  
**final**

2	1	2	6	5.7
2	1	2	7	7.4
2	1	2	8	5.5
2	1	2	9	6.5
2	1	2	10	6.3
2	2	1	1	5.7
2	2	1	2	5.7
2	2	1	3	5.4
2	2	1	4	6.1
2	2	1	5	6.0
2	2	1	6	5.2
2	2	1	7	5.9
2	2	1	8	5.6
2	2	1	9	5.7
2	2	1	10	5.6
2	2	2	1	6.5
2	2	2	2	6.2
2	2	2	3	5.8
2	2	2	4	5.8
2	2	2	5	5.5
2	2	2	6	5.8
2	2	2	7	5.9
2	2	2	8	5.7
2	2	2	9	6.0
2	2	2	10	5.9
3	1	1	1	6.4
3	1	1	2	6.3
3	1	1	3	5.4
3	1	1	4	5.8
3	1	1	5	5.3
3	1	1	6	5.6
3	1	1	7	5.9
3	1	1	8	6.0
3	1	1	9	6.1
3	1	1	10	5.7
3	1	2	1	6.5
3	1	2	2	6.3
3	1	2	3	5.2
3	1	2	4	5.8
3	1	2	5	5.2
3	1	2	6	5.4
3	1	2	7	6.0
3	1	2	8	5.8
3	1	2	9	5.3
3	1	2	10	5.3
3	2	1	1	5.7
3	2	1	2	5.4
3	2	1	3	6.0
3	2	1	4	5.6
3	2	1	5	5.8
3	2	1	6	5.3
3	2	1	7	6.0
3	2	1	8	6.2
3	2	1	9	6.9
3	2	1	10	7.0
3	2	2	1	5.7
3	2	2	2	5.4



3	2	2	3	6.0
3	2	2	4	5.3
3	2	2	5	5.8
3	2	2	6	5.3
3	2	2	7	5.7
3	2	2	8	5.3
3	2	2	9	7.2
3	2	2	10	6.4

**Dunnett - Raman**

Clareador	Tempo	Rep	Valor	Tempo 1	inicial
Fa	1	1	5.7	Tempo 2	manchamento
Fa	1	2	5.8	Tempo 3	final
Fa	1	3	5.6		
Fa	1	4	5.6		
Fa	1	5	5.8		
Fa	1	6	6.8		
Fa	1	7	6.2		
Fa	1	8	6.1		
Fa	1	9	6.2		
Fa	1	10	6.2		
Fa	2	1	6.3		
Fa	2	2	5.8		
Fa	2	3	5.6		
Fa	2	4	5.4		
Fa	2	5	5.6		
Fa	2	6	6.4		
Fa	2	7	5.9		
Fa	2	8	6.0		
Fa	2	9	5.6		
Fa	2	10	5.6		
Fa	3	1	6.0		
Fa	3	2	5.6		
Fa	3	3	5.9		
Fa	3	4	5.5		
Fa	3	5	6.5		
Fa	3	6	6.9		
Fa	3	7	6.8		
Fa	3	8	6.7		
Fa	3	9	5.7		
Fa	3	10	6.4		

Clareador	Tempo	Rep	Valor
Maxx	1	1	5.7
Maxx	1	2	5.7
Maxx	1	3	5.4
Maxx	1	4	6.1
Maxx	1	5	6.0
Maxx	1	6	5.2
Maxx	1	7	5.9
Maxx	1	8	5.6
Maxx	1	9	5.7
Maxx	1	10	5.6
Maxx	2	1	6.1
Maxx	2	2	5.5

Maxx	2	3	6.0
Maxx	2	4	6.0
Maxx	2	5	5.8
Maxx	2	6	6.1
Maxx	2	7	6.0
Maxx	2	8	4.8
Maxx	2	9	5.6
Maxx	2	10	5.9
Maxx	3	1	6.5
Maxx	3	2	6.2
Maxx	3	3	5.8
Maxx	3	4	5.8
Maxx	3	5	5.5
Maxx	3	6	5.8
Maxx	3	7	5.9
Maxx	3	8	5.7
Maxx	3	9	6.0
Maxx	3	10	5.9

<b>Clareador</b>	<b>Tempo</b>	<b>Rep</b>	<b>Valor</b>
Op	1	1	5.7
Op	1	2	5.4
Op	1	3	6.0
Op	1	4	5.6
Op	1	5	5.8
Op	1	6	5.3
Op	1	7	6.0
Op	1	8	6.2
Op	1	9	6.9
Op	1	10	7.0
Op	2	1	5.6
Op	2	2	5.1
Op	2	3	5.1
Op	2	4	5.3
Op	2	5	5.8
Op	2	6	5.4
Op	2	7	5.7
Op	2	8	5.4
Op	2	9	5.7
Op	2	10	6.8
Op	3	1	5.7
Op	3	2	5.4
Op	3	3	6.0
Op	3	4	5.3
Op	3	5	5.8
Op	3	6	5.3
Op	3	7	5.7
Op	3	8	5.3
Op	3	9	7.2
Op	3	10	6.4