



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
Campus de Araçatuba

**MURILO HENRIQUE TORRES DA SILVA**

**INFLUÊNCIA DA INCORPORAÇÃO DE QUITOSANA E  
NANODIAMANTES EM CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO**

**Araçatuba**  
**2022**

**MURILO HENRIQUE TORRES DA SILVA**

**INFLUÊNCIA DA INCORPORAÇÃO DE QUITOSANA E  
NANODIAMANTES EM CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique dos Santos

**Araçatuba  
2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Paulo Henrique dos Santos**, a quem devo toda confiança acadêmica adquirida nos anos da minha graduação. Muito obrigado por ter acreditado e investido em mim. Sinto-me honrado em ter feito parte da sua equipe de pesquisa como iniciação científica durante todos estes anos. Tens o meu respeito e minha admiração.

Ao **Dr. Henrico Badaoui Strazzi Sahyon**, a quem serei eternamente grato por sua paciência, compreensão e parceria na elaboração deste trabalho. Desde o começo se dispôs a colaborar com este projeto e assim o fez. Obrigado, meu amigo, você é um grande exemplo para mim.

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP**, na pessoa do Diretor Prof. Tit. Glauco Issamu Miyahara, pelo investimento no crescimento desta faculdade e na pesquisa acadêmica.

À agência de fomento **FAPESP**, que, a partir do processo nº 2019/08988-1, investiu nesta pesquisa contribuindo para a sua conclusão.

*“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.”*

*Provérbios, 16.3 – Bíblia Sagrada;*

Silva MHT. Influência da incorporação de quitosana e nanodiamantes em cimento de ionômero de vidro. 2022. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2022.

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da incorporação de quitosana e nanodiamantes na estabilidade de cor, rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza em um cimento de ionômero de vidro. Para o estudo, 40 amostras foram confeccionadas e divididas em 4 grupos experimentais de acordo com a incorporação de quitosana e nanodiamantes em cimento ionomérico Fuji II: Grupo 1 (controle): nenhuma incorporação; Grupo 2: com 10% de quitosana; Grupo 3: com 10% de nanodiamantes; Grupo 4: com 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes. A estabilidade cromática, rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza foram mensuradas respectivamente pelos equipamentos espectrofotômetro de reflexão ultravioleta visível; rugosímetro, espectrofotômetro de fluorescência e microdurômetro. As amostras foram armazenadas individualmente em vinho tinto por 28 dias e, então, novamente analisadas. Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância e teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). Amostras representativas de todos os grupos experimentais antes e após o envelhecimento foram submetidas à microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva. A incorporação de 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes promoveu resultados semelhantes ao grupo controle. Sendo assim, de maneira geral, a incorporação de 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes é uma escolha satisfatória no aprimoramento das propriedades do cimento de ionômero de vidro.

**Palavras-chaves:** Cimento de ionômero de vidro; Quitosana; Nanodiamantes.

Silva MHT. Influence of chitosan and nanodiamond incorporation in glass ionomer cement. Final paper – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2022.

## **ABSTRACT**

The objective of this work was to evaluate the effect of chitosan and nanodiamonds incorporation on color stability, surface roughness, fluorescence intensity and microhardness of a glass ionomer cement. For the study, 40 samples were made and shared into 4 experimental groups according to the incorporation of chitosan and nanodiamonds in Fuji II ionomeric cement: Group 1 (control): with no add incorporation; Group 2: with 10% chitosan; Group 3: with 10% nanodiamonds; Group 4: with 5% chitosan and 5% nanodiamonds. The chromatic stability, surface roughness, fluorescence intensity and microhardness were measured respectively by the ultraviolet visible reflection spectrophotometer equipment; rugosimeter, fluorescence spectrophotometer and microhardness tester, before and after immersion for 28 days in red wine. The data obtained were analyzed by ANOVA and Tukey's test ( $\alpha = 0.05$ ). Samples from all experimental groups before and after aging were subjected to scanning electron microscopy and energy dispersive spectroscopy. The incorporation of 5% chitosan and 5% nanodiamonds promotes results similar to the control group. In this manner, the incorporation of 5% nanodiamond and 5% nanodiamond seems to be promising in the improvement of glass ionomer cement.

**Keywords:** glass ionomer cement; chitosan; nanodiamond.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Matrizes de silicone de adição	<b>13</b>
<b>Figura 2</b> - Amostras do cimento ionomérico	<b>14</b>
<b>Figura 3</b> - Espectrofotômetro de reflexão ultravioleta visível, modelo UV-2450	<b>15</b>
<b>Figura 4</b> - Gráfico da obtenção do espectro cromático do espécime	<b>15</b>
<b>Figura 5</b> - Perfilômetro, modelo SurfTest SJ 400	<b>16</b>
<b>Figura 6</b> - Análise da rugosidade superficial	<b>16</b>
<b>Figura 7</b> - Espectrofotômetro de fluorescência, modelo RF-5301 PC	<b>17</b>
<b>Figura 8</b> - Gráfico da obtenção do espectro de fluorescência	<b>17</b>
<b>Figura 9</b> - Microdurômetro Micromet 5114	<b>18</b>
<b>Figura 10</b> - Indentação no cimento ionomérico	<b>18</b>
<b>Figura 11</b> - Amostra representativa do grupo controle (sem incorporação)	<b>24</b>
<b>Figura 12</b> - Amostra representativa do grupo ionomérico incorporado com 10% de quitosana	<b>24</b>
<b>Figura 13</b> - Amostra representativa do grupo ionomérico incorporado com 10% de nanodiamantes	<b>25</b>
<b>Figura 14</b> - Amostra representativa do grupo ionomérico com 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes	<b>25</b>
<b>Figura 15</b> - Espectro dos elementos obtidos (porcentagem) para o grupo controle (sem incorporação) antes (A) e após o envelhecimento (B)	<b>26</b>
<b>Figura 16</b> - Espectro dos elementos obtidos (porcentagem) para o grupo ionomérico incorporado com 10% de quitosana antes (A) e após o envelhecimento (B)	<b>26</b>
<b>Figura 17</b> - Espectro dos elementos obtidos (porcentagem) para o grupo ionomérico incorporado com 10% de nanodiamantes antes (A) e após o envelhecimento (B)	<b>26</b>
<b>Figura 18</b> - Espectro dos elementos obtidos (porcentagem) para o grupo ionomérico incorporado com 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes antes (A) e após o envelhecimento (B)	<b>27</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição dos grupos de cimentos de ionômeros de vidro	<b>12</b>
<b>Tabela 2</b> - Valores de alteração de cor ( $\Delta E \pm$ desvio padrão) em função dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro	<b>20</b>
<b>Tabela 3</b> - Média e desvio padrão dos parâmetros colorimétricos ( $\Delta L^*$ , $\Delta a^*$ e $\Delta b^*$ ) dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro	<b>20</b>
<b>Tabela 4</b> - Valores de rugosidade superficial ( $R_a$ e $R_z \pm$ desvio padrão) em função dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro antes e após o envelhecimento em solução de vinho	<b>21</b>
<b>Tabela 5</b> - Valores de intensidade de fluorescência ( $\pm$ desvio padrão) em função dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro antes e após o envelhecimento em solução de vinho	<b>22</b>
<b>Tabela 6</b> - Valores de microdureza Knoop ( $\pm$ desvio padrão) em função dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro antes e após o envelhecimento em solução de vinho	<b>23</b>

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	9
MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
Materiais .....	12
Confecção dos blocos de cimento de ionômero de vidro .....	12
Avaliação da estabilidade de cor .....	14
Rugosidade Superficial .....	15
Intensidade de Fluorescência.....	16
Microdureza Knoop .....	17
Processo de Envelhecimento das Amostras.....	18
Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS) .....	19
Análise estatística.....	19
RESULTADOS .....	20
Estabilidade de Cor.....	20
Rugosidade Superficial .....	21
Intensidade de Fluorescência.....	22
Microdureza.....	23
Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	23
Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) .....	26
DISCUSSÃO .....	28
CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIAS.....	33

## INTRODUÇÃO

Introduzido no final da década de 1960 por Wilson e Kent, o cimento de ionômero de vidro é um material de coloração semelhante ao dente,<sup>1</sup> cujas propriedades como adesão química a estruturas dentárias, coeficiente de expansão térmica semelhante ao dente e biocompatibilidade o faz ser material de escolha para tratamento restaurador atraumático.<sup>2,3</sup> Além das características citadas, os cimentos de ionômero de vidro possuem ação anticariogênica, pois as substâncias presentes em sua composição, ao se ligarem no elemento dental, liberam íons de flúor ao longo do tempo.<sup>3-6</sup>

Apesar destas vantagens, apresentam como limitações baixa resistência ao desgaste e fragilidade limitando a sua aplicabilidade clínica, uma vez que apresentam vulnerabilidade às tensões e às forças oriundas do sistema estomatognático. Ademais, estudos *in vitro* e *in vivo* têm relatado a ocorrência de acúmulo de placa bacteriana sobre materiais restauradores, o que poderia ocasionar condições clínicas insatisfatórias, tais como mau hálito, cáries secundárias, sangramento, gengivite e em casos mais severos a periodontite.<sup>3,7-10</sup>

Neste sentido, pesquisadores têm avaliado a influência da incorporação de agentes antibacterianos em materiais restauradores com o intuito de aumentar a longevidade clínica destes materiais na cavidade oral.<sup>9-12</sup> A quitosana, polissacarídeo derivado da quitina encontrada em exoesqueletos de crustáceos, é um biomaterial que tem se destacado na incorporação de materiais restauradores em virtude de sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades adesivas ao substrato dentário, propriedades anti-inflamatórias e antibacteriana, prevenção da desmineralização do

esmalte dentário e inibição do acúmulo de placa bacteriana,<sup>13-17</sup> além de servir como um material de reforço para o composto restaurador.<sup>3,17</sup> Embora não se saiba exatamente o mecanismo de ação da quitosana, seu uso tem sido amplamente empregado em diferentes materiais odontológicos tais como sistemas adesivos, colutórios bucais, dentifrícios, resinas compostas e cimentos de ionômero de vidro. Estudos têm demonstrado efetividade da associação da substância quitosana com a atividade antibacteriana para *Streptococcus* presentes na cavidade bucal, proporcionando uma atuação satisfatória e benéfica, uma vez que estes microorganismos estão diretamente relacionados no desenvolvimento da doença cárie.<sup>18,19</sup>

Devido à baixa resistência ao desgaste e a fragilidade dos cimentos de ionômeros de vidro convencionais, seria de grande interesse o estudo para incorporação de outros biomateriais capazes de aprimorar as propriedades mecânicas dos cimentos ionoméricos, dentre eles partículas de nanodiamantes. Nanomateriais a base de carbono, também denominados de nanodiamantes têm sido amplamente empregados em materiais devido as suas propriedades de biocompatibilidade, dureza, condutividade térmica e elevada resistência mecânica.<sup>20-</sup><sup>23</sup> O reforço de materiais pela incorporação de nanodiamantes em matrizes poliméricas tem demonstrado resultados interessantes e satisfatórios.<sup>23</sup> Dessa forma, a avaliação da incorporação de nanodiamantes em cimentos ionoméricos seria de grande valia, uma vez que podem proporcionar maiores propriedades mecânicas e maior longevidade ao material restaurador.

Além das propriedades intrínsecas dos materiais ionoméricos, algumas ações do cotidiano, tais como a ingestão de alimentos e bebidas contendo corantes, podem influenciar a estrutura dos cimentos de ionômero de vidro. A incorporação de

corantes no material restaurador poderia ocorrer devido à capacidade da sorção do líquido pela matriz orgânica e também pela textura superficial do material que poderia agir como uma estrutura irregular resultante da ação ácida provocando a alteração cromática da restauração.<sup>24</sup> Como resultado destas reações, o manchamento se torna uma das principais preocupações clínicas, acarretando em substituição das restaurações.

A ingestão de vinho provoca maiores chances de manchamento devido à presença de corantes em sua composição. Além disso, o baixo pH é o que mais desperta o cuidado da interação desta solução com as superfícies dentárias e dos materiais restauradores.<sup>25</sup> O alto conteúdo de etanol e tanino podem afetar a integridade superficial e causar a alteração da restauração, além de permitir o amolecimento da matriz orgânica afetando as propriedades mecânicas e rugosidade superficial do cimento ionomérico.<sup>26,27</sup>

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da incorporação de quitosana e nanodiamantes na estabilidade de cor, rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza de um cimento de ionômero de vidro. As hipóteses nulas testadas foram: 1) A incorporação de quitosana e nanodiamantes não influenciaria na estabilidade de cor, rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza do material restaurador; 2) o envelhecimento na solução de vinho tinto não causaria alterações na rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza do cimento de ionômero de vidro.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Materiais

Os materiais utilizados neste estudo estão ilustrados na tabela 1.

**Tabela 1** - Composição dos grupos de cimentos de ionômeros de vidro

<b>Grupos</b>	<b>Pó</b>	<b>Líquido</b>
Fuji II	Pó não modificado	Líquido de ácido poliacrílico não modificado
Fuji II-Q	Pó modificado com 10% de quitosana	Líquido de ácido poliacrílico não modificado
Fuji II-D	Pó modificado com 10% de nanodiamantes	Líquido de ácido poliacrílico não modificado
Fuji II-QD	Pó modificado com 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes	Líquido de ácido poliacrílico não modificado

### Confeção dos blocos de cimento de ionômero de vidro

Quatro materiais foram avaliados: ionômero de vidro Fuji II (GC Corporation, Tokyo, Japão) sem incorporação de nenhum aditivo (grupo Fuji II); ionômero de vidro modificado pela incorporação de 10% de quitosana (Fuji II-Q); ionômero de vidro modificado pela incorporação de 10% de nanodiamante (Fuji II-D); e ionômero de vidro modificado pela incorporação de 5% de quitosana e 5% de nanodiamante (Fuji II-QD). As partículas de quitosana, que tem grau desacetilação de 90% e peso molecular de 375 KDa (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA), e/ou nanodiamantes, partículas de carbono com diâmetro médio entre 2 a 8 nm (Ebersoles), foram incorporadas ao pó do cimento de ionômero de vidro e misturadas através de um misturador mecânico por 5 minutos, e subsequentemente

por um misturador ultrassônico durante 3 minutos a fim de se obter uma consistência homogênea do material.<sup>27-29</sup>

Dez amostras de cimento de cada grupo foram confeccionadas utilizando uma matriz pré-conformada (5 mm de diâmetro e 2 mm de profundidade) de silicone de adição (Express XT, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (Figura 1). O cimento ionomérico foi manuseado de acordo com as recomendações do fabricante e inserido utilizando uma espátula Thompson. Após a inserção, uma tira de poliéster transparente e uma fina placa de vidro foram colocadas sobre o compósito na parte superior da matriz a fim de nivelar o material. As amostras foram planificadas manualmente com lixa de granulação 600, 800 e 1200 (Extec Corp, Enfield, CT, USA) sob refrigeração em água e polidas com pastas diamantadas (6, 3, e 1  $\mu\text{m}$  - Extec Corp, Enfield, CT, USA) por um período de 3 minutos cada etapa. A seguir, as amostras foram submetidas a banho de ultrassom (Cristófoli, Campo Mourão, PR, Brasil) por 5 minutos para remoção de resíduos a cada troca de lixa e pastas diamantadas e no final do processo (Figura 2).



**Figura 1** - Matrizes de silicone de adição



**Figura 2 - Amostras do cimento ionomérico**

### **Avaliação da estabilidade de cor**

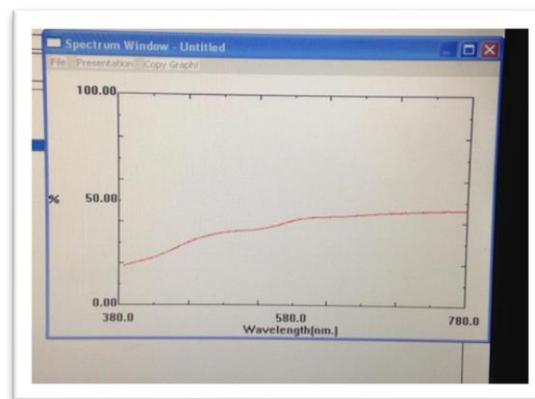
As amostras foram submetidas à análise cromática inicial, por meio de um Espectrofotômetro de Reflexão Ultravioleta Visível\*, Modelo UV-2450 (Shimadzu, Kyoto, Japão) (Figura 3), com a avaliação de cor calculada através do Sistema CIE L\*a\*b\*, estabelecido pela Comissão Internationale de l'Eclairage – CIE. Este consiste de dois eixos a\* e b\*, que possuem ângulos retos e representam a dimensão de tonalidade ou cor (a\*: proporção vermelho-verde; b\*: proporção amarelo-azul). O terceiro eixo é o brilho, representado pela letra L\*. Este é perpendicular ao plano a\*b\*. Com este sistema, qualquer cor pode ser especificada com as coordenadas L\*, a\*, b\*. Foi realizada uma demarcação na porção posterior de cada amostra para permitir a sua padronização de inserção no dispositivo de análise de cor. Foram realizadas cinco leituras de análise de cor para cada amostra e posteriormente os valores foram submetidos a uma média aritmética (Figura 4).

A estabilidade de cor foi determinada pela diferença ( $\Delta E$ ) entre as coordenadas obtidas das amostras antes e após o procedimento de envelhecimento. A mudança de cor,  $\Delta E$ , é comumente usada para representar uma diferença de cor e é calculada a partir da fórmula:<sup>27,30</sup>

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$



**Figura 3** - Espectrofotômetro de reflexão ultravioleta visível, modelo UV-2450



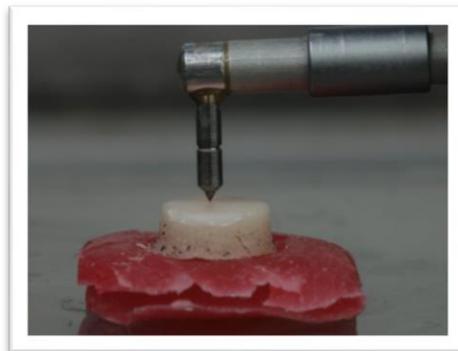
**Figura 4** - Gráfico da obtenção do espectro cromático do espécime

## Rugosidade Superficial

A rugosidade de superfície foi determinada com perfilômetro (Surftest SJ 400, Mitutoyo Corp., Tóquio, Japão) (Figura 5). A ponta medidora do perfilômetro foi posicionada na superfície do espécime e os valores de Ra e Rz foram mensurados usando *cut-off* de 0,8mm, à velocidade de 0,1mm/s (Figura 6). Três leituras foram realizadas sobre cada superfície em diferentes posições, e uma média aritmética foi calculada. Cada leitura foi obtida após girar o espécime em 120 graus.<sup>27,31</sup>



**Figura 5** - Perfilômetro, modelo SurfTest SJ 400



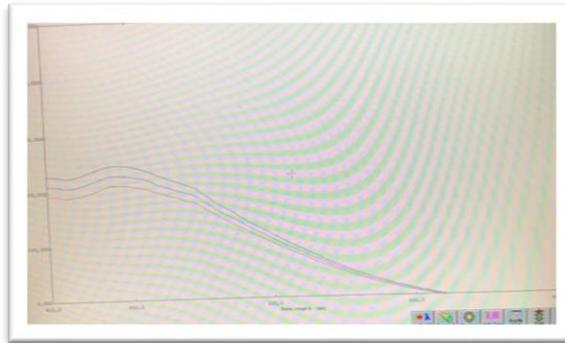
**Figura 6** - Análise da rugosidade superficial

### **Intensidade de Fluorescência**

As leituras de fluorescência foram realizadas em todas as amostras utilizando o espectrofotômetro de fluorescência RF-5301 PC (Shimadzu Corp., Kyoto, Japão) (Figura 7). Os espécimes foram fixados no espectrofluorímetro com incidência do feixe de excitação no centro da amostra (370nm), com “slits” de emissão de 5,0 nm de abertura. Os dados obtidos foram registrados no computador acoplado ao espectrofluorímetro na forma de gráfico, registrando todos os valores de intensidade de fluorescência que se encontrarem no espectro de luz visível entre 400 nm e 600 nm. A média dos valores de intensidade de fluorescência entre 420 nm e 470 nm de comprimento de onda, correspondentes ao espectro de luz visível entre o violeta e o azul, foi calculada. Foram realizadas três leituras em cada espécime e uma média aritmética foi realizada posteriormente (Figura 8).<sup>32</sup>



**Figura 7** - Espectrofotômetro de fluorescência, modelo RF-5301 PC



**Figura 8** - Gráfico da obtenção do espectro de fluorescência

### **Microdureza Knoop**

Os espécimes foram levados ao microdurômetro Micromet 5114 (Buehler, Lake Bluff, USA) (Figura 9), para verificação da microdureza do cimento de ionômero de vidro para cada grupo experimental. Cinco endentações foram realizadas usando uma carga de 25 gramas durante 5 segundos (Figura 10) e uma média aritmética foi realizada posteriormente. Os valores de dureza Knoop foram avaliados pelo software Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, USA).<sup>33</sup>



**Figura 9** - Microdurômetro Micromet 5114



**Figura 10** - Indentação no cimento ionomérico

### **Processo de Envelhecimento das Amostras**

Após as leituras iniciais de estabilidade de cor, rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza, as amostras de cada grupo foram imersas individualmente em frascos contendo 5 ml de vinho tinto (Valdorella, Malbec, Argentina) por um período de 28 dias, mantidos em estufa (ECB-2, Adamo Products for Laboratory Ltda, Piracicaba, São Paulo, Brasil) em temperatura de 37°C. Os frascos foram selados para prevenir a evaporação da solução a qual foi trocada semanalmente.<sup>27,34</sup>

## **Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS)**

Amostras representativas de cada grupo (n=2), pré e pós-envelhecidas em vinho, foram fixadas em *stubs* metálico, sendo metalizadas com ouro em metalizador (Balzers SCD-050 sputter coater, Alemanha) e levados em microscopia eletrônica de varredura (JEOL JSM 500LV, Tóquio, Japão) para ilustração da morfologia superficial do material restaurador.<sup>35</sup> Ademais, foi analisada a composição do material restaurador para cada grupo experimental utilizando espectroscopia de energia dispersiva (JEOL JSM 500LV, Tóquio, Japão).

## **Análise estatística**

Os dados da estabilidade de cor, rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza foram submetidos ao teste de normalidade (Teste de Shapiro-Wilk; Programa Bioestat 2.0) e homogeneidade (Teste de Bartlett; Programa Assistat 7.7 beta). As médias de estabilidade de cor foram submetidas à ANOVA (Programa 5.0 Statview, Versão 5.0.1) e teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). As médias de rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza foram submetidas à ANOVA 2 fatores para medidas repetidas (Programa 5.0 Statview, Versão 5.0.1) e teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Estabilidade de Cor

Os valores da estabilidade de cor ( $\Delta E$ ) e dos parâmetros de cada coordenada colorimétrica ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$ ) para os diferentes grupos de cimento de ionômero de vidro estão ilustrados na Tabela 2 e 3. De acordo com a Tabela 2, pode-se observar que houve diferença significativa na comparação entre os grupos experimentais de cimento de ionômero de vidro ( $p < 0,05$ ). A incorporação de 10% de quitosana no material ionomérico promoveu maiores valores de alteração cromática quando comparado ao cimento de ionômero de vidro incorporado com 10% de nanodiamantes ( $p = 0,0037$ ). Entretanto, não houve diferença significativa na comparação com os grupos de ionômero de vidro sem incorporação (controle) e incorporado com 5% de quitosana e 5% nanodiamantes ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 2** - Valores de alteração de cor ( $\Delta E \pm$  desvio padrão) em função dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro

Grupos	Fuji II	Fuji II-Q	Fuji II-D	Fuji II-QD
	9,17 $\pm$ 3,36 AB	12,24 $\pm$ 2,76 A	5,86 $\pm$ 1,35 B	8,10 $\pm$ 5,56 AB

Médias seguidas por letras distintas apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 3** - Média e desvio padrão dos parâmetros colorimétricos ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$ ) dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro

Grupos	Fuji II	Fuji II-Q	Fuji II-D	Fuji II-QD
<b>Parâmetros</b>				
$\Delta L^*$	- 8,26 $\pm$ 4,13	- 10,42 $\pm$ 3,32	- 3,17 $\pm$ 4,10	- 6,23 $\pm$ 6,17
$\Delta a^*$	2,01 $\pm$ 0,78	5,20 $\pm$ 0,64	1,49 $\pm$ 0,44	3,06 $\pm$ 1,04
$\Delta b^*$	- 0,82 $\pm$ 2,46	- 0,08 $\pm$ 3,44	2,35 $\pm$ 1,96	2,72 $\pm$ 1,73

## Rugosidade Superficial

Os valores da rugosidade superficial (Ra e Rz) para os diferentes grupos de cimento de ionômero de vidro, antes e após o envelhecimento, estão ilustrados na Tabela 4. De acordo com a Tabela 4, não houve diferença significativa nos valores de Ra e Rz para os diferentes grupos experimentais do material ionomérico antes do envelhecimento ( $p > 0,05$ ). Porém, após o envelhecimento das amostras em solução de vinho tinto, o grupo de cimento de ionômero de vidro incorporado com 10% de quitosana apresentou maiores valores de rugosidade (Ra e Rz) em relação ao material incorporado com 10% de nanodiamantes (Ra [ $p = 0,0083$ ] e Rz [ $p = 0,0325$ ]). Não houve diferença estatística na rugosidade superficial (Ra e Rz) comparando o grupo incorporado com 10% de quitosana para o grupo controle (sem incorporação) e para o grupo incorporado com 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes ( $p > 0,05$ ). Com relação ao envelhecimento, pode-se notar que a solução de vinho promoveu maiores alterações para ambos os parâmetros de rugosidade superficial (Ra e Rz) de todos os grupos experimentais quando comparados aos valores antes do envelhecimento ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4).

**Tabela 4** - Valores de rugosidade superficial (Ra e Rz  $\pm$  desvio padrão) em função dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro antes e após o envelhecimento em solução de vinho

Grupos	Fuji II	Fuji II-Q	Fuji II-D	Fuji II-QD
<b>Ra</b>				
Antes Envelhecimento	0,78 $\pm$ 0,29 B a	0,80 $\pm$ 0,16 B a	0,62 $\pm$ 0,14 B a	0,74 $\pm$ 0,09 B a
Após Envelhecimento	3,35 $\pm$ 1,69 A ab	4,52 $\pm$ 1,94 A a	2,03 $\pm$ 1,15 A b	3,51 $\pm$ 1,10 A ab
<b>Rz</b>				
Antes Envelhecimento	6,19 $\pm$ 2,61 B a	5,02 $\pm$ 1,70 B a	4,34 $\pm$ 1,94 B a	5,54 $\pm$ 1,22 B a
Após Envelhecimento	19,82 $\pm$ 10,22 A ab	25,98 $\pm$ 9,02 A a	13,48 $\pm$ 6,10 A b	22,52 $\pm$ 10,94 A ab

Médias seguidas por letras distintas (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) apresentam diferença estatisticamente significativa para cada parâmetro avaliado ( $p < 0,05$ ).

## Intensidade de Fluorescência

Os valores da intensidade de fluorescência para os diferentes cimentos de ionômero de vidro, antes e após o envelhecimento, estão ilustrados na Tabela 5. De acordo com a Tabela 5, pode-se observar que a incorporação de 10% de quitosana e a incorporação de 5% de quitosana juntamente com 5% de nanodiamantes ao material ionomérico promoveram maiores valores de intensidade de fluorescência quando comparados ao grupo controle (sem incorporação) antes do envelhecimento ( $p < 0,05$ ). Entretanto, após o envelhecimento, o grupo controle apresentou maiores valores de intensidade de fluorescência quando comparado com os grupos de cimento de ionômero de vidro incorporado com 10% de quitosana e com o grupo incorporado com 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre o grupo controle com o grupo do material ionomérico incorporado com 10% de nanodiamantes antes e após o envelhecimento ( $p > 0,05$ ). A solução de vinho promoveu menores valores de intensidade de fluorescência para todos os grupos experimentais quando comparado aos valores de pré-ciclagem ( $p < 0,05$ ), exceto para o grupo controle ( $p > 0,05$ ) (Tabela 5).

**Tabela 5** - Valores de intensidade de fluorescência ( $\pm$  desvio padrão) em função dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro antes e após o envelhecimento em solução de vinho

Grupos	Fuji II	Fuji II-Q	Fuji II-D	Fuji II-QD
Antes Envelhecimento	40,03 $\pm$ 14,59 A b	112,60 $\pm$ 57,00 A a	86,21 $\pm$ 34,92 A ab	99,21 $\pm$ 49,31 A a
Após Envelhecimento	66,51 $\pm$ 30,75 A a	23,88 $\pm$ 13,86 B b	48,84 $\pm$ 33,15 B ab	27,57 $\pm$ 16,61 B b

Médias seguidas por letras distintas (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

## Microdureza

Os valores da microdureza Knoop para os diferentes grupos de cimento de ionômero de vidro, antes e após o envelhecimento, estão ilustrados na Tabela 6. De acordo com a Tabela 6, pode-se observar que o material ionomérico incorporado com 10% de nanodiamantes apresentou maiores valores de dureza antes do envelhecimento quando comparado aos demais grupos experimentais ( $p < 0,05$ ). Entretanto, após o período de envelhecimento em solução de vinho, não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos experimentais ( $p > 0,05$ ). O envelhecimento promoveu uma diminuição significativa nos valores da microdureza Knoop para todos os grupos ionoméricos ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 6** - Valores de microdureza Knoop ( $\pm$  desvio padrão) em função dos grupos experimentais do cimento de ionômero de vidro antes e após o envelhecimento em solução de vinho

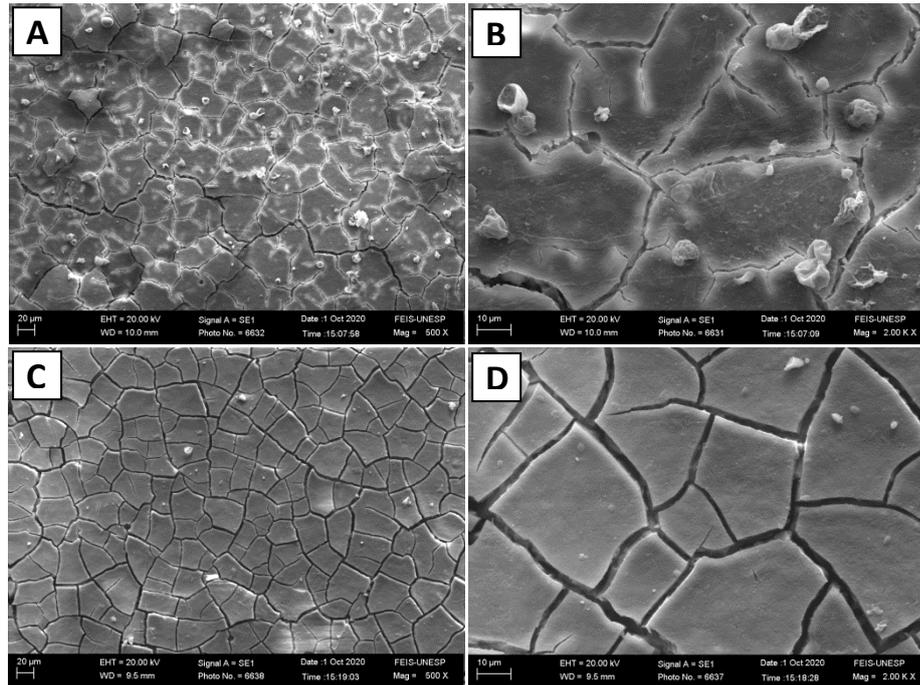
<b>Grupos</b>	<b>Fuji II</b>	<b>Fuji II-Q</b>	<b>Fuji II-D</b>	<b>Fuji II-QD</b>
Antes Envelhecimento	88,63 $\pm$ 26,49 A b	82,63 $\pm$ 18,79 A b	123,03 $\pm$ 28,36 A a	82,92 $\pm$ 12,23 A b
Após Envelhecimento	35,84 $\pm$ 12,30 B a	32,37 $\pm$ 11,08 B a	33,19 $\pm$ 9,59 B a	39,09 $\pm$ 6,67 B a

Médias seguidas por letras distintas (maiúsculas na coluna e minúsculas na linha) apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

## Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

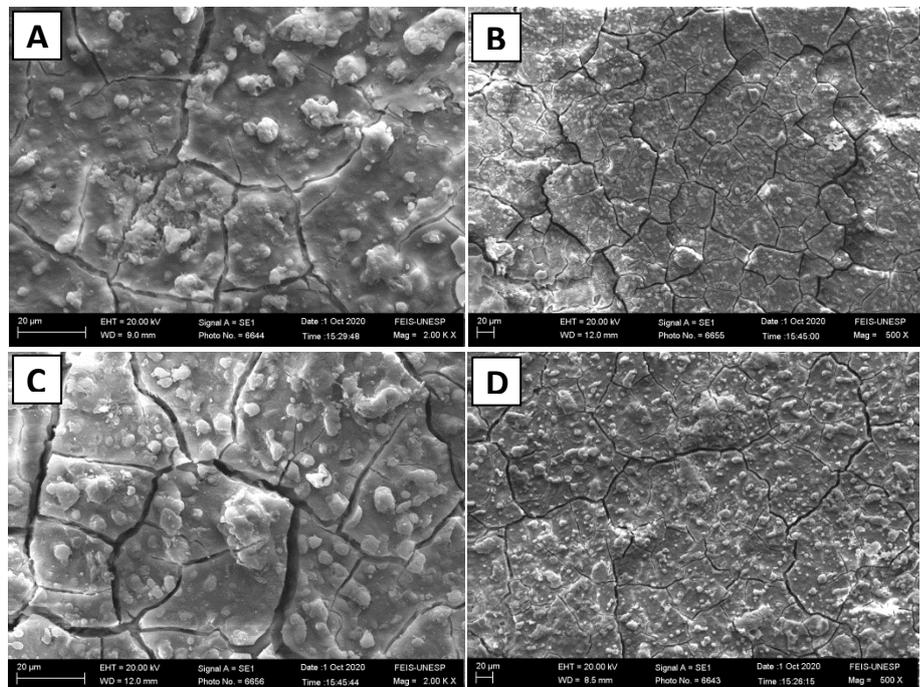
As imagens obtidas em microscopia eletrônica de varredura dos grupos experimentais antes e após o envelhecimento estão ilustradas nas Figuras 11 a 14.

**Figura 11** - Amostra representativa do grupo controle (sem incorporação)



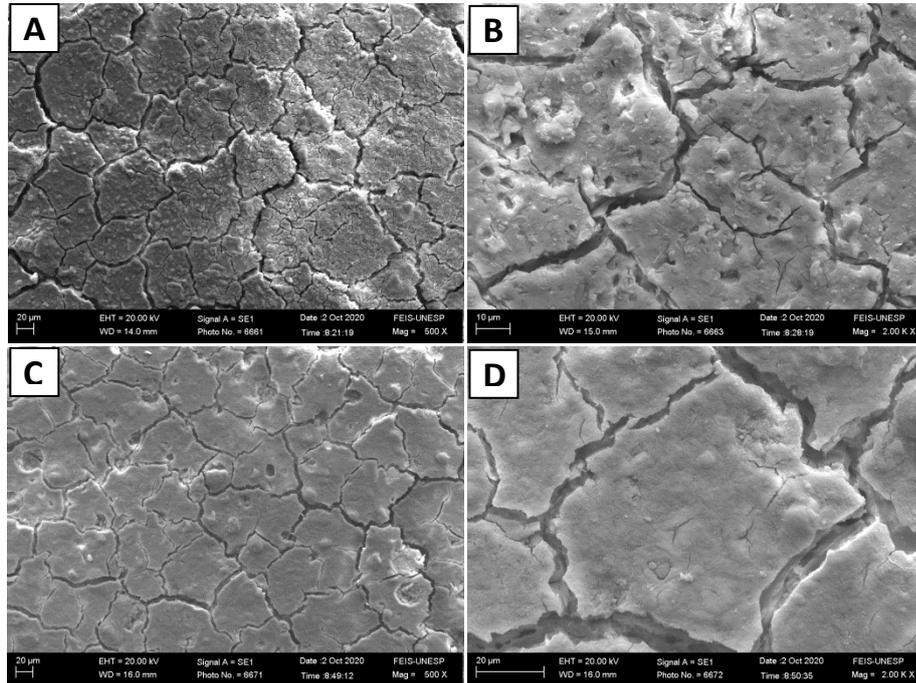
A e B) Pré-envelhecimento com ampliação de 500 x e 2000 x, respectivamente; C e D) Pós-envelhecimento com ampliação de 500 x e 2000 x, respectivamente.

**Figura 12** - Amostra representativa do grupo ionomérico incorporado com 10% de quitosana



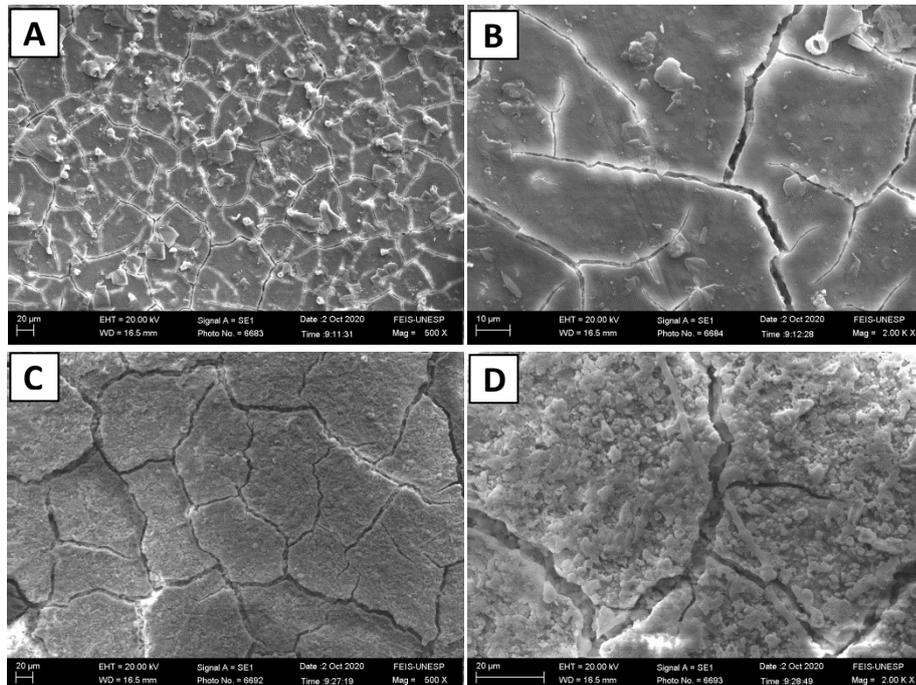
A e B) Pré-envelhecimento com ampliação de 500 x e 2000 x, respectivamente; C e D) Pós-envelhecimento com ampliação de 500 x e 2000 x, respectivamente.

**Figura 13** - Amostra representativa do grupo ionomérico incorporado com 10% de nanodiamantes



A e B) Pré-envelhecimento com ampliação de 500 x e 2000 x, respectivamente; C e D) Pós-envelhecimento com ampliação de 500 x e 2000 x, respectivamente.

**Figura 14** - Amostra representativa do grupo ionomérico com 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes

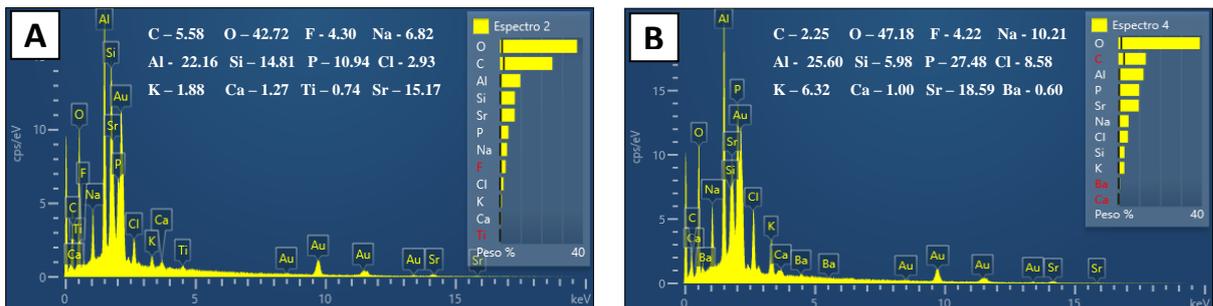


A e B) Pré-envelhecimento com ampliação de 500 x e 2000 x, respectivamente; C e D) Pós-envelhecimento com ampliação de 500 x e 2000 x, respectivamente.

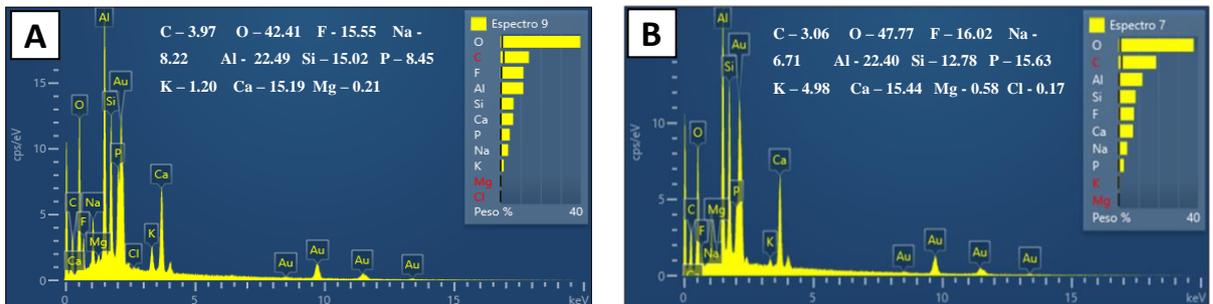
## Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

Os espectros dos elementos obtidos através da espectroscopia de energia dispersiva dos grupos experimentais antes e após o envelhecimento estão ilustrados nas Figuras 15 a 18.

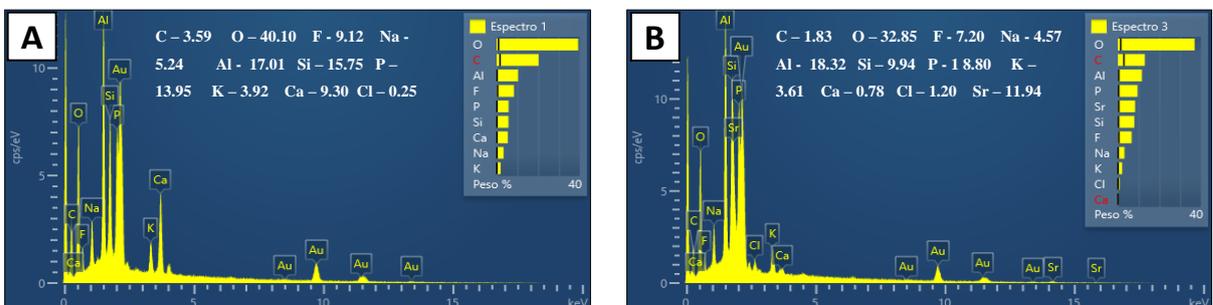
**Figura 15** - Espectro dos elementos obtidos (porcentagem) para o grupo controle (sem incorporação) antes (A) e após o envelhecimento (B)



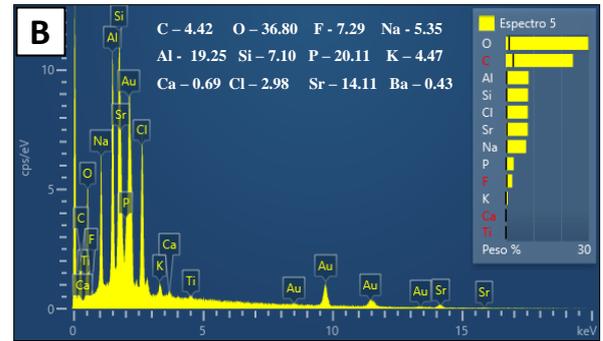
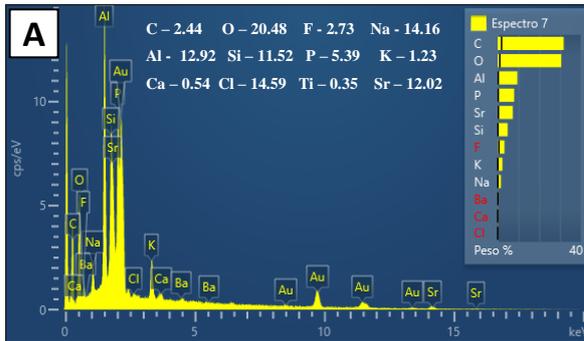
**Figura 16** - Espectro dos elementos obtidos (porcentagem) para o grupo ionomérico incorporado com 10% de quitosana antes (A) e após o envelhecimento (B)



**Figura 17** - Espectro dos elementos obtidos (porcentagem) para o grupo ionomérico incorporado com 10% de nanodiamantes antes (A) e após o envelhecimento (B)



**Figura 18** - Espectro dos elementos obtidos (porcentagem) para o grupo ionomérico incorporado com 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes antes (A) e após o envelhecimento (B)



## DISCUSSÃO

A incorporação de algumas substâncias, tais como quitosana e nanodiamantes, tem sido frequentemente investigada com o objetivo de aprimorar a biocompatibilidade e as propriedades mecânicas de materiais restauradores temporários e definitivos, dentre eles as resinas compostas, resinas bisacrílicas e cimentos de ionômero de vidro.<sup>15-17,27</sup> Frente às limitações das propriedades mecânicas e biológicas dos cimentos ionoméricos, o objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar o efeito da incorporação de quitosana e nanodiamantes sob diferentes concentrações na estabilidade de cor, rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza de um cimento de ionômero de vidro.

O cimento de ionômero de vidro é um dos principais materiais restauradores bioativos e a primeira escolha de material no tratamento restaurador atraumático, uma vez que adere quimicamente de forma satisfatória a estrutura dentária permitindo a liberação de fluoreto, reduzindo a proliferação bacteriana e favorecendo o processo de remineralização do elemento dental. De acordo com Mishra et al.,<sup>36</sup> os cimentos ionoméricos apresentam liberação de fluoreto aproximadamente de 10 ppm durante as 48 horas após a sua inserção na cavidade bucal.<sup>36</sup> Entretanto, esta liberação pode ser considerada ineficiente para um efeito antibacteriano eficaz e desejável.<sup>36</sup> Desta forma, autores vêm estudando a incorporação de agentes antibacterianos na composição de cimentos ionoméricos, tais como o digluconato de clorexidina e a quitosana.<sup>36</sup>

A quitosana é um polissacarídeo catiônico produzido através do processo de desacetilação da quitina, sendo este polissacarídeo amplamente utilizado em aplicações biomédicas devido a sua alta biocompatibilidade e propriedades antimicrobianas.<sup>37</sup> A quitina é um pó amarelado de estrutura cristalina ou amorfa, altamente hidrofóbica e insolúvel em água.<sup>38</sup> A quitosana, produto final do processo de desacetilação, apresenta-se como um pó, de granulação heterogênea, mais escura que a de origem, levemente amarelada e com uma textura mais ressecada.<sup>38</sup> Essa coloração pode ter influenciado nos valores finais da análise

cromática, um vez que o material ionomérico incorporado com 10% de quitosana apresentou maiores valores dos parâmetros colorimétricos para o eixo “L” e “a” (Tabela 3), proporcionando maiores valores de alteração cromática para este grupo experimental (Tabela 2).

Partículas de nanodiamantes têm sido amplamente estudadas devido a sua incorporação nas matrizes de materiais poliméricos com o objetivo de melhorar suas propriedades mecânicas.<sup>39</sup> A característica da inserção dos nanodiamantes na composição dos materiais odontológicos se deve ao fato da sua inércia. Entretanto, sua superfície ainda continua reativa, se tornando um material biocompatível. As partículas incorporadas, no entanto, também tendem a sofrer agregação, reduzindo a energia superficial.<sup>39-41</sup> Este fator pode ter corroborado para os menores valores numéricos da rugosidade superficial do grupo ionomérico incorporado com 10% de nanodiamantes quando comparado com os demais grupos experimentais, tanto para os parâmetros Ra e Rz avaliados antes e após o envelhecimento na solução de vinho (Tabela 4).

A rugosidade dos cimentos de ionômeros de vidro convencionais está diretamente relacionada a alguns fatores dentre eles, tamanho e forma das partículas de vidro; adesão entre as partículas e a matriz; resistência inerente aos constituintes dos cimentos; e a reação de presa de cada tipo de material.<sup>40,41</sup> Nanodiamantes são nanopartículas de carbono com uma estrutura octaédrica semelhante a um diamante com um diâmetro de aproximadamente 2 a 8 nm.<sup>39</sup> Desta forma, pode-se especular também que os menores valores dos parâmetros da rugosidade superficial para este grupo se deve ao fato dos nanodiamantes terem preenchidos os espaços intermediários entre as partículas constituintes do material ionomérico, promovendo menor rugosidade superficial (Tabela 4).

Como um tipo de nanomaterial à base de carbono, os nanodiamantes são considerados atualmente um nano-aditivo promissor para as aplicações biomédicas devido ao seu tamanho de partícula em escala nanométrica, além de sua satisfatória biocompatibilidade e propriedade mecânica.<sup>39</sup> Cao et al.<sup>39</sup> avaliaram a incorporação de

partículas de nanodiamantes funcionalizadas com copolímero catiônico hidrofílico na composição de resinas compostas, aprimorando as propriedades mecânicas, tais como dureza, resistência e módulo flexural, além do aprimoramento da atividade antibacteriana do compósito.<sup>39</sup> A incorporação de 10% de nanodiamantes ao material ionomérico promoveu maiores valores iniciais de dureza ao material em relação ao grupo controle (Tabela 6), corroborando com os resultados encontrados por Cao et al.

O armazenamento dos espécimes na solução de vinho tinto influenciou significativamente nas propriedades ópticas e mecânicas do material ionomérico, independentemente da concentração de incorporação de quitosana e/ou nanodiamantes (Tabelas 2 a 6), rejeitando a segunda hipótese nula deste estudo. Especula-se que o pH reduzido da solução de vinho tinto possa ter causado o amolecimento da matriz de polissal do material ionomérico, sendo este material relativamente solúvel em soluções ácidas comparados com soluções neutras.<sup>42,43</sup> É importante enfatizar que o pH ácido utilizado na presente experimento pode não representar a situação clínica da cavidade oral devido à diluição da solução pela saliva, escovação dos elementos dentários e o período de contato da solução de vinho com os dentes e restaurações. A diminuição dos valores das propriedades mecânicas (Tabelas 4 e 6) pode estar diretamente relacionada com o efeito do vinho no material restaurador, especulando-se que a solução etílica promoveu uma desintegração e degradação hidrolítica na matriz de polissal e/ou nas partículas de carga,<sup>44</sup> exacerbando a formação de micro rachaduras e fissuras no material ionomérico como pode ser observado nas imagens de microscopia eletrônica de varredura (Figuras 11 a 14). A análise de espectroscopia por energia dispersiva mostrou que o envelhecimento na solução de vinho tinto foi capaz de diminuir a concentração porcentual do elemento carbono (C) dos grupos experimentais incorporados com 10% de quitosana e 10% de nanodiamantes (Figuras 16 e 17), sendo este elemento o principal constituinte das partículas de quitosana ( $C_6H_{11}O_4N)_n$  e nanodiamantes ( $C)_n$ .

Embora os resultados do presente estudo mostrem que a incorporação de 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes ao material ionomérico não promoveu de maneira geral diferença significativa para o grupo controle quando avaliado as propriedades ópticas e mecânicas (Tabela 2 a 6), é necessário ressaltar a efetividade de biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades adesivas ao substrato dentário, propriedades anti-inflamatórias e antibacteriana, prevenção da desmineralização do esmalte dentário e inibição do acúmulo de placa bacteriana destes componentes já comprovados cientificamente.<sup>13-17</sup> Desta forma, a associação de 5% de quitosana com 5% de nanodiamantes torna-se uma concentração satisfatória na incorporação do material ionomérico, uma vez que contêm a atividade antibacteriana e a associação de ambos componentes não promoveu prejuízo nas propriedades ópticas e mecânicas do material restaurador.

Compreender os componentes empregados na formulação dos compósitos odontológicos torna-se imprescindível no aprimoramento e conseqüentemente na longevidade destes materiais na cavidade oral. Dessa forma, estudos futuros são necessários a fim de complementar as discussões em torno do aprimoramento das propriedades mecânicas e biológicas dos cimentos de ionômeros de vidro, bem como avaliar o comportamento destes ao longo do tempo. Ademais, alguns fatores limitantes deste estudo devem ser levados em consideração, tais como a utilização de apenas um tipo de cimento ionomérico, a utilização de apenas duas concentrações de quitosana e nanodiamantes, e por se tratar de um estudo *in vitro*, sendo que a transferência dos resultados a nível laboratorial para a condição clínica deve ser realizada com cautela, uma vez que os estudos *in vitro* não conseguem simular de maneira fidedigna a condição da cavidade bucal.

## **CONCLUSÃO**

Baseado na metodologia adotada e nos resultados obtidos do presente estudo, foi possível concluir que a incorporação de quitosana e nanodiamantes influenciou na estabilidade de cor, rugosidade superficial, intensidade de fluorescência e microdureza do cimento de ionômero de vidro. A incorporação de 5% de quitosana e 5% de nanodiamantes é uma alternativa satisfatória no aprimoramento das propriedades ópticas e mecânicas do cimento ionomérico. Ademais, o envelhecimento na solução de vinho foi capaz de degradar as propriedades do material ionomérico, independente da concentração de quitosana e nanodiamantes incorporados ao material restaurador.

## REFERÊNCIAS

1. Wilson AD, Kent B. The glass-ionomer cement, a new translucent dental filling material. *J Appl Chem Biotechnol* 1971;21:313.
2. Frencken JE, Pilot T, Songpaisan Y, Phantumvanit P. Atraumatic restorative treatment (ART): rationale, technique, and development. *J Public Health Dent* 1996;56:135–140.
3. Debnath A, Kesavappa SB, Singh GP, Eshwar S, Jain V, Swamy M, Shetty P. Comparative evaluation of antibacterial and adhesive properties of chitosan modified glass ionomer cement and conventional glass ionomer cement: an in vitro study. *J Clin Diagn Res* 2017;11:75-78.
4. Nicholson JW. Adhesion of glass-ionomer cements to teeth: a review. *Int J Adhes Adhes* 2016;69:33–38.
5. Chau NPT, Pandit S, Cai J-N, Lee M-H, Jeon JG. Relationship between fluoride release rate and anti-cariogenic biofilm activity of glass ionomer cements. *Dent Mater* 2015;31:100–108.
6. Padovani GC, Feitosa VP, Sauro S, Tay FR, Durán G, Paula AJ. Advances in dental materials through nanotechnology: facts, perspectives and toxicological aspects. *Trends Biotechnol* 2015;33:621–636.
7. Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of *Streptococcus mutans* to various restorative materials in continuous flow system. *J Oral Rehabil* 2004;31:278-285.
8. Forss H, Näse L, Seppä L. Fluoride concentration, mutans streptococci and lactobacilli in plaque from old glass ionomer fillings. *Caries Res* 1995;29:50- 53.
9. Botelho MG. Inhibitory effects on selected oral bacteria of antibacterial agents incorporated in a glass ionomer cement. *Caries Res* 2003;37:108-114.
10. Palmer G, Jones FH, Billington RW, Pearson G.J. Chlorhexidine release from an experimental glass ionomer cement. *Biomaterials* 2004;25:5423-5431
11. Imazato S, Chen J, Ma S, Izutani N, Li F. Antibacterial resin monomers based on quaternary ammonium and their benefits in restorative dentistry. *Japanese Dent Sci Rev* 2012; 48:115-125.
12. Jedrychowski JR, Caputo AA, Kerper S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J Oral Rehabil* 1983;10:373-381.
13. Feng Y, Xia W. Preparation, characterization and antibacterial activity of water-soluble O-fumaryl-chitosan. *Carbohydr Polym* 2011; 83:1169-1173.
14. Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *J Food Microbiol Int.* 2010;144:51-63.

15. Stamford-Arnaud TM, Barros-Neto B, Diniz FB. Chitosan effect on dental enamel remineralization: An in vitro evaluation. *J Dent* 2010;38:848-852.
16. Hyashi Y, Ohara N, Ganno T, Ishizaki H, Yanagiguchi K. Chitosan-containing gum chewing accelerates antibacterial effect with an increase in salivary secretion. *J Dent* 2007;35:871-874.
17. Senthil Kumar R, Ravikumar N, Kavitha S, Mahalaxmi S, Jayasree R, Sampath Kumar TS, et al. Nanochitosan modified glass ionomer cement with enhanced mechanical properties and fluoride release. *Int J Biol Macromol* 2017;104:1860-1865.
18. Byun R, Nadkarni MA, Chhour KL, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Quantitative analysis of diverse *Lactobacillus* species present in advanced dental caries. *J Clin Microbiol* 2004;42:3128-3136.
19. Smith SI, Aweh AJ, Coker AO, Savage KO, Abosedo DA, Oyedeji KS. *Lactobacilli* in human dental caries and saliva. *Microbios* 2001;105:77-85.
20. Sun Y. Synthesis and characterization of nano-diamond reinforced chitosan for tissue engineering. Dissertação de mestrado da Universidade de Saskatchewan, Saskatoon. 2015.
21. Protopapa P, Kontonasaki E, Bikiaris D, Paraskevopoulos KM, Koidis P. Reinforcement of a PMMA resin for fixed interim prostheses with nanodiamonds. *Dent Mater* 2011;30:222-231.
22. Karbushev VV, Konstantinov II, Parsamyan IL, Kulichikhin VG, Popov VA, George TF. Preparation of polymernanodiamond composites with improved properties. *Adv Mater Res* 2009;59:275-278.
23. Shenderova O, McGuire G. In: Gogotsi Y, editor. *Carbon nanomaterials*. Philadelphia: CRC Press Taylor & Francis Group; 2006;175-210.
24. Badra VV, Faraoni JJ, Ramos RP, Palma-Dibb RG. Influence of different beverages on the microhardness and surface roughness of resincomposites. *Oper Dent* 2005;30:213-219.
25. Ley M, Wagner T, Bizhang M. The effect of different fluoridation methods on the red wine staining potential on intensively bleached enamel in vitro. *Am J Dent* 2006;19:80-84.
26. Catelan A, Briso AL, Sundfeld RH, Goiato MC, dos Santos PH. Color stability of sealed composite resin restorative materials after ultraviolet artificial aging and immersion in staining solutions. *J Prosthet Dent* 2011;105:236-241.
27. Perchyonok VT, Souza J, Küll MF, Suzuki TYU, Maluly-Proni AT, Santos PHD. Color stability and surface roughness of chitosan- and nanodiamond-modified bisacrylic resin. *Braz Oral Res* 2019;33:e024.
28. Ibrahim M, Neo J, Esguerra RJ, Fawzy AS. Characterization of antibacterial and adhesion properties of chitosan modified glass ionomer cement. *J Biomater Appl* 2015;30:409-419.
29. Petri DF, Donegá J, Benassi AM, Bocangel JA. Preliminary study on chitosan modified glass ionomer restoratives. *Dent Mater* 2007;23:1004-1010.

30. Strazzi Sahyon HB, Chimanski A, Yoshimura HN, Dos Santos PH. Effect of previous photoactivation of the adhesive system on the color stability and mechanical properties of resin components in ceramic laminate veneer luting. *J Prosthodont* 2018.
31. Moda MD, Godas AGL, Fernandes JC, Suzuki TYU, Guedes APA, Briso ALF, et al. Comparison of different polishing methods on the surface roughness of microhybrid, microfill, and nanofill composite resins. *J Investig Clin Dent* 2018;9: doi: 10.1111/jicd.12287. Epub 2017 Aug 1.
32. Catelan A, Guedes AP, Suzuki TY, Takahashi MK, Souza EM, Briso AL, et al. Fluorescence intensity of composite layering combined with surface sealant submitted to staining solutions. *J Esthet Restor Dent* 2015;27:1-9.
33. Sahyon HBS, Guedes APA, Godas AGL, Suzuki TYU, Briso ALF, Dos Santos PH. Effect of fluoride-releasing adhesive systems in control of dental enamel hardness subjected to acid challenge. *Arch Health Invest* 2017;6:192-196.
34. Stober T, Gilde H, Lenz P. Color stability of highly filled composite resin materials for facings. *Dent Mater* 2001;17: 87-94.
35. Strazzi Sahyon HB, Pereira da Silva P, Silva de Oliveira M, Angelo Cintra LT, Gomes-Filho JE, Henrique dos Santos P, et al. Effect of photodynamic therapy on the mechanical properties and bond strength of glass-fiber posts to endodontically treated intraradicular dentin. *J Prosthet Dent* 2018;120:317.e1-317.e7. doi: 10.1016/j.prosdent.2018.05.009.
36. Mishra A, Pandey RK, Manickam N. Antibacterial effect and physical properties of chitosan and chlorhexidine-cetrimide-modified glass ionomer cements. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2017;35:28-33.
37. Pini NI, Lima DA, Lovadino JR, Ganss C, Schlueter N. In vitro efficacy of experimental chitosan-containing solutions as anti-erosive agents in enamel. *Caries Res* 2016;50:337-345.
38. Kurita K. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Mar Biotechnol (NY)* 2006;8:203-226.
39. Cao W, Zhang Y, Wang X, Li Q, Xiao Y, Li P, Xing X. Novel resin-based dental material with anti-biofilm activity and improved mechanical property by incorporating hydrophilic cationic copolymer functionalized nanodiamond. *J Mater Sci Mater Med* 2018;29:162.
40. Peutzfeldt A, García-Godoy F, Asmussen E. Surface hardness and wear of glass ionomers and compomers. *Am J Dent* 1997;10:15-17.
41. Xie D, Brantley WA, Culbertson BM, Wang G. Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements. *Dent Mater* 2000;16:129-38.
42. Bagheri R, Burrow MF, Tyas MJ. Surface characteristics of aesthetic restorative materials - an SEM study. *J Oral Rehabil* 2007;34:68-76.
43. Smith GE. Surface deterioration of glass-ionomer cement during acid etching: an SEM evaluation. *Oper Dent* 1988;13:3-7.

44. Munack J, Haubert H, Dogan S, Geurtsen W. Effects of various storage media on surface hardness and structure of four polyacid-modified composite resins ('compomers'). *Clin Oral Investig* 2001;5:254–259.