

GIOVANNA LIMA FORTUNATO

**Caracterização física e avaliação mecânica de
gel clareador contendo nanopartículas de
 β -glicerofosfato de cálcio e fluoreto: estudo *in vitro***

**Araçatuba - SP
2024**

GIOVANNA LIMA FORTUNATO

**Caracterização física e avaliação mecânica de
gel clareador contendo nanopartículas de
 β -glicerofosfato de cálcio e fluoreto: estudo *in vitro***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de
Odontologia de Araçatuba da
Universidade Estadual Paulista (UNESP),
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Cirurgiã-
Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane
Duque
Coorientadora: Profa. Dra. Aimée
Maria Guiotti

**Araçatuba - SP
2024**

ERRATA

FORTUNATO, L. G. **Caracterização física e avaliação mecânica de gel clareador contendo nanopartículas de β -glicerofosfato de cálcio e fluoreto: estudo *in vitro*.** 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

Folha	Linha	Leia-se
36	11	7 PROPRIEDADE INTELECTUAL DO GEL CLAREADOR DELBEM, ACB; SPIANDORELLO, F. M.; SHINOHARA, M. S.; COMPOSIÇÃO PARA CLAREAMENTO DENTAL. BRASIL. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020130067610, título: "COMPOSIÇÃO PARA CLAREAMENTO DENTAL", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 25/03/2013; Licenciamento: 16/11/2017; Concessão: 05/11/2019.
22	7-8	Após a pesagem foi pipetado o composto líquido correspondente (PH 35%) [Delbem et al., 2019].

Dedico este trabalho,

Aos meu pais, minha irmã e minha avó Antônia. Sem vocês não seria possível alcançar meus sonhos e objetivos, minha eterna gratidão e amor. Muito obrigada.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, **Paulo Cesar Fortunato** e **Dinalva Maria de Lima Fortunato**, obrigada pelos anos de dedicação, amor e renúncias para que eu pudesse alcançar meus sonhos e objetivos. Mesmo sem entender cada passo meu, vocês estavam lá me apoiando e permitindo que eu conquistasse novos espaços. Um agradecimento especial ao meu pai que sempre se dedicou a uma caminhada humilde e de construção diária, valores inegociáveis para o meu aprendizado, amo muito vocês.

À minha querida irmã, **Carolina Lima Fortunato**, que sempre me apoiou e torceu pelos meus sonhos e ideias, buscando ser meu porto seguro nos momentos difíceis, minha eterna admiração e amor.

À minha orientadora **Profª. Dra. Cristiane Duque**, obrigada pela troca de conhecimentos e pela oportunidade de trabalhar com a senhora, obrigada por ser um exemplo na docência e um exemplo para além da Universidade, admiro sua trajetória pessoal e profissional.

À minha Coorientadora, **Profa. Dra. Aimée Maria Guiotti**, obrigada pelo suporte e dedicação. Admiro a humildade, gentileza e elegância que são características marcantes na senhora, muito obrigada.

Ao **Profº. Drº. Antonio Hernandez Chaves Neto**, obrigada pelo aceite do convite, pela gentileza e todo auxílio com o qual sempre me orientou, obrigada por somar ao meu aprendizado com tanto zelo e simplicidade.

À querida **Doutoranda Gabriela Leal Peres Fernandes**, obrigada pelo aceite do convite, e por fazer parte do Team Danelon. Você é um ser-humano incrível e admirável.

À minha querida **Profa. Dra. Marcelle Danelon**, que me deu a oportunidade de “reencontrá-la” no ano de 2023. Obrigada pela dedicação diária, incansável, estando à disposição para minhas dúvidas e me ensinando sobre: compromisso, trabalho em equipe, mas acima de tudo em como ser uma pessoa gentil e humilde, é um prazer permanecer no Team Danelon.

Ao meu **Profº. Drº. Robson Frederico Cunha**, responsável pela minha escolha pelo Campus de Odontologia em Araçatuba, devido ao projeto que coordenava da Bebê Clínica, e desse modo pude ter meu primeiro contato com a Odontopediatria, meu muito obrigada pelas oportunidades, respeito e amizade construídos nessa jornada.

À minha **Professora Dra. Aline Satie Takamiya**, obrigada pela oportunidade de trabalhar com a senhora no Centro de Oncologia Bucal-COB FOA UNESP, durante os anos de 2023 e 2024, aprendo muito com sua paciência, conhecimento e gentileza.

À minha amiga **Gabriela Baccaro**, exemplo de aluna, amiga e colega de profissão, com você tive a oportunidade genuína de dividir meus sonhos e anseios, obrigada por todos esses anos de amizade.

Ao meu amigo, **Vitor Hugo Martim**, obrigada pelo nosso encontro no DDD 18, sem você, não teria sido tão feliz em Araçatuba, com todas as dicas e conselhos que recebi logo ao meu primeiro dia.

Às minhas queridas amigas **Natália Izumi**, **Mileni Buzo** e **Gabriela Carrara**, com quem tive a oportunidade de dividir todos esses anos de Graduação. Vocês foram muito além do que imaginei precisar e merecer, obrigada por serem minhas ouvintes, confidentes e amigas, eu amo muito vocês.

À minha melhor amiga, **Maria Carolina Segala**, por todo o zelo e paciência, por entender minhas ausências por estar morando em Araçatuba, mas sempre se fazer presente na nossa amizade.

À minha amiga, **Bianca Piovezan**, colega de profissão e amiga, com quem tenho a oportunidade de dividir meus sonhos e projetos, seja em Araçatuba ou Rio Preto, obrigada pelo cuidado e zelo em nossa amizade.

Ao meu amigo, **Halef Turini**, obrigada por ter me introduzido ao mundo da pesquisa e por sempre ter muita paciência em me ensinar e me acompanhar com boas risadas e conversas no nosso querido Bola 7.

À minha amiga **Tielly Fetti**, minha primeira amiga da faculdade, com quem tive a oportunidade de dividir essa jornada, meu muito obrigada pelo carinho, respeito e amizade.

Aos meus amigos de Faculdade meu eterno carinho para vocês, vocês fizeram parte do meu crescimento pessoal e profissional, pude assim aprender com cada um de vocês.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba, em pessoa dos professores **Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem**, digníssimo diretor e **Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra**, digníssimo Vice-Diretor.

Aos Professores **Valtencir Zucolotto** (Universidade de São Paulo – USP, Instituto de Física), **Emerson Rodrigues de Camargo** (Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Departamento de Química) e **André Vidilli** (Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Departamento de Engenharia de Materiais) por todo o suporte pré, durante e após os experimentos.

Aos professores e funcionários que tanto nos ensinaram e se dedicaram para passar seus conhecimentos, minha eterna gratidão a todos.

Aos pacientes pela confiança em nosso trabalho e por contribuírem à minha formação.

Obrigada a todos os meus amigos e familiares não citados acima que contribuíram nesta caminhada.

Minha eterna gratidão.

“Floresça onde Deus te colocar”.

Homenagem à minha avó paterna,

Antônia Momesso.”

RESUMO

FORTUNATO, L. G. **Caracterização física e avaliação mecânica de gel clareador contendo nanopartículas de β -glicerofosfato de cálcio e fluoreto: estudo *in vitro***. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

Objetivo: Avaliar *in vitro* o efeito da associação de nanopartículas de β -glicerofosfato de cálcio (β -CaGPnano) associado ao fluoreto de sódio (NaF) e ao peróxido de hidrogênio (PH) sobre as propriedades físicas e mecânicas do esmalte. Material e Métodos: Blocos de esmalte bovino foram selecionados através da dureza de superfície inicial (SHI) e divididos em sete grupos (n = 10), de acordo com géis: 1) Peróxido de hidrogênio a 35% (PH); 2) PH+0,1%NaF; 3) PH+0,25% β -CaGPnano; 4) PH+0,5% β -CaGPnano; 5) PH+0,1%NaF+0,25%CaGPnano; 6) PH+0,1%NaF+0,5%CaGPnano e 7) HP Blue 35% (FGM - Produtos Odontológicos: HP Blue). Os géis foram aplicados uma única vez, durante 3 sessões de 40 minutos/sessão, a cada 7 dias, totalizando 21 dias. Durante todo o período experimental, os blocos de esmalte ficaram imersos em saliva artificial. Após, determinou-se a dureza de superfície final (SHF) para o cálculo da porcentagem de perda de dureza de superfície (%SH), rugosidade de superfície (Ra) pós-clareamento, análise morfológica do esmalte através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para os géis clareadores foi determinado o índice de Polidispersão (IPd) e potencial Zeta (PZ). Os dados foram submetidos à ANOVA (1 critério) seguido pelo teste Student-Newman-Keuls ($p < 0,001$). Resultados: O tratamento com PH+0,1%NaF+0,25% β -CaGPnano reduziu a %SH em 86%, 81% e 66% quando comparado ao tratamento com os géis PH, PH+0,1%NaF e HP Blue ($p < 0,001$). Os maiores e similares valores de Ra foram observados para os grupos PH e HP Blue ($p > 0,001$). Já o tratamento com PH+0,1%NaF+0,25% β -CaGPnano apresentou uma Ra inferior em ~ 65%, ~ 18% em relação ao HP Blue e HP+0,1%NaF ($p < 0,001$). Para os valores do IPd, houve variação de 0,23 a 0,38, entretanto, não foi observado diferença estatística entre os géis ($p > 0,001$).

Para o PZ os valores variaram de +39,1 a +44,3, sem diferença estatística entre os grupos ($p > 0,001$). Conclusão: A adição de NaF e β -CaGP nano ao gel de peróxido de hidrogênio à 35% foi eficaz em reduzir a desmineralização do esmalte dentário e rugosidade, levando à um maior efeito protetivo durante a terapia clareadora. Dessa forma, essa associação de agentes ativos pode ser utilizada como uma estratégia promissora na redução de alterações minerais ocorridas durante o procedimento clareador.

Palavras-chave: clareamento dentário; peróxido de hidrogênio; glicerofosfato; nanopartículas, dureza, rugosidade de superfície.

ABSTRACT

FORTUNATO, L. G. **Physical characterization and mechanical evaluation of bleaching gel containing nanoparticles of β -calcium glycerophosphate and fluoride: *in vitro* study**. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

Objective: To evaluate *in vitro* the association of β -calcium glycerophosphate nanoparticles (β -CaGPnano) associated with sodium fluoride (NaF) and hydrogen peroxide (HP) on the physical and mechanical properties of enamel. Material and Methods: Bovine enamel blocks were selected by initial surface hardness (SHI) and divided into seven groups (n = 10) according to gels: 1) 35% hydrogen peroxide (HP); 2) HP+0.1%NaF; 3) HP+0.25% β -CaGPnano; 4) HP+0.5% β -CaGPnano; 5) HP+0.1%NaF+0.25%CaGPnano; 6) HP+0.1%NaF+0.5%CaGPnano and 7) HP Blue 35% (FGM - Dental Products: HP Blue). The gels were applied only once, for 3 sessions of 40 minutes/session, every 7 days, for a total of 21 days. During the experimental period, the enamel blocks were immersed in artificial saliva. Afterwards, the final surface hardness (SHF) was determined in order to calculate the percentage loss of surface hardness (%SH), surface roughness (Ra) and morphological analysis of the enamel using Scanning Electron Microscopy (SEM), after bleaching was determined. For the bleaching gels, the following was determined the Polydispersity index (IPd) and Zeta potential (PZ). The data was submitted to ANOVA (1 criterion) followed by the Student-Newman-Keuls test ($p < 0.001$). Results: The treatment with HP+0.1%NaF+0.25% β -CaGPnano reduced %SH by 86%, 81% and 66% when compared to the treatment with the HP, HP+0.1%NaF and HP Blue gels ($p < 0.001$). The highest and similar Ra values were observed for the HP and HP Blue groups ($p > 0.001$). On the other hand, treatment with HP+0.1%NaF+0.25% β -CaGPnano showed a Ra lower by $\sim 65\%$, $\sim 18\%$ compared to HP Blue and HP+0.1%NaF ($p < 0.001$). IPd values ranged from 0.23 to 0.38, but there was no statistical difference between the gels ($p > 0.001$). The PZ values ranged from +39.1 to +44.3, with no statistical difference between the

groups ($p > 0.001$). Conclusion: The addition of NaF and β -CaGP nano to the 35% hydrogen peroxide gel was effective in reducing dental enamel demineralization and roughness, leading to a greater protective effect during whitening therapy. Thus, this combination of active agents can be used as a promising strategy to reduce mineral alterations during the bleaching procedure.

Keywords: tooth bleaching; hydrogen peroxide; glycerophosphate; nanoparticles, hardness, surface roughness.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição dos géis clareadores e pH	23
Tabela 2 -	Valores médios ($\pm$ dp, n=3) do Índice de Polidispersão (IPd) e Potencial Zeta (PZ-mV) de acordo com os Géis. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os Géis (Anova 1-critério, Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$)	27

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - A-B: Imagens de MEV e tamanho médio (histogramas) e C: 26
Padrões de raios-X do β -CaGPm e do β -CaGPnano após a
moagem por 48 horas. Aumento: 20.000 x
- Figura 2 - Média ($\pm dp$, n=10/grupo) dos valores da Porcentagem de 28
Perda de Dureza de Superfície (%SH) de acordo com os Géis.
(Anova 1-critério, Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$)
- Figura 3 - Média ($\pm dp$, n=10/grupo) dos valores Rugosidade de 29
Superfície (Ra , μm) (após terapia clareadora de 21 dias) de
acordo com os Géis (Anova 1-critério, Student-Newman-
Keuls, $p < 0,001$)
- Figura 4 - Imagens do esmalte obtidas através do MEV após 30
tratamento com: (a) PH; (b) PH+0,1%NaF; (c)
PH+0,25% β CaGPnano; (d) PH+0,5% β CaGPnano; (e)
PH+0,1%NaF+0,25% β CaGPnano; (f)
PH+0,1%NaF+0,5% β CaGPnano e g) HP Blue (1000x)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 PROPOSIÇÃO.....	18
3 METODOLOGIA.....	19
3.1 Delineamento Experimental.....	19
3.2 Preparo dos Blocos de esmalte (ANEXO A)	19
3.3 Síntese e caracterização das nanopartículas de β -Glicerofosfato de cálcio (β -CaGPnano) (ANEXO B).....	20
3.4 Composição e Tratamentos com Saliva Artificial e Géis Clareadores (ANEXO C)	22
3.5 Caracterização Físico-Química dos géis clareadores (ANEXO D)	24
3.6 Análise da dureza do esmalte (ANEXO E)	25
3.7 Análise da rugosidade do esmalte (ANEXO F)	25
3.8 Análise da morfologia do esmalte através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) (ANEXO G)	26
3.9 Análise estatística	26
4 RESULTADO.....	27
5 DISCUSSÃO.....	32
6 CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38
ANEXOS.....	44

1 INTRODUÇÃO

O clareamento dental é um procedimento estético que visa, através do uso de géis à base de peróxidos, melhorar a cor dos elementos dentários (Altinisik *et al.*, 2023; Torres *et al.*, 2019; Vieira *et al.*, 2020). A terapia clareadora (TC) também tem sido proposta na literatura como um método coadjuvante para a melhora da estética de dentes decíduos e permanentes jovens, englobando crianças e adolescentes. Isso ocorre devido a alterações cromáticas de etiologia variada como: Traumas dentários, infecções pulpare, fluorose dentária, manchamento por tetraciclina ou ainda descolorações advindas da dieta como refrigerantes, chás e pigmentos industriais alimentares (AAPD, 2023; Elbahary *et al.*, 2021). Essas alterações cromáticas podem afetar a autoestima, desenvolvimento psicológico da criança e adolescente, confiança e interação social, prejudicando seu bem-estar (AAPD, 2023; Carneiro *et al.*, 2023; Ilyas; Marshall; Ahluwalia, 2021; Monteiro; Ashley; Parekh, 2020; Tahir *et al.*, 2023; Wood *et al.*, 2022). Dessa forma há preocupação por parte dos responsáveis e profissionais acerca de qual procedimento é indicado e seguro nessa faixa etária (AAPD, 2023; Tahir *et al.*, 2023). Recentemente, a Academia Americana de Odontopediatria (2023) abordou em seu Guideline que a TC é um procedimento seguro e eficaz na resolução de alterações cromáticas desde que o profissional seja capacitado da técnica correta, utilizando materiais adequados, mantendo os casos dos pacientes individualizados a fim de atender com segurança às necessidades do público-alvo. Além disso, orienta que se faz necessário a busca por novos materiais clareadores a fim de minimizar os efeitos colaterais dos géis.

O mecanismo de ação entre os diferentes géis é o mesmo: oxidação de moléculas orgânicas denominadas cromóforos, a partir da liberação de radicais livres (moléculas instáveis), e conversão das moléculas orgânicas maiores em moléculas orgânicas de menor cadeia química, alterando as propriedades ópticas do substrato e permitindo o aspecto de dentes mais esbranquiçados (Vieira *et al.*, 2020). Apesar dos benefícios obtidos pela técnica, é necessário pontuar os efeitos colaterais pelo uso dos géis,

destacando-se: sensibilidade dentária (etiologia conhecida através do estresse oxidativo da reação pela liberação de mediadores inflamatórios como prostaglandinas, bradicininas e substância P devido ao baixo peso moléculas dos radicais livres) (Rodrigues *et al.*, 2018), irritação gengival, erosão, alteração de rugosidade superficial e alterações no conteúdo mineral de esmalte e dentina (Carminatti *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2020; Erdem; Çellik, 2023; Goyal *et al.*, 2021). Os danos apresentados previamente ocorrem pela liberação de radicais livres após clivagem das moléculas orgânicas maiores em orgânicas menores, e aos subprodutos da reação que em contato com a câmara pulpar, reduzem a proliferação celular e a capacidade de reparo pulpar. Além disso, os radicais livres podem induzir efeitos citopatológicos como mutação, inativação enzimática, degradação proteica, apoptose ou necrose celular (Carminatti *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2020). Assim, métodos terapêuticos para minimizá-los vêm sendo estudados, sendo eles: uso de antioxidantes, dessensibilizantes e remineralizantes e este último grupo destaca-se pelo uso de flúor, cálcio, fosfato de cálcio amorfo e hidroxiapatita sintética no intuito de repor os íons perdidos (Altınışık *et al.*, 2023; Carminatti *et al.*, 2020; Pini *et al.*, 2022).

Diante deste contexto, o glicerofosfato de cálcio (CaGP) tem se mostrado promissor na redução da desmineralização e aumento da remineralização dentária (Emerenciano *et al.*, 2023, 2024). O CaGP é um polifosfato orgânico que permite a adsorção à superfície do esmalte e liberação de íons cálcio e fosfato, potencializando a remineralização, bem como atividade cariostática, e redução da placa bacteriana (Emerenciano *et al.*, 2023, 2024; Torsakul *et al.*, 2023). Este composto ainda possui três formas isoméricas: α -D(+)- e α -L(-)- glicerofosfato e β -glicerofosfato de cálcio maximizando suas propriedades. Somado a isso, o uso de CaGP sob forma de nanopartículas é uma alternativa promissora, de acordo com esta configuração, diferentes propriedades eletrônicas, ópticas, magnéticas, mecânicas ou mesmo de reatividade química podem ser modificadas em escala nanométrica, aumentando o efeito de remineralização da superfície, como resultado que partículas menores, aumentam a área de superfície de

contato e reatividade química (Emerenciano *et al.*, 2023, 2024). Estudos de Emerenciano *et al.* (2023, 2024) mostraram *in vitro* e *in situ*, que a adição de β -CaGPm (microparticulado) e β -CaGPnano em dentifrícios reduziu a desmineralização, e potencializou a remineralização de lesões iniciais de cárie nas concentrações de 0,5% β -CaGPm e 0,25% β -CaGPn, além de aumentar as concentrações de flúor, cálcio e fósforo no esmalte. As nanopartículas de β -CaGP revelam ainda que sob esta conformação, há a necessidade de menores quantidades deste composto para se obter o efeito e resultado desejados, sem interferir na deposição de flúor sob a estrutura dentária, liberando em maior quantidade cálcio e fósforo no processo de remineralização (Emerenciano *et al.*, 2023).

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo foi avaliar *in vitro* a adição de nanopartículas de β -glicerofosfato de cálcio (β -CaGP nano) associado ao fluoreto de sódio (NaF) e ao peróxido de hidrogênio (PH) sobre as propriedades físicas e mecânicas do esmalte.

A hipótese nula desse estudo foi a de que não existiria diferença na mineralização e rugosidade do esmalte exposto à terapia com nanopartículas de β -glicerofosfato de cálcio e fluoreto de sódio.

3 METODOLOGIA

3.1 Delineamento Experimental

Para a realização do estudo, blocos de esmalte (4 mm × 4 mm, n = 70) foram obtidos de dentes incisivos bovinos mantidos em solução de timol a 0,1% para evitar a proliferação bacteriana, em temperatura aproximada a 4 °C, até o início da fase experimental (Borges *et al.*, 2015; Caneppele; Torres; Bresciani, 2015). Após a limpeza, os dentes tiveram as raízes separadas da coroa na junção amelocementária. Esses blocos tiveram sua superfície de esmalte polida sequencialmente, o que permitiu a seleção através da determinação da dureza de superfície inicial (SHI) e divisão em sete grupos (n = 10), de acordo com os géis clareadores: 1) Peróxido de hidrogênio a 35% (PH); 2) PH+0,1%NaF; 3) PH+0,25%β-CaGPnano; 4) PH+0,5%β-CaGPnano; 5) PH+0,1% NaF+0,25%β-CaGPnano; 6) PH+0,1%NaF+0,5%β-CaGPnano e 7) HP Blue 35% (FGM - Produtos Odontológicos: HP Blue). Os géis foram aplicados uma única vez, durante 3 sessões de 40 minutos/sessão, a cada 7 dias, totalizando 21 dias. Entre as sessões de tratamento os blocos permaneceram em saliva artificial a qual foi trocada diariamente. Em seguida foram determinadas a dureza de superfície final (SHF) para o cálculo da porcentagem de perda de dureza de superfície (%SH), rugosidade superficial (Ra) e análise morfológica do esmalte através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para Caracterização Físico-Química dos géis clareadores, os mesmos foram avaliados quanto ao Índice de Polidispersão (IPd) e Potencial Zeta (PZ).

3.2 Preparação dos Blocos de Esmalte (ANEXO A)

Blocos de esmalte bovino (4 mm x 4 mm) foram obtidos a partir da porção mais plana da face vestibular das coroas de dentes incisivos centrais inferiores. Após a obtenção dos blocos de esmalte, a dentina foi ajustada para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina (espessura ± 2 mm). Os blocos foram fixados em discos de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 8 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (Cera

kota®), com a superfície dentinária voltada para cima, sendo este conjunto levado à politriz BETA – grinder polisher (Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA). Para o desgaste foi utilizado lixas de granulação 320 (CARBIMET Paper Discs, 30-5108-320, BUEHLER), peso de 4 lbs, durante 30 segundos sob baixa rotação e refrigeração. Em seguida, foram removidos e fixados novamente com a superfície do esmalte voltada para cima polida de acordo com a seguinte sequência: lixa de granulação 600, 4 lbs, tempo de 30 segundos, refrigeração a água; lixa de granulação 800, 4 lbs, tempo de 30 segundos, refrigeração a água; lixa de granulação 1200, 4 lbs, 30 segundos, refrigeração a água.

Entre cada polimento, os espécimes foram submetidos ao ultrassom (BRANSON 2210), em água deionizada durante 2 minutos. Na sequência o esmalte foi polido com papel feltro para polimento (Polishing Cloth BUEHLER 40-7618) e suspensão de diamante (METADI Diamond Suspension 1 micron Blue Color Polish Spray, Water Base 40-6530), 4 lbs, 1 minuto. A seguir, os corpos de provas foram lavados com jato de água deionizada durante 30 segundos e submetidos ao ultrassom (BRANSON 2210), durante 2 minutos, imersos em solução de limpeza (ULTRAMET Sonic Cleaning Solution, BUEHLER) diluída na proporção 20:1 em água destilada. Este protocolo de polimento leva a remoção da camada externa do esmalte ao redor de 120 μm [Vieira et al., 2005]. Durante todos os procedimentos e entre um passo e outro, os blocos foram mantidos em ambiente umedecido com solução de timol a 0,1% a 4 °C.

3.3 Síntese e caracterização das nanopartículas de β -Glicerofosfato de cálcio (β -CaGPnano) (ANEXO B)

A síntese e caracterização do β -CaGPnano foi realizada em parceria com o Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (DQ/UFSCar), em colaboração com o Prof. Dr. Emerson Rodrigues de Camargo, baseando-se nos estudos de Danelon et al. (2015, 2017): O β -CaGPnano foi obtido por meio do processamento das micropartículas de β -CaGP comercial (80% β -isômero e 20% rac- α -isômero) (G6626, Sigma

Chemical Co, St Louis, Missouri, USA) empregando um moinho de bolas. O material comercial foi adicionado a um frasco de polietileno, e preenchido com esferas de zircônia. A seguir adicionou-se isopropanol como meio líquido para o processo de moagem. Os frascos foram vedados e submetidos à moagem por 48 horas em moinho de bolas. Após o processo de moagem, o material com características nanométricas foi separado e submetido à secagem em estufa a 85 °C para a remoção do isopropanol. Após 12 h, os materiais nanométricos obtidos foram desaglomerados com peneiras e armazenados em frascos selados e mantidos em um dessecador.

Para a caracterização, os padrões de DRX das amostras β -CaGPm e β -CaGPnano foram coletados utilizando um difratômetro Rigaku Ultima IV X-ray com radiação Cu-Ka gerados sob uma voltagem de 40 kV e corrente de 20 mA. A identificação e confirmação das fases cristalinas obtidas foi feita por meio da database Crystmet (Tooth Information Systems Inc., Ottawa, Canadá). O domínio de coerência cristalográfica (tamanho de cristalito) foi estimado por meio da equação de Scherrer. A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi utilizada para a determinação da morfologia do tamanho das partículas do isômero β -CaGPm e β -CaGPnano, enquanto que a composição química das amostras foi determinada por meio de um acessório para espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDX) acoplado ao MEV. As amostras foram depositadas sobre stubs recobertos com fita de carbono e foram submetidos a vácuo e pulverização catódica para uma fina cobertura com ouro. A composição local foi estimada por meio de espectros de EDX e pela construção de mapas elementares a imagens de MEV.

3.4 Composição e Tratamentos com Saliva Artificial e Géis Clareadores (ANEXO C)

A manipulação dos géis experimentais foi realizada a cada período experimental, uma vez que os mesmos não apresentavam estabilizante, e para que não ocorresse nenhuma reação perdida previamente à aplicação.

Os compostos sólidos (Carbopol, NaF e β -CaGPnano – tiveram suas quantidades pré-determinadas por estudos pilotos realizados no laboratório de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba). A seguir foram pesados em balança de precisão (Shimadzu, ATY 224) e colocados em frascos plásticos com tampa de pressão natural de acordo com seu grupo. Após a pesagem foi pipetado o composto líquido correspondente (PH 35%).

Os compostos foram misturados manualmente com auxílio de espátulas e em seguida o pH foi ajustado com solução de NaOH a 4 mol/L (Sigma-Aldrich®), atingindo um pH final de aproximadamente 7,0, exceto para o gel comercial HP Blue 35% (FGM - Produtos Odontológicos), o qual apresentava pH neutro, segundo as especificações do fabricante. As mensurações do pH foram realizadas utilizando-se papel indicador especial pH (Merck® KGaA, Darmstadt, Alemanha) (Tabela 1)

- 1) Peróxido de hidrogênio a 35%: PH
- 2) PH+0,1%NaF
- 3) PH+0,25% β -CaGPnano
- 4) PH+0,5% β -CaGPnano
- 5) PH+0,1%NaF+0,25% β -CaGPnano
- 6) PH+0,1%NaF+0,5% β -CaGPnano
- 7) HP Blue 35% - FGM - Produtos Odontológicos: HP Blue (com 2% de CaGlu)

Tabela 1. Composição dos géis clareadores e pH

Géis clareadores experimentais	Composição	pH
35% H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio 35%, Carbopol, e NaOH a 4 mol/L (para ajuste do pH)	≅ 7
PH + 0,1%NaF	Peróxido de hidrogênio 35%, Carbopol, 0,1% NaF e NaOH a 4 mol/L (para ajuste do pH)	≅ 7
PH + 0,25%β-CaGPnano	Peróxido de hidrogênio 35%, Carbopol, 0,25% CaGP e NaOH a 4 mol/L (para ajuste do pH)	≅ 7
PH + 0,5%β-CaGPnano	Peróxido de hidrogênio a 35%, Carbopol, 0,1% NaF, 0,25% CaGP e NaOH a 4 mol/L (para ajuste do pH)	≅ 7
PH + 0,1%NaF + 0,25%β-CaGPnano	Peróxido de hidrogênio a 35%, Carbopol, 0,1%NaF, 0,25%β-CaGP e NaOH a 4 mol/L (para ajuste do pH)	≅ 7
PH + 0,1%NaF + 0,5%β-CaGPnano	Peróxido de hidrogênio a 35%, Carbopol, 0,1%NaF, 0,25%β-CaGP e NaOH a 4 mol/L (para ajuste do pH)	≅ 7
HP Blue	Peróxido de hidrogênio a 35%, espessante de carboxipolimetileno, pigmento violeta inerte, agente neutralizante, 2% de gluconato de cálcio, glicol e água deionizada (Whiteness HP Blue, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, Santa Catarina, Brasil, Lote No.111019)	≅ 7

Abreviação: Peróxido de Hidrogênio, PH. Fluoreto de Sódio, NaF. Beta-Glicerofosfato de Cálcio nanoparticulado, β-CaGPnano.

Após a determinação da SHI, os géis foram aplicados sobre a superfície do esmalte, por 40 minutos. O protocolo de clareamento foi a cada 7 dias durante 21 dias totalizando 3 sessões. Para remoção dos géis, após o período de tratamento, foi utilizado gaze e lavagem com água deionizada por 30 segundos a fim de remover qualquer resíduo sobre os blocos. Em seguida os blocos foram armazenados em casulos individuais contendo 4 mL de saliva artificial (Felipe Akabane *et al.*, 2021) cada, mantidos em estufa a 37 °C até o dia seguinte para novamente realizar a troca de saliva. A composição da saliva artificial foi: 1,5 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,9 mmol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 150 mmol/L KCl, 0,1 mol/L Tris buffer, 0,03 ppm F, pH 7,0 (Vieira *et al.*, 2005).

3.5 Caracterização Físico-Química dos géis clareadores (ANEXO D)

Os géis foram avaliados quanto ao Índice de Polidispersão (IPd) e Potencial Zeta (PZ). Para a determinação do Pdl das partículas presentes no gel, foi utilizada a técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS, Dynamic Light Scattering). Esta técnica determina o diâmetro hidrodinâmico das partículas por meio da relação entre as variações de intensidades de luz espalhadas pelas partículas com o seu diâmetro pela equação de Stokes-Einstein. As flutuações de luz são decorrentes do movimento browniano das partículas presentes nas dispersões e do diâmetro das partículas, em que partículas menores se movimentam mais rapidamente que partículas maiores (Malvern Panalytical, 2021). Para a análise do IPd das partículas por DLS, todas as amostras foram diluídas 300 vezes em solução preparada com KCl (CAS: 7447-40-7; Sigma-Aldrich®) a 1 mmol/L. O PZ foi determinado por espalhamento de luz eletroforético. Para tanto, as dispersões dos géis foram colocadas em uma célula com dois eletrodos. Quando a célula é inserida no equipamento um campo elétrico é aplicado sobre ela o que resulta na mobilidade das partículas (mobilidade eletroforética) em direção ao o eletrodo de carga oposta a elas. A velocidade do movimento é proporcional à força do campo aplicada e de seu PZ [Malvern Panalytical, 2021]. Para análise do PZ, por espalhamento de luz eletroforético todas as amostras

também foram diluídas 300 vezes em solução de KCl (CAS: 7447-40-7; Sigma-Aldrich®) a 1mM. Ambas as análises foram realizadas no Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP) sob a orientação do Profº. Titular Valtencir Zucolotto.

3.6 Análise da dureza do esmalte (ANEXO E)

A dureza de superfície foi determinada utilizando-se o microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA) e o software Buehler Omni Met (Buehler, Lake Bluff, USA), carga de 25 g por 10 s. Cinco impressões, separadas entre si por uma distância de 100 µm, foram realizadas na região central de cada bloco (SHI). Após o período experimental foram realizadas outras cinco impressões para a análise da dureza de superfície final (SHF) distantes a 100 µm das impressões de SHI e a seguir determinar a porcentagem de perda de dureza de superfície %SH, através da seguinte fórmula: $[\%SH = ((SHF - SHI)/SHI) * 100]$ (Felipe Akabane *et al.*, 2021).

3.7 Análise da rugosidade do esmalte (ANEXO F)

A rugosidade da superfície (Ra) (n=10) foi mensurada usando um perfilômetro (modelo SJ-401, Mitutoyo, Kawasaki, Japão), que foi calibrado previamente as leituras. Cada uma de um total de três medições foi obtida após a rotação da amostra em 120°, usando um ponto de corte de 0,25 mm, carga de 5 N e uma velocidade de 0,1 mm/s. A média aritmética foi calculada das medições realizadas após os procedimentos de clareamento (Gruba *et al.*, 2023).

3.8 Análise da morfologia do esmalte através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) (ANEXO G)

Blocos de esmalte (n = 2) antes e após procedimento clareador foram analisados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), com

magnificação de 1000x para obtenção de imagens da superfície do esmalte. Todos os blocos foram desidratados gradualmente em uma série de etanol ascendente (50, 60, 70, 80 e 100%) e banhados a ouro (Quorum - Q150T E). O modo de operação de elétrons secundários (SE) foi utilizado para identificar a morfologia dos blocos de esmalte após os tratamentos com os géis clareadores. O instrumento utilizado foi um MEV-PHILIPS (XL-30 FEG, Philips, Amsterdã, Holanda) equipado com EDS (Energy Dispersive Spectroscopy). Esta análise foi conduzida no Laboratório de Caracterização Estrutural do Departamento de Materiais localizado na UFSCar, São Carlos (LCE-UFSCar/DEMa), sob a supervisão do Profº. Drº André Vidilli.

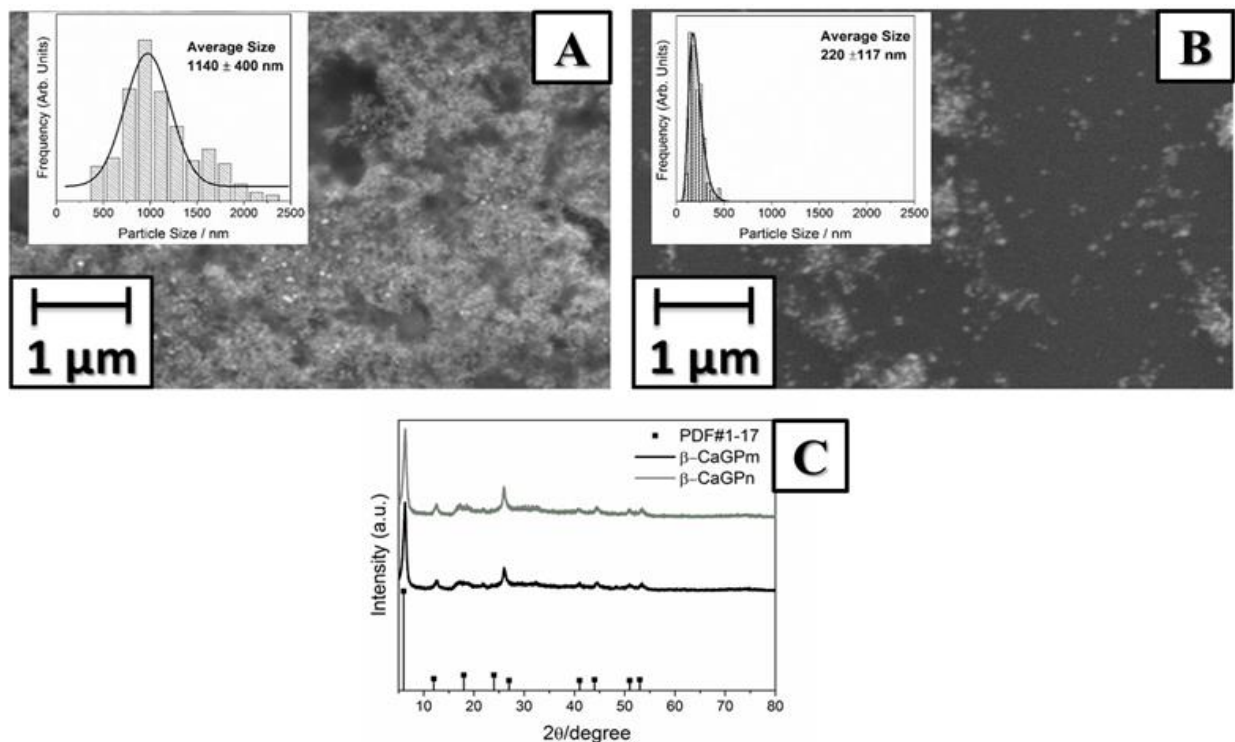
3.9 Análise estatística

Para análise estatística foram considerados como variáveis de resposta os valores do IPd, PZ, %SH e Ra, e como fator de variação o tipo de tratamento. As imagens obtidas pelo MEV foram consideradas como dados qualitativos. Foi utilizado o programa estatístico Sigmaplot® para Windows versão 12.0, com significância ao nível de 5%. Os valores apresentaram distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e homogêneas (teste de Cochran) e foram submetidos a análise de variância (ANOVA-1 critério), seguido pelo teste Student-Newman-Keuls.

4 RESULTADOS

A morfologia da superfície de esmalte antes e depois do tratamento com os géis é mostrada na Figura 1, na qual é possível observar imagens de MEV de β -CaGPm com grandes agregados e partículas de tamanhos menores (tamanho médio estimado de 1140 ± 400 nm). A Figura 1B mostra as imagens de MEV das partículas de β -CaGPnano com baixa distribuição de tamanho e um tamanho médio estimado de 220 ± 117 nm. O processo de moagem reduziu o tamanho da partícula do pó de β -CaGPn sem afetar sua estrutura cristalina. Os dados mostram picos de difração em $2\theta = 6,2^\circ, 12,5^\circ, 18,4^\circ, 24,1^\circ, 27,3^\circ, 41,4^\circ, 44,0^\circ, 50,9^\circ$ e $53,2^\circ$, que correspondem à forma cristalográfica do sal β -CaGPm (PDF № 1-17; Figura 1C).

Figura 1 - A-B: Imagens de MEV e tamanho médio (histogramas) e C: Padrões de raios-X do β -CaGPm e do β -CaGPnano após a moagem por 48 horas. Aumento: 20.000 x



Fonte: Autora, 2024

Os valores do Índice de Polidispersão (IPd) e Potencial Zeta (PZ) estão mostrados na Tabela 2. Houve variação de 0,23 a 0,38, entretanto, não foi observado diferença estatística entre os géis ($p > 0,001$). Para o Potencial Zeta (PZ) os valores variaram de +39,1 a +44,3, sem diferença estatística entre os grupos ($p > 0,001$) (Tabela 2).

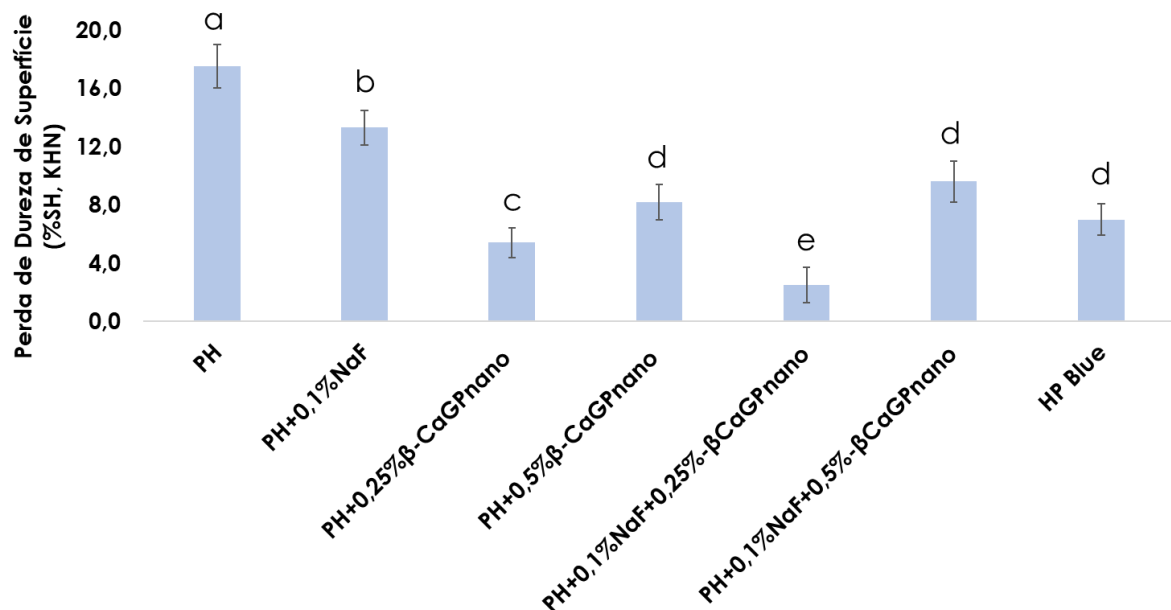
Tabela 2 - Valores médios ($\pm dp$, $n=3$) do Índice de Polidispersão (IPd) e Potencial Zeta (PZ-mV) de acordo com os Géis. Letras minúsculas distintas indicam diferenças entre os Géis (Anova 1-critério, Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$)

Géis	Índice de Polidispersão (IPd)	Potencial Zeta (PZ-mV)
PH	0,26 ^a (0,01)	+43,5 ^a (0,1)
PH+0,1%NaF	0,23 ^a (0,03)	+39,1 ^a (0,1)
PH+0,25%β-CaGPnano	0,31 ^a (0,02)	+42,4 ^a (0,4)
PH+0,5%β-CaGPnano	0,38 ^a (0,02)	+44,3 ^a (0,4)
PH+0,1%NaF+0,25%β-CaGPnano	0,28 ^a (0,03)	+40,1 ^a (0,2)
PH+0,1%NaF+0,5%β-CaGPnano	0,29 ^a (0,03)	+41,2 ^a (0,2)
HP Blue	0,30 ^a (0,01)	+39,2 ^a (0,1)

Fonte: Autora, 2024

Todos os géis experimentais e comercial (HP Blue) apresentaram um pH de aproximadamente 7,0. A Média ($\pm dp$) de SHI considerando todos os blocos foi de 360,1 (1,2) KHN. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de tratamentos após a distribuição ($p = 0,766$). A adição de 0,1%NaF e 0,25% β -CaGPnano ao PH (PH+0,1%NaF+0,25% β -CaGPnano) reduziu a %SH em 86%, 81% e 66% quando comparado ao tratamento com os géis PH, PH+0,1%NaF e HP Blue ($p < 0,001$). Os grupos PH+0,5% β -CaGPnano, PH+0,1%NaF+0,5% β -CaGPnano e HP Blue apresentaram valores similares ($p > 0,001$). Por outro lado, o gel contendo PH+0,25% β -CaGPnano reduziu a %SH em aproximadamente 69% e 59% em relação aos grupos HP e HP+0,1%NaF ($p < 0,001$). Mesmo em menor concentração de β -CaGPnano e sem adição de NaF (HP+0,25% β -CaGPnano, a %SH foi menor em aproximadamente 60% quando comparado ao grupo PH+0,1%NaF ($p < 0,001$). Ainda o tratamento com PH+0,1%NaF+0,25% β -CaGPnano reduziu a %SH em 75% em relação ao PH+0,1%NaF+0,5% β -CaGPnano ($p < 0,001$) (Figura 2).

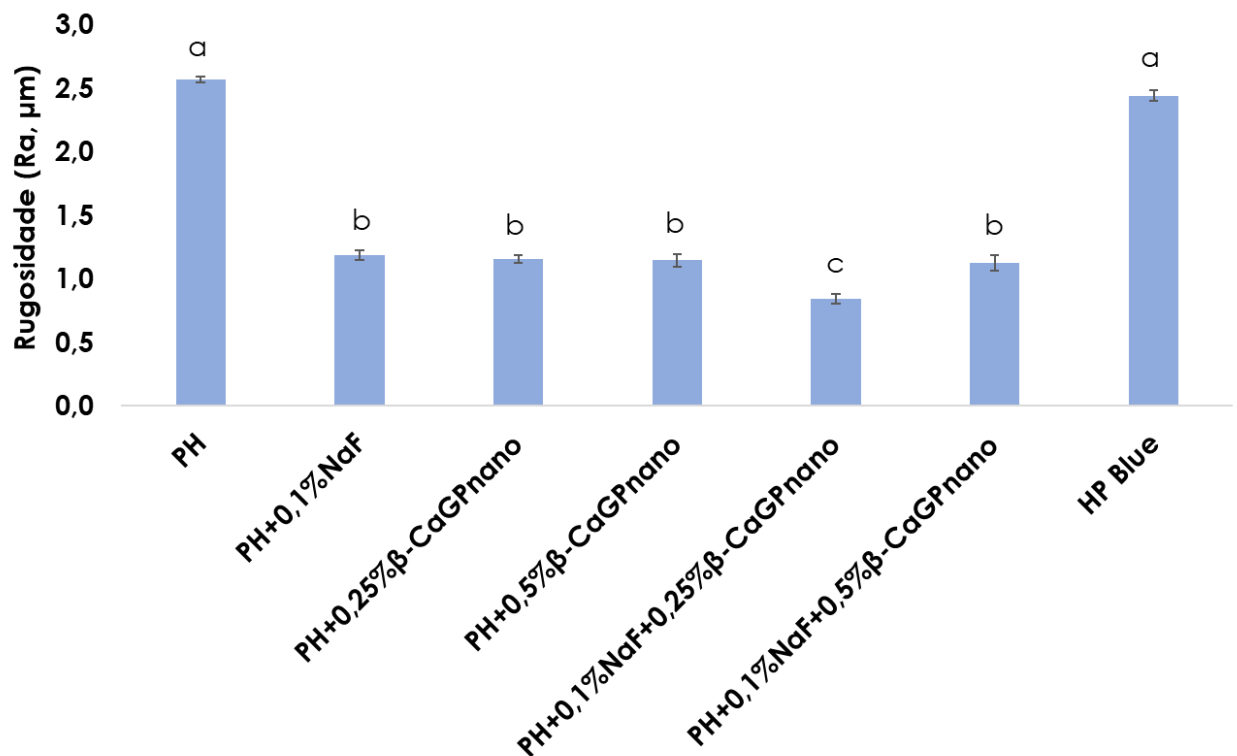
Figura 2 - Média ($\pm dp$, n=10/grupo) dos valores da Porcentagem de Perda de Dureza de Superfície (%SH) de acordo com os Géis. (Anova 1-critério, Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$)



Fonte: Autora, 2024

Na Figura 3 são apresentados os dados de Rugosidade de Superfície (Ra). Após a terapia clareadora, os tratamentos que levaram a maiores e similares alterações de Ra foram HP e HP Blue ($p > 0,001$). O grupo PH+0,1%NaF+0,25% β -CaGP nano apresentou redução da rugosidade em 67% e 65% quando comparado ao PH e HP Blue respectivamente. Por outro lado, a Ra foi similar para os grupos PH+0,1%NaF, PH+0,25% β -CaGP nano, PH+0,5% β -CaGP nano e PH+0,1%NaF+0,5% β -CaGP nano ($p > 0,001$). De um modo geral é importante destacar que todos os géis que apresentavam NaF e/ou β -CaGP nano apresentaram a menor Ra.

Figura 3 - Média ($\pm dp$, n=10/grupo) dos valores Rugosidade de Superfície (Ra, μm) (após terapia clareadora de 21 dias) de acordo com os Géis (Anova 1- critério, Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$)



Fonte: Autora, 2024

5 DISCUSSÃO

O peróxido de hidrogênio (PH) em altas concentrações pode causar efeitos adversos na composição e estrutura dentária (Felipe Akabane *et al.*, 2021; Melo *et al.*, 2022; Mohammadipour *et al.*, 2024). Nesse sentido, a incorporação de agentes com potencial remineralizador como Ca^{+2} , PO_4^{-3} e F^- , em géis clareadores, tem sido uma estratégia promissora visando reduzir a desmineralização do esmalte dentário (Felipe Akabane *et al.*, 2021; Gruba *et al.*, 2023, Prette Júnior *et al.*, 2021). Os resultados do presente estudo mostraram que a adição de NaF e β -CaGP nano reduziu significativamente a desmineralização do esmalte, levando a um efeito protetivo durante a terapia clareadora, dessa forma a hipótese nula foi rejeitada.

Na análise dos resultados do Potencial Zeta e Índice de Polidispersão (PZ, IPd, Tabela 2), um elevado PZ em módulo (maior que ± 30 mV), constitui um fator importante para manutenção da estabilidade dos agentes ativos presentes na formulação do gel clareador, e através de forças de repulsão, tendem a evitar a agregação dos agentes (Nascimento *et al.*, 2016). Para o IPd, valores menores que 0,5 sugerem que a distribuição das partículas dos agentes ativos presentes nos géis clareadores experimentais, se encontram com características homogêneas; já altos valores indicam heterogeneidade dos agentes. Em nosso estudo foi possível observar que mesmo após a adição dos agentes NaF, β -CaGP nano e NaF/ β -CaGP nano as formulações se mostraram com estabilidade satisfatória (Tabela 2). Resultados similares foram evidenciados no estudo de Nunes *et al.* (2024), no qual os autores avaliaram diferentes formulações dentifrícias fluoretadas contendo micropartículas e nanopartículas de β -CaGP sobre a remineralização de lesões iniciais de cárie.

Inúmeros estudos têm mostrado a capacidade de géis clareadores em promover perda significativa na dureza do esmalte, estando relacionada a concentração de PH, pH (Crastechini; Borges; Torres, 2019; Felipe Akabane *et al.*, 2021), tempo de exposição (Favoreto *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2022), efeito oxidativo dos radicais livres (Torres *et al.*, 2019) e da composição dos géis no que diz respeito à presença ou ausência de Ca^{2+} , PO_4^{3-} e F^- (Gruba *et al.*, 2023;

Manzoli *et al.*, 2022). Ainda, géis com pH neutro apresentam capacidade de promover alterações morfológicas na superfície do esmalte dentário como porosidade superficial, degradação da matriz orgânica e perda de Ca^{+2} e PO_4^{3-} , resultando na redução da dureza superficial (Felipe Akabane *et al.*, 2021; Gruba *et al.*, 2023; Pascolutti; Oliveira, 2021; Prette Júnior *et al.*, 2021), como demonstrado em nosso estudo. Dessa forma, suplementar géis clareadores com fontes de Ca^{2+} , PO_4^{3-} e F^- , trata-se de uma estratégia positiva. Um estudo conduzido por Li *et al.* (2014) confirmou que a adição de NaF ao gel clareador o torna supersaturado em relação ao F^- , permitindo sua incorporação na estrutura do esmalte na forma de apatita fluoretada. Além disso, a porosidade do esmalte pode aumentar após o clareamento, resultando em um maior número de sítios de retenção e uma melhor difusão de F^- , e consequentemente, aumentando a sua deposição (Motevasselian *et al.*, 2023; Torres *et al.*, 2019; Torsakul *et al.*, 2023). Ainda, a adição de NaF ao gel clareador pode contribuir para a reparação microestrutural de defeitos no esmalte desmineralizado durante a aplicação do gel. Esses achados estão em conformidade com o nosso estudo; quando o esmalte foi tratado com géis contendo PH+0,1%NaF (Figura 2 , Figura 3 e Figura 4).

Destaca-se também que no presente estudo, todos os géis experimentais e comercial levaram a desmineralização do esmalte dentário (Figura 2). É importante mencionar que duas diferentes fontes de cálcio e fosfato foram utilizadas em nosso estudo: gluconato de cálcio (CaGlu: fonte de Ca^{+2}) e nanopartículas de β -glicerofosfato de cálcio (β -CaGPnano) (β -CaGPnano: fonte de Ca^{+2} and PO_4^{3-}) com o intuito de verificar o efeito dos mesmos na redução da desmineralização do esmalte dentário. Entretanto, nos últimos anos, estudos têm demonstrado que agentes clareadores contendo 2% de CaGlu não apresentam ação positiva no esmalte (em superfície e/ou em profundidade) (Felipe Akabane *et al.*, 2021; Gruba *et al.*, 2023; Prette Júnior *et al.*, 2021; Torres *et al.*, 2019) principalmente em formulações contendo PH em altas concentrações. Nossos resultados reforçam que a saturação do meio com cálcio não leva a um efeito positivo adicional. Ainda, de acordo com estudos anteriores (Cavalli *et al.*, 2018; Felipe

Akabane *et al.*, 2021; Gruba *et al.*, 2023; Prette Júnior *et al.*, 2021; Torres *et al.*, 2019), o CaGlu é incompatível com agentes oxidantes fortes e não pode ser liberado durante a decomposição do clareamento, explicando os nossos achados.

Embora a rugosidade do esmalte possa estar associada à perda mineral, alteração topográfica ou modificação da reflexão de luz (Motevasselian *et al.*, 2023; Vieira-Júnior *et al.*, 2018), os valores de rugosidade para os grupos contendo NaF e/ou β -CaGPnano foram considerados relativamente baixos quando comparados ao PH e HP Blue (Figura 3). Sabe-se que a alteração da rugosidade pode ser restaurada pela saliva humana ou durante um tempo mais longo de armazenamento na saliva artificial (representado pelo presente estudo). Além da saliva, a presença do β -CaGPnano e NaF, pode ter contribuído para maior formação dos íons acima mencionados e CaF_2 , participando ativamente na redução da desmineralização. A análise pela MEV revelou alterações na morfologia na superfície do esmalte após procedimento clareador (Figura 4). Para os grupos contendo β -CaGPnano as imagens revelam depósitos minerais, em maior grau para o grupo HP+0,1%NaF+0,25% β -CaGPnano (Figura 4E). É possível que essa deposição tenha ocorrido devido à disponibilidade de cálcio proveniente do esmalte desmineralizado e do β -CaGPnano. Seguindo esta lógica, quando o esmalte foi imerso em saliva, tais depósitos aumentaram a precipitação de íon cálcio e fosfato principalmente nas camadas superficiais do esmalte. Isso demonstra sua capacidade em adsorver ao esmalte e funcionar como agente nucleador de fosfato de cálcio, semelhante aos achados de Emerenciano *et al.* (2024) e Nunes *et al.* (2024).

É importante destacar que o β -CaGPnano quando em associação ao NaF, apresenta grande potencial em reduzir a desmineralização e promover a remineralização do esmalte dentário, como evidenciado em outros estudos (Emerenciano *et al.*, 2023; Nunes *et al.*, 2024). A ligação entre os grupos Ca^{+2} e PO_4^{-3} da estrutura do β -CaGPnano é considerada como a parte mais instável da molécula, sugerindo que esta instabilidade favorece a liberação de Ca^{+2} ,

deixando os grupos de fosfato aniônico livres. Por outro lado, especula-se que o aumento da concentração de PO_4^{3-} no esmalte (Emerenciano *et al.*, 2023; Nunes *et al.*, 2024) esteja relacionado com a maior disponibilidade de Ca^{+2} no meio, capacidade de adsorção de β -CaGP nano do esmalte e interação do esmalte com F^- quando aplicado a uma razão molar apropriada, uma vez que, após a liberação de Ca^{+2} , a superfície apresenta mais sítios doadores de elétrons, o que pode favorecer a nucleação de Ca^{+2} e PO_4^{3-} para o esmalte, resultando em um ambiente supersaturado com estes íons (Sezer; Kargul, 2022; Yavuz; Kargul, 2021). Nesse sentido, Emerenciano *et al.* (2023, 2024) e Nunes *et al.* (2024) avaliaram a associação de diferentes concentrações de micropartículas de β -CaGP (β -CaGPm) e nano (β -CaGP nano) em dentifrícios com concentração convencional de F na desmineralização *in vitro* e remineralização *in vitro* e *in situ* do esmalte dentário; na concentração de 0,25% β -CaGP nano houve uma redução expressiva da desmineralização, e superior na remineralização, quando comparado ao dentifrício contendo 1100 ppm de F. Esses bons resultados também foram encontrados em nosso estudo, uma vez que a associação de PH+0,1%NaF+0,25% β -CaGP nano, reduziu a %SH em 86%, 81%, 66% quando comparado aos géis PH, PH+0,1%NaF e HP Blue (Figura 2), corroborando com os estudos mencionados.

Até o presente momento, nenhum estudo avaliou a associação do β -CaGP nano com o NaF em géis clareadores, sendo este trabalho de grande relevância, uma vez que, diante dos efeitos adversos que o clareamento dental pode provocar na estrutura dentária, e bons resultados obtidos com o uso de NaF e β -CaGP nano, torna-se uma estratégia promissora. Entretanto, vale a pena ser considerado que em relação à adição de NaF/ β -CaGP nano nos agentes clareadores: a) apesar de semelhantes efeitos de clareamento que foram visualmente observados para todos os géis, a análise de cor deve ser realizada a fim de determinar os efeitos reais das composições clareadoras, e alteração sobre o efeito clareador e b) o efeito do NaF/ β -CaGP nano sobre a difusão do PH, e derivados de sua degradação através dos tecidos duros devem ser verificados, mediante a ensaios citotóxicos e/ou penetração trans-amelodentinária.

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a adição de NaF e β -CaGP nano ao gel de peróxido de hidrogênio à 35% foi eficaz em reduzir a desmineralização do esmalte dentário e rugosidade, levando à um maior efeito protetivo durante a terapia clareadora. Dessa forma, essa associação de agentes ativos pode ser utilizada como uma estratégia promissora na redução de alterações minerais ocorridas durante o procedimento clareador.

REFERÊNCIAS

Altınışik H, Akgül S, Nezir M, Özcan S, Özyurt E. The effect of in-office bleaching with different concentrations of hydrogen peroxide on enamel color, roughness, and color stability. *Materials*. 2023;16:1389. doi: 10.3390/ma16041389.

American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD). Policy on the use of dental bleaching for child and adolescent patients. In: American Academy of Pediatric Dentistry. The reference manual of pediatric dentistry. Chicago: American Academy of Pediatric Dentistry; 2023. p. 128-32.

Borges AB, Zanatta RF, Barros ACSM, Silva LC, Pucci CR, Torres CRG. Effect of hydrogen peroxide concentration on enamel color and microhardness. *Oper Dent* 2015;40:96-101.

Caneppele TMF, Torres CRG, Bresciani E. Analysis of the color and fluorescence alterations of enamel and dentin treated with hydrogen peroxide. *Braz Dent J* 2015;26:514-518.

Carminatti M, Benetti F, Siqueira RL, Zanotto ED, Briso ALF, Chaves-Neto AH, Cintra LTA. Experimental gel containing bioactive glass-ceramic to minimize the pulp damage caused by dental bleaching in rats. *J Appl Oral Sci*. 2020;28:e20190384. doi: 10.1590/1678-7757-2019-0384.

Carneiro TS, Favoreto MW, Ferreira MWC, Bernardi LG, Andrade HF, Bandeca MC, Reis A, Ceballos García L, Loguercio AD. In-office dental bleaching in adolescents using 6% hydrogen peroxide with different application tips: randomized clinical trial. *J Appl Oral Sci*. 2023;31:e20230216. doi:10.1590/1678-7757-2023-0216.

Carvalho AC, Souza TF, Liporoni PC, Pizi EC, Matuda LA, Catelan A. Effect of bleaching agents on hardness, surface roughness and color parameters of dental enamel. *J Clin Exp Dent*. 2020;12:e670-e675. doi: 10.4317/jced.56913.

Cavalli V, Rosa DAD, Silva DPD, Kury M, Liporoni PCS, Soares LES, Martins AA. Effects of experimental bleaching agents on the mineral content of sound and

demineralized enamels. *J Appl Oral Sci* 2018;4;26:e20170589. doi: 10.1590/1678-7757-2017-0589.

Crastechini E, Borges AB, Torres C. Effect of remineralizing gels on microhardness, color and wear susceptibility of bleached enamel. *Oper Dent* 2019;44:76-87. doi: 10.2341/17-150-L.

Danelon M, Pessan JP, Souza Neto FN, Camargo ER, Delbem AC. Effect of toothpaste with nano-sized trimetaphosphate on dental caries: In situ study. *J Dent* 2015;43:806-813. doi: 10.1016/j.jdent.2015.04.010.

Danelon M, Pessan JP, Souza-Neto FN, Camargo ER, Delbem AC. Effect of fluoride toothpaste with nano-sized trimetaphosphate on enamel demineralization: an in vitro study. *Arch Oral Biol* 2017;78:82-87. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.02.014.

Elbahary S, Gitit Z, Flaisher-Salem N, Azem H, Shemsesh H, Rosen E, Tsesis I. Influence of irrigation protocol on peroxide penetration into dentinal tubules following internal bleaching: a confocal laser scanning microscopy study. *J Clin Pediatr Dent*. 2021;45:253-258. doi:10.17796/1053-4625-45.4.6.

Emerenciano NG, Delbem ACB, Gonçalves FMC, de Camargo ER, de Souza Neto FN, Gorup LF, Silva-Sousa YTC, Danelon M. Effect of nanometric β -calcium glycerophosphate supplementation in conventional toothpaste on enamel demineralization: an in vitro study. *J Mech Behav Biomed Mater* 2024;151:106354. doi: 10.1016/j.jmbbm.2023.106354.

Emerenciano NG, Delbem ACB, Gonçalves FMC, Quinteiro JP, de Camargo ER, Silva-Sousa YTC, Danelon M. Effect of the association of microparticles and nano-sized β -calcium glycerophosphate in conventional toothpaste on enamel remineralization: in situ study. *J Dent* 2023;138:104719. doi: 10.1016/j.jdent.2023.104719.

Erdem RZ, Çellik Ö. Investigation of the bleaching efficiencies of different office type bleaching techniques and the changes caused on the enamel surface. *Lasers Med Sci*. 2023;38:211. doi: 10.1007/s10103-023-03874-3.

Favoreto MW, Madureira MP, Hass V, Maran BM, Parreiras SO, Borges CPF, Reis A, Loguercio AD. A novel carbamide peroxide polymeric nanoparticle bleaching gel: Color change and hydrogen peroxide penetration inside the pulp cavity. *J Esthet Restor Dent* 2021;33:277-283. doi: 10.1111/jerd.12652.

Felipe Akabane ST, Danelon M, Nunes GP, Gruba AS, Alberto de Souza-Costa C, Caroline de Oliveira Duque C, de Oliveira Gallinari M, Fraga Briso AL, Botazzo Delbem AC. Evaluation of the aesthetic effect, enamel microhardness and trans-amelodentinal cytotoxicity of a new bleaching agent for professional use containing trimetaphosphate and fluoride. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021 Feb;114:104225. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.104225.

Goyal K, Saha SG, Bhardwaj A, Saha MK, Bhapkar K, Paradkar S. A comparative evaluation of the effect of three different concentrations of in-office bleaching agents on microhardness and surface roughness of enamel - An in vitro study. *Dent Res J*. 2021;18:49.

Gruba AS, Nunes GP, Marques MT, Danelon M, Alves RO, Toledo PTA, Briso ALF, Delbem ACB. Influence of bleaching gels formulated with nano-sized sodium trimetaphosphate and fluoride on the physicochemical, mechanical, and morphological properties of dental enamel. *J Dent*. 2023 Dec;139:104743. doi: 10.1016/j.jdent.2023.104743.

Ilyas N, Marshall S, Ahluwalia M. Dental bleaching: 'Now I can Smile for my Selfies': paediatric patients' perspectives. *Prim Dent J*. 2021;10:65-73. doi:10.1177/20501684211066528.

Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: a review of the literature. *J Dent* 2014;42:2-20. doi: 10.1016/S0300-5712(14)50003-6.

Malvern Panalytical. Nanoparticle Tracking Analysis (NTA). 2021 [citado 20 jan 2021]. Disponível em: <http://www.malvern.com/en/products/technology/nanoparticle-tracking-analysis/>

Manzoli TM, Costa JLSG, Besegato JF, Gelio MB, Galvani LD, Bordini EAF, Kuga MC, Dantas AAR. Violet LED associated with high concentration hydrogen

peroxide: Effects on bleaching efficacy, pH, and temperature. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2022;40:103133. doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.103133.

Melo M, Fioresta R, Sanz JL, Pecci-Lloret MP, Llena C. Effect of highly concentrated bleaching gels on enamel microhardness and superficial morphology, and the recovery action of four remineralizing agents. *BMC Oral Health* 2022;22:645. doi: 10.1186/s12903-022-02693-2.

Mohammadipour HS, Shokrollahi P, Gholami S, Bagheri H, Namdar F, Sekandari S. Do different tooth bleaching-remineralizing regimens affect the bleaching effectiveness and enamel microhardness in vitro? *Int J Dent* 2024;14:6893472. doi: 10.1155/2024/6893472.

Monteiro J, Ashley PF, Parekh S. Vital bleaching for children with dental anomalies: EAPD members' survey. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2020;21:565-571. doi: 10.1007/s40368-019-00494-w.

Motevasselian F, Kermanshah H, Dortaj D, Lippert F. Effect of pH of in-office bleaching gels and timing of fluoride gel application on microhardness and surface morphology of enamel. *Int J Dent* 2023;5:1041889. doi: 10.1155/2023/1041889.

Nascimento TG, Silva PF, Azevedo LF, Rocha LG, Moraes Porto IC, Lima E Moura TF, Basílio-Júnior ID, Grillo LA, Dornelas CB, Fonseca EJ, Jesus Oliveira E, Zhang AT, Watson DG. Polymeric nanoparticles of brazilian red propolis extract: preparation, characterization, antioxidant and leishmanicidal Activity *Nanoscale Res Lett* 2016;11:301.

Nunes GP, Delbem ACB, Gonçalves FMC, Rischka K, Camargo ER, Sousa YTCS, Danelon M. Biomineralization and remineralizing potential of toothpastes containing nanosized β -calcium glycerophosphate: an in vitro study. *Odontology* 2024;18. doi: 10.1007/s10266-024-00927-z.

Pascolutti M, Oliveira D. A radical-free approach to teeth whitening. *Dent J*. 2021;9:148. doi: 10.3390/dj9120148.

Pini NIP, Piccelli MR, Vieira-Junior WF, Ferraz LN, Aguiar FHB, Lima DANL. In-office tooth bleaching with chitosan-enriched hydrogen peroxide gels: in vitro results. *Clin Oral Investig*. 2022;26:471-479. doi: 10.1007/s00784-021-04021-4.

Prette Júnior RAT, Danelon M, Pessan JP, Emerenciano NG, Cunha RF, Shinohara MS, Delbem ACB. Effect of daily use of fluoridated dentifrice and bleaching gels containing calcium, fluoride, or trimetaphosphate on enamel hardness: an in vitro study. *Clin Oral Investig* 2021;25:883-889. doi: 10.1007/s00784-020-03375-5.

Rodrigues JL, Rocha PS, Pardim SLS, Machado ACV, Faria-E-Silva AL, Seraidarian PI. Association between in-office and at-home tooth bleaching: a single blind randomized clinical trial. *Braz Dent J*. 2018;29:133-139. doi: 10.1590/0103-6440201801726.

Sezer B, Kargul B. Effect of remineralization agents on molar-incisor hypomineralization-affected incisors: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Pediatr Dent*. 2022;46:192-198. doi: 10.17796/1053-4625-46.3.4.

Tahir A, Caratela N, Niazi F, Ilyas N. Aesthetic management of discoloured incisors in children. *Prim Dent J*. 2023;12:83-90. doi:10.1177/20501684231197261.

Torres C, Zanatta RF, Silva TJ, Borges AB. Effect of calcium and fluoride addition to hydrogen peroxide bleaching gel on tooth diffusion, color, and microhardness. *Oper Dent*. 2019;44:424-432. doi: 10.2341/18-113-L.

Torsakul P, Rirattanapong P, Prapansilp W, Vongsavan K. Remineralization effect of calcium glycerophosphate in fluoride mouth rinse on eroded human enamel: an in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2023;13:327-332. doi: 10.4103/jispcd.JISPCD_23_23.

Vieira AE, Delbem AC, Sassaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res* 2005;39:514-520.

Vieira I, Vieira-Junior WF, Pauli MC, Theobaldo JD, Aguiar FH, Lima DA, Leonardi GR. Effect of in-office bleaching gels with calcium or fluoride on color,

roughness, and enamel microhardness. *J Clin Exp Dent*. 2020;12:e116-e122. doi: 10.4317/jced.56006.

Vieira-Junior WF, Vieira I, Ambrosano GM, Aguiar FH, Lima DA. Correlation between alteration of enamel roughness and tooth color. *J Clin Exp Dent* 2018;10:e815-e820. doi: 10.4317/jced.54881.

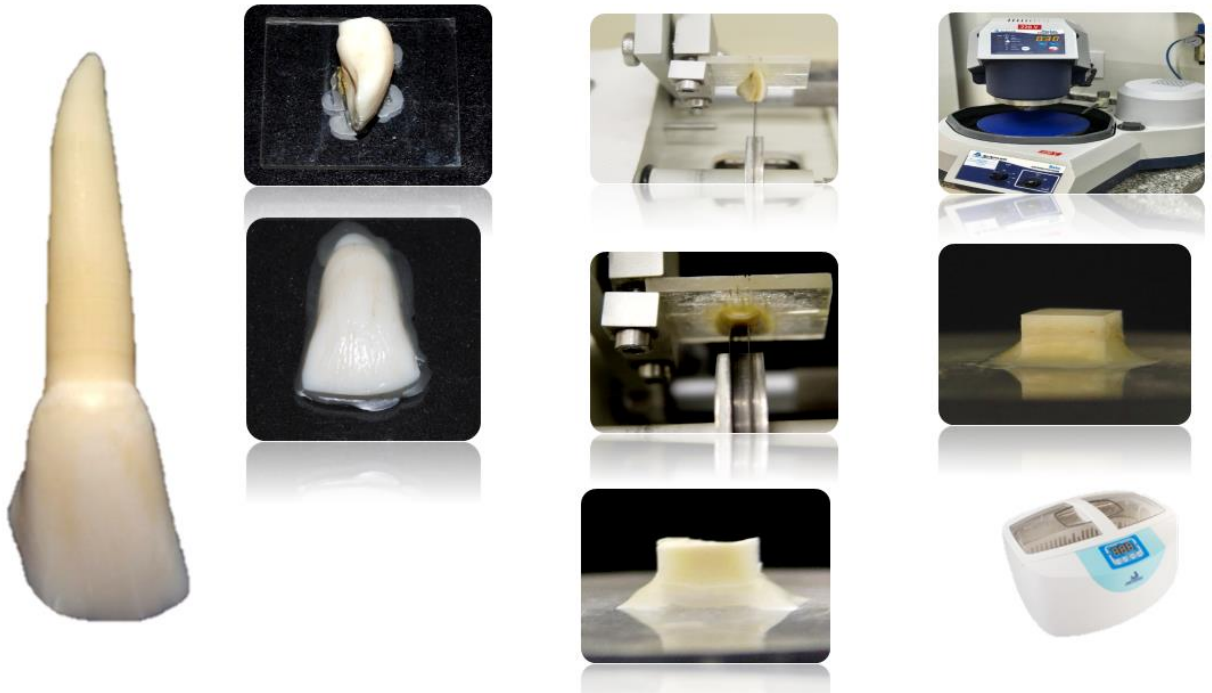
Wood K, Lyne A, O'Donnell K, Brown CJ, Parekh S, Monteiro J. Patient-reported outcome measures for children and adolescents having dental bleaching in the UK. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2022;23:579-586. doi:10.1007/s40368-022-00721-x.

Yang X, Sun K, Zhu W, Li Y, Pan J. Time-dependent efficacy and safety of tooth bleaching with cold plasma and H₂O₂ gel. *BMC Oral Health* 2022;22:535. doi: 10.1186/s12903-022-02601-8.

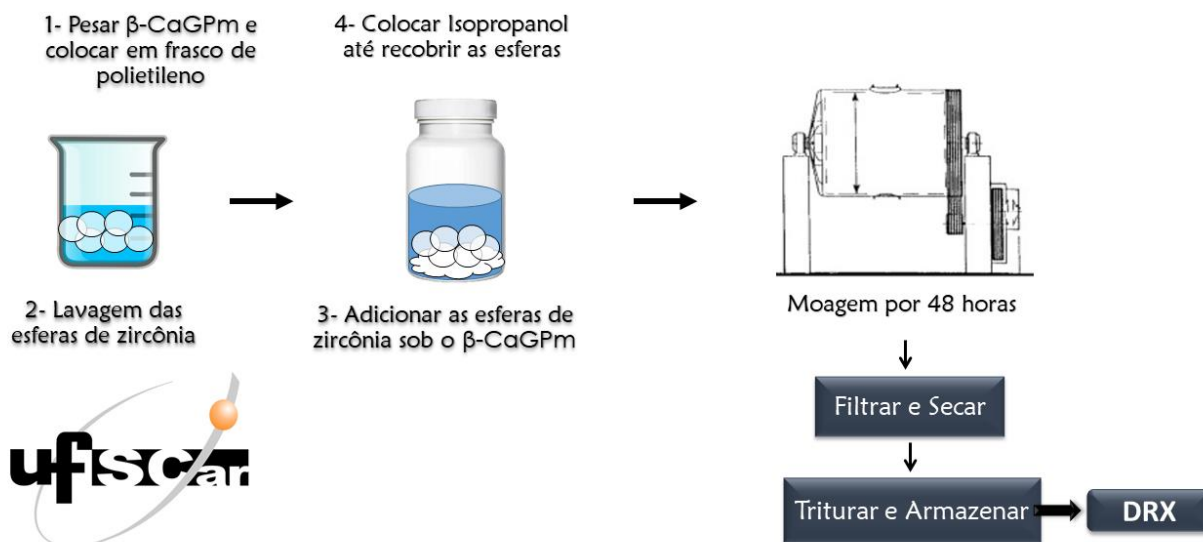
Yavuz BS, Kargul B. Comparative evaluation of the spectral-domain optical coherence tomography and microhardness for remineralization of enamel caries lesions. *Dent Mater J*. 2021;40:1115-1121. doi: 10.4012/dmj.2020-279.

ANEXOS

ANEXO A - PREPARO DOS BLOCOS DE ESMALTE



ANEXO B - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO β -CaGP_{nano}



ANEXO C - COMPOSIÇÃO E TRATAMENTO COM COM SALIVA ARTIFICIAL E GÉIS CLAREADORES



Géis experimentais



HP Blue 35%



Saliva Artificial

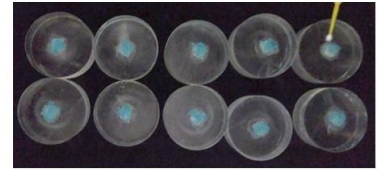


Tratamento com Saliva artificial por 40 minutos

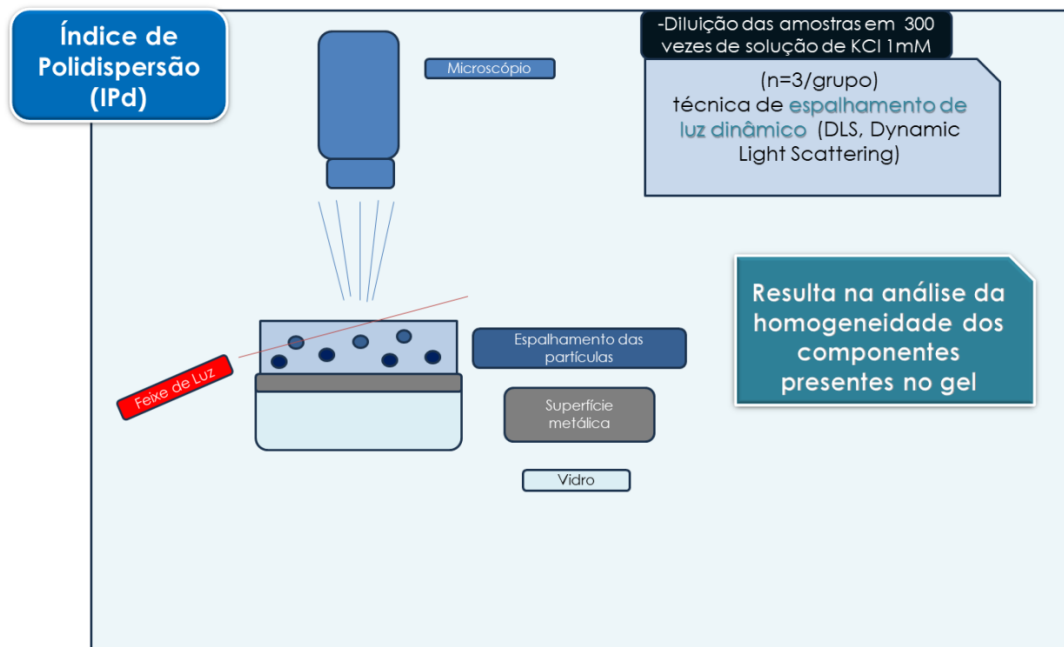
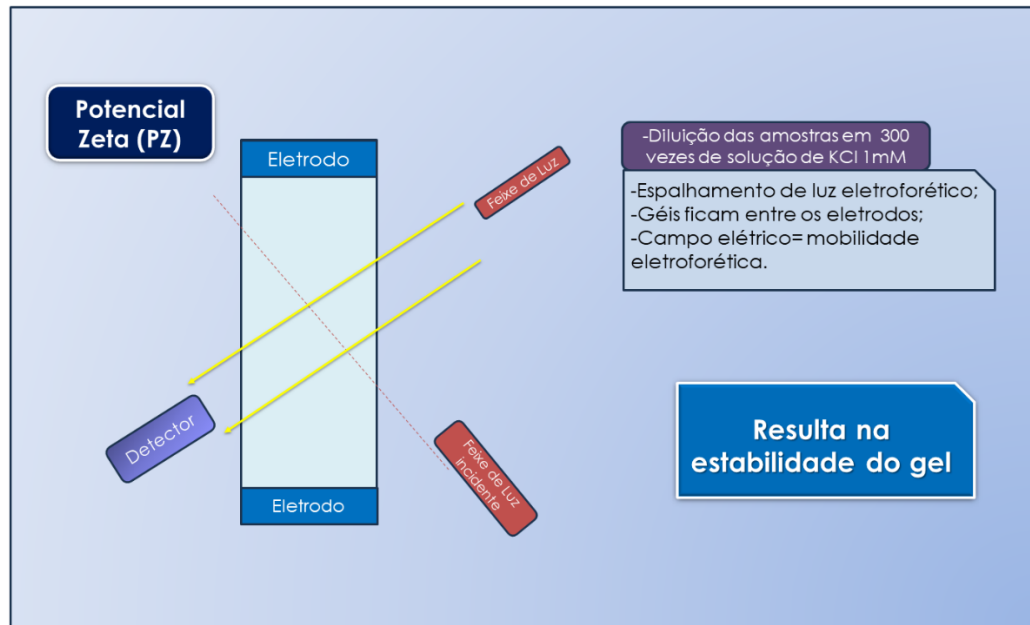
Tratamento com Géis experimentais por 40 minutos



Tratamento com Gel HP Blue 35% por 40 minutos



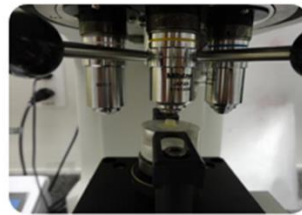
ANEXO D - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS GÉIS CLAREADORES



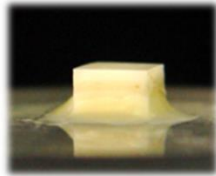
ANEXO E - (ANÁLISE DA DUREZA DO ESMALTE)



Microdurômetro Buehler

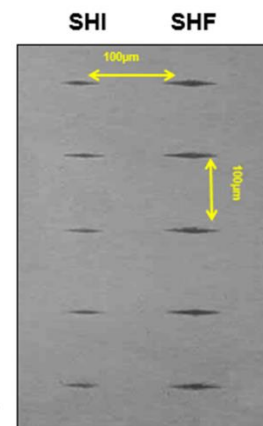


Carga 25 gramas
Tempo 10 segundos



Porcentagem de perda de dureza de superfície

$$\%SH = [(SHF - SHI) / SHI] * 100$$



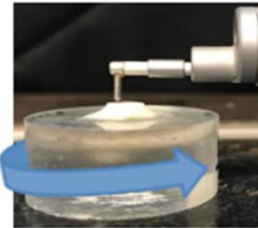
ANEXO F - ANÁLISE DA RUGOSIDADE DO ESMALTE



Perfilômetro modelo SJ-401, Mitutoyo, Kawasaki, Japão



- 3 Medições
- Ponte de corte de 0,25mm
- Carga 5N
- Velocidade 0,1mm/s



- Rotação em 120°

ANEXO G - ANÁLISE DA MORFOLOGIA DO ESMALTE ATRAVÉS DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA



Microscópio Eletrônico de Varredura MEV-PHILIPS (XL-30 FEG, Philips) + Microsonda de EDS acoplamento interno.

