



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

TATIANE AYUMI PEREIRA TERADA

**EFEITO DA TEMPERATURA DOS GÉIS CLAREADORES EM
SUAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, NO
SUBSTRATO E NA EFICÁCIA ESTÉTICA**

Araçatuba - SP
2025

TATIANE AYUMI PEREIRA TERADA

**EFEITO DA TEMPERATURA DOS GÉIS CLAREADORES EM
SUAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, NO
SUBSTRATO E NA EFICÁCIA ESTÉTICA**

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

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Fraga
Briso

Araçatuba - SP
2025

Dedico este trabalho à minha família,
minha dádiva.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, que, de um sonho, tornou-se realidade.

Ao Professor André Luiz Fraga Briso, por ter confiado a mim esta pesquisa e todo suporte em meus últimos anos de Graduação, sendo um presente a mim.

À Dra. Lara Maria Bueno Esteves, por guiar meus passos durante toda a pesquisa e além dela, me ensinando e auxiliando em cada detalhe, sendo a responsável por tornar tudo isso possível e extraordinário.

Ao Professor Marcos Rogério de Mendonça, por ser parte imprescindível da minha banca avaliadora, e responsável pela minha admiração à Ortodontia e ao ser humano que é.

A Deus, que, sem Ele, nada seria.

À minha família, por serem exatamente quem são, por me criarem em um lar cheio de amor, afeto, confiança e felicidade, por me ensinarem todos os valores e princípios que carrego. À minha mãe Rosana, que faz o impossível por mim e é minha inspiração desde que me conheço por gente. À minha avó Maria, meu primeiro amor dessa vida e o coração mais bondoso já visto. Ao meu avô João, dono da minha maior saudade. À minha tia Terezinha, minha segunda mãe e minha confidente. Ao meu padrasto Kleber, por somar tanto desde que chegou à nossa família. Aos meus tios e tias, por serem meu suporte e amparo durante toda a minha vida.

Ao meu amor, Leomar Sena, por ser meu cais durante o caos, meu sonho acordado e razão de tudo; a vida com você é ainda melhor e mais feliz.

Aos meus amigos, por colecionarmos momentos inesquecíveis, por serem a minha segunda família em Araçatuba e fazerem destes os melhores 5 anos da minha vida.

Às minhas amigas-irmãs, por serem meu lar enquanto estava longe do meu e partilharmos essa jornada única juntas; nada seria igual sem vocês.

RESUMO

TERADA, T. A. P. **Efeito da temperatura dos géis clareadores em suas propriedades físico-químicas, no substrato e na eficiência estética.** 2025. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

Os géis clareadores, à base de peróxido de hidrogênio ou de carbamida, são sensíveis à luz, ao calor e à umidade. O armazenamento inadequado acelera sua degradação, diminuindo a liberação de oxigênio ativo, agente fundamental para o clareamento dental. Este estudo teve como objetivo avaliar o impacto de diferentes temperaturas (5°C, 25°C e 40°C) sobre a ação dos géis clareadores, considerando alteração cromática, difusão trans-amelodentinária, rugosidade, microdureza, viscosidade e liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs). Foram utilizados 60 incisivos bovinos (n=15), de animais abatidos com idade entre 24 e 36 meses. Na fase 1, discos de esmalte/dentina de incisivos bovinos (n=15; 5,7 mm de diâmetro e 3,5 mm de espessura) foram divididos em quatro grupos: controle, gel a 5°C, 25°C e 40°C. As análises foram feitas em cinco momentos: Baseline, após a 1ª, 2ª e 3ª sessões, e após 14 dias. A alteração cromática foi avaliada com espectrofotômetro UV-Vis, e a difusão trans-amelodentinária por método enzimático durante a primeira sessão. Na fase 2, novos espécimes não pigmentados, preparados conforme a fase 1, foram avaliados quanto à rugosidade e microdureza antes e após as três sessões. Na fase 3, foram realizadas análises físico-químicas dos géis. A viscosidade foi determinada com viscosímetro Brookfield DV2T, e a liberação de EROs, pela sonda carboxy-H2DCFDA, com leituras de fluorescência (excitação: 492 nm; emissão: 527 nm). A análise estatística foi realizada no software SigmaPlot 12.0, com nível de significância de 5%. Após a análise dos resultados, o gel clareador a 40°C apresentou a maior eficácia estética, porém com os maiores danos ao substrato dentário e às propriedades físico-químicas. Em contrapartida, o gel a 5°C causou menos danos, mas com menor desempenho clareador. Já o gel a 25°C mostrou-se como a melhor opção, promovendo clareamento satisfatório e alterações estruturais intermediárias. Assim, conclui-se que a temperatura a 25°C representa um equilíbrio entre eficácia estética e preservação do substrato.

Palavras-chave: Clareamento dental; Peróxido de Hidrogênio; Temperatura.

ABSTRACT

TERADA, T. A. P. **Effect of temperature of whitening gels on their physicochemical properties, substrate and aesthetic efficacy**. 2025. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

Bleaching gels, composed mainly of hydrogen peroxide or carbamide peroxide, are chemically sensitive to factors such as light, heat and humidity. Improper storage can accelerate the degradation of these compounds, reducing the capacity to release active oxygen, the essential agent for the dental bleaching process. Thus, this study aims to evaluate the impact of different temperatures (5°C, 25°C and 40°C) on the action of bleaching gels, considering chromatic alteration, trans-enamel-dentin diffusion, roughness, microhardness, viscosity and release of ROS. Sixty bovine incisors (n=15) from animals slaughtered between 24 and 36 months of age were used. In phase 1, samples of bovine incisors (n=15) on enamel/dentin discs (5.7 mm in diameter and 3.5 mm in thickness) were divided into four experimental groups: control, gel at 5°C, 25°C and 40°C. Each group was evaluated at five moments: Baseline, after the 1st, 2nd and 3rd sessions and after 14 days. The color change was measured with a UV-Vis spectrophotometer 48 hours after each session and 14 days after the end. The trans- amelodentinal diffusion was measured by an enzymatic method during the first session. In phase 2, new, non-pigmented specimens were prepared according to phase 1 and divided into the same experimental groups. These specimens were evaluated for roughness and microhardness before and after the three bleaching sessions. In phase 3, focused on the physicochemical evaluations of the bleaching gel, the viscosity was measured with a Brookfield DV2T viscometer. The formation of reactive species was measured by the carboxy-H2DCFDA probe, with fluorescence readings at 492 nm excitation and 527 nm emission. Statistical analysis was performed using SigmaPlot 12.0 software, adopting a significance level of 5%. After analyzing the results, the whitening gel at a hot temperature (40°C) led both in aesthetic efficacy and in substrate changes and physical-chemical properties. The whitening gel at a cold temperature (5°C) resulted in less damage, but its aesthetic efficacy presented lower results. Therefore, the whitening gel at room temperature (25°C) showed satisfactory color change and whitening index and, at the same time, intermediate structural damage, being therefore the best option among the groups studied. Therefore, the

different temperatures of whitening gels influence the following aspects: aesthetic efficacy, substrate changes and physical-chemical properties of the tooth structure.

Keywords: Teeth whitening; Hydrogen peroxide; Temperature.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema ilustrativo da análise de difusão trans-amelodentinária de H ₂ O ₂ .	19
Figura 2 – Gráfico de análise da eficácia estética: alteração cromática. Letras maiúsculas comparam os grupos e as letras minúsculas comparam os tempos.	25
Figura 3 – Gráfico de análise da eficácia estética: índice de clareamento. Letras maiúsculas comparam os grupos e as letras minúsculas comparam os tempos.	26
Figura 4 – Gráfico de análise da difusão trans-amelodentinária de H ₂ O ₂ .	27
Figura 5 – Gráfico de análise das alterações do substrato: rugosidade. Letras maiúsculas comparam os grupos e letras minúsculas comparam os tempos.	28
Figura 6 – Gráfico de análise das alterações do substrato: microdureza. Letras maiúsculas comparam os grupos e letras minúsculas comparam os tempos.	29
Figura 7 – Gráfico de análise das propriedades físico-químicas: viscosidade. Letras comparam os grupos.	30
Figura 8 – Gráfico de análise das propriedades físico-químicas: liberação de espécies reativas de oxigênio. Letras maiúsculas comparam os grupos e letras minúsculas comparam os tempos.	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CPA	Câmara Pulpar Artificial
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
GC	Grupo Controle
G5	Grupo com Gel Clareador a 5°C
G25	Grupo com Gel Clareador a 25°C
G40	Grupo com Gel Clareador a 40°C
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
PH	Peróxido de Hidrogênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	14
2.1 Proposição	14
2.2 Materiais e Métodos	14
2.2.1 Eficácia Estética e Difusão de H ₂ O ₂ : análises de alteração cromática (ΔE00), índice de clareamento (ΔWID) e difusão trans-amelodentinária de H ₂ O ₂ .	14
2.2.1.1 Delineamento experimental	14
2.2.1.2 Descrição dos grupos	15
2.2.1.3 Obtenção de amostras	16
2.2.1.4 Pigmentação e padronização das amostras	16
2.2.1.5 Análise da Eficácia Estética (ΔE00 e WID)	17
2.2.1.6 Tratamento clareador	18
2.2.1.7 Análise da Difusão Trans-amelodentinária de PH	18
2.2.2 Alterações do substrato: rugosidade e microdureza superficial	20
2.2.2.1 Obtenção dos espécimes	20
2.2.2.2 Análise de rugosidade	20
2.2.2.3 Análise da microdureza superficial	20
2.2.2.4 Tratamento clareador	21
2.2.3 Propriedades Físico-químicas: análises de viscosidade e quantificação de EROs	21
2.2.3.1 Delineamento experimental	21
2.2.3.2 Análise da Viscosidade	22
2.2.3.3 Quantificação de EROs	23
2.2.4 Análise Estatística	23
3 RESULTADOS	23
3.1 Alteração cromática	23
3.2 Difusão trans-amelodentinária	25
3.3 Alteração de substrato	25
3.4 Análise de propriedades físico-químicas do gel	27
4 DISCUSSÃO	28
5 CONCLUSÃO	32

1 INTRODUÇÃO

O mecanismo de ação dos clareadores dentais consiste em um processo químico no qual o peróxido de hidrogênio e outras espécies reativas de oxigênio (ERO) difundem-se através da estrutura dentária, oxidando os compostos orgânicos que causam o seu escurecimento. Essa reação química permite que os dentes fiquem visualmente mais claros, sem a necessidade de intervenções restauradoras invasivas^{1,2}. Isso torna o clareamento a primeira opção para tratamentos estéticos que objetivam solucionar as alterações cromáticas dentárias. No entanto, efeitos adversos como sensibilidade dentária, alterações estruturais no esmalte, como a redução da microdureza e o aumento da rugosidade superficial têm sido amplamente relatados, podendo ser agravados dependendo da técnica utilizada e das características dos géis clareadores^{3,4,5,6}.

Em razão dos inúmeros relatos de efeitos adversos decorrentes dos tratamentos clareadores, os profissionais muitas vezes enfrentam dúvidas sobre quais produtos e protocolos utilizar⁷⁻¹⁴. Com isso, de forma assertiva, optam por seguir as instruções de uso fornecidas pelos fabricantes, que frequentemente se limitam ao fornecimento de protocolos de aplicação, não oferecendo orientações precisas com relação à temperatura de armazenamento e de emprego dos produtos clareadores.

Sabe-se que o aumento de 10°C na temperatura do gel clareador pode dobrar a taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio¹⁴, sugerindo que o armazenamento inadequado dos produtos poderia afetar a sua formulação inicial, alterando a concentração do princípio ativo responsável pelo efeito clareador¹⁵⁻¹⁸. Outros estudos também enfatizaram que a redução na temperatura do gel clareador pode influenciar a viscosidade e o pH do produto, impactando a eficácia e a segurança do tratamento¹⁸⁻²¹.

No entanto, os géis clareadores dentais estão sujeitos a variações térmicas durante seu uso clínico, que podem influenciar diretamente suas propriedades físico-químicas e eficácia. Condições como variações na temperatura ambiente, armazenamento inadequado (fora das faixas recomendadas pelo fabricante) e a exposição prolongada a fontes de calor — como refletores operatórios ou luzes do fotopolimerizador — podem causar aumento da temperatura do gel^{5,6}. Durante o

procedimento de clareamento, o uso de fontes luminosas externas, como LEDs e lasers¹⁴, também pode contribuir para o aquecimento do material, especialmente se não houver controle adequado da distância e tempo de exposição.

Essas alterações térmicas podem impactar negativamente a estabilidade e o desempenho dos géis clareadores. Especula-se que o aumento da temperatura pode acelerar a decomposição do peróxido de hidrogênio, levando à liberação rápida e descontrolada de radicais livres^{6,7}. Isso pode comprometer a segurança do procedimento, aumentar o potencial de sensibilidade dentária e reduzir a eficácia do clareamento, já que o gel pode perder sua atividade antes de agir adequadamente sobre os pigmentos. Além disso, temperaturas elevadas podem afetar a viscosidade do gel, dificultando sua manipulação clínica e a manutenção do material sobre a superfície dental⁸. Portanto, o controle das condições térmicas é essencial para garantir a eficácia e a segurança do tratamento clareador.

Apesar disso, constata-se que a literatura ainda é bastante escassa sobre este tema, com apenas alguns estudos abordando os possíveis efeitos da temperatura dos géis clareadores na eficácia das técnicas^{14,16,17,19}. A condição ideal de temperatura para a aplicação clínica do gel clareador continua sendo empírica e seus possíveis efeitos na difusão do peróxido de hidrogênio, rugosidade, microdureza, viscosidade e formação de espécies reativas de oxigênio ainda são desconhecidas. Este fato mostra um aspecto importante a ser explorado para garantir o manejo adequado dos agentes clareadores e minimizar potenciais riscos ao tratamento.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Proposição

Desta forma, torna-se plausível uma investigação dirigida especificamente às temperaturas de utilização do gel clareador, objetivando avaliar a influência do uso de géis clareadores em diferentes temperaturas (5°C, 25°C e 40°C) na eficácia estética, alterações do substrato e nas propriedades físico-químicas do gel clareador.

Hipóteses Nulas

1. As diferentes temperaturas de emprego do gel clareador não influenciariam na eficácia estética;
2. As diferentes temperaturas do gel clareador não influenciariam na difusão trans-amelodentinária;
3. As diferentes temperaturas de utilização do gel clareador não influenciariam nas alterações do substrato dental;
4. As diferentes temperaturas não influenciariam nas propriedades físico- químicas do gel clareador;

2.2 Materiais e Métodos

2.2.1 Eficácia Estética e Difusão de H₂O₂: análises de alteração cromática (ΔE_{00}), índice de clareamento (ΔW_{ID}) e difusão trans-amelodentinária de H₂O₂.

2.2.1.1 Delineamento experimental

Descrição dos grupos

O tratamento clareador dividiu-se em 4 níveis:

- a) Controle negativo (sem tratamento);
- b) Gel Clareador a 5°C (frio);
- c) Gel Clareador a 25°C;
- d) Gel Clareador a 40°C (quente).

E o tempo de análise em 5 níveis:

- a) Baseline;
- b) Após 1ª sessão;
- c) Após 2ª sessão;
- d) Após 3ª sessão;
- e) Após 14 dias (controle).

Variável de resposta: alteração cromática, índice de clareamento e difusão trans- amelodentinária de H₂O₂.

2.2.1.2 Descrição dos grupos

As descrições dos grupos de estudo estão presentes no quadro 1:

Quadro 1: Apresentação dos grupos experimentais e suas abreviaturas

GRUPO	DESCRIÇÃO
GC	Não foi realizado tratamento clareador. Os espécimes permaneceram imersos em 2 mL de saliva artificial, com troca da solução a cada 24h.
G5	Os espécimes receberam 0,05 mL do gel clareador Whitniss HP 35%*, a 5°C, reaplicado a cada 15 minutos, totalizando 45 minutos (por sessão).
G25	Os espécimes receberam 0,05 mL do gel clareador Whitniss HP 35%*, em 25°C, reaplicado a cada 15 minutos, totalizando 45 minutos (por sessão).

G40	Os espécimes receberam 0,05 mL do gel clareador Whitnesh HP 35%*, à 40°C, reaplicado a cada 15 minutos, totalizando 45 minutos (por sessão).
-----	--

* Whitnesh HP 35% - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, Santa Catarina, Brasil;

2.2.1.3 Obtenção de amostras

Foram utilizados 60 incisivos bovinos (n=15) de animais abatidos com idade entre 24 e 36 meses. Os dentes foram limpos com curetas periodontais e, em seguida, receberam profilaxia com escova de Robinson e pasta profilática, movidas em baixa rotação. Para evitar a proliferação bacteriana, os dentes limpos permaneceram armazenados em solução fisiológica contendo timol a 0,1% e mantidos em refrigerador em temperatura aproximada a 4°C, até o início da fase experimental. Após a limpeza, as raízes foram separadas da coroa na junção amelo-cementária. Em seguida, obteve-se discos de esmalte/dentina com 5,7mm de diâmetro, a partir do terço médio da face vestibular, com auxílio de uma trefina diamantada de 8 mm de diâmetro (Dinser Diamond Tools Ltda, Sacomã, SP, Brasil), acoplada em uma furadeira de bancada (modelo FGC-16, Ferrari, São Paulo, SP, Brasil), sob constante irrigação. Inicialmente, o polimento da superfície dentinária dos discos decorreu de forma regularizada manualmente, por meio de movimentos giratórios manuais sobre lixas de óxido de alumínio de granulação 600 (T469-SF-Noton, Saint-Gobam Abrasives Ltda, Jundiai, SP, Brasil), até que apresentassem a espessura de 3,5 mm (1,3 mm de esmalte e 2,2 mm de dentina $\pm 0,2$ mm), medidos em paquímetro digital (modelo 500-144B, Mitutoyo Sul América Ltda, SP, Brasil). Para remoção da smear layer, aplicou-se uma solução de EDTA 0.5M, pH 7,2 por 30 segundos, seguido de lavagem com água deionizada.

2.2.1.4 Pigmentação e padronização das amostras

Inicialmente, os discos foram submetidos a uma leitura inicial em espectrofotômetro de Reflexão Ultravioleta Visível*, Modelo UV-2450

(Shimadzu, Kyoto, Japão), que utiliza o sistema de cores CIEL*a*b*, com iluminante D65, velocidade de varredura rápida e modo de medição entre 380 e 780 nm. Obtidos os valores das coordenadas, calculou-se a média de toda a amostragem, sendo selecionados blocos dentais que apresentarem valores de L^* , a^* e b^* mais próximos do valor médio de cada eixo, respeitando a tolerância de 10%. Para realização da leitura, foram confeccionados suportes de silicone preto com o diâmetro (5,7mm) e espessura (3,5mm) para que os discos de esmalte/dentina pudessem se encaixar perfeitamente no suporte, padronizando a posição do espécime e fazendo com que o feixe de luz atinja sempre o mesmo local.

Em seguida, os espécimes foram armazenados em eppendorfs contendo 1mL de infusão de chá preto com pH controlado (neutralização com hidróxido de sódio pH=7.0) à temperatura ambiente. A infusão foi realizada empregando 1,6g de chá preto (Chá Matte Leão, Curitiba, PR, Brasil) para cada 100 mL de água destilada. O processo de pigmentação foi monitorado durante 6 dias, sendo realizada a troca da solução diariamente. Os tubos contendo a solução e os espécimes mantiveram-se em temperatura ambiente durante todo o processo. Concluído o tratamento pigmentante, realizou-se a lixiviação pelo mesmo tempo de pigmentação. Em seguida, uma nova leitura das amostras em espectrofotômetro foi realizada, através de nova análise das coordenadas L^* , a^* e b^* , de forma semelhante à descrita anteriormente. Nesta oportunidade, permaneceram no estudo 60 blocos dentais pigmentados (n=15). As seleções acima descritas objetivam padronizar a cor inicial, bem como a intensidade de pigmentação dos blocos dentários, o que possivelmente padroniza a capacidade clareadora dos espécimes, possibilitando analisar a eficácia dos tratamentos.

2.2.1.5 Análise da Eficácia Estética (ΔE_{00} e W_{ID})

Para a análise de alteração cromática, utilizou-se o CIEDE2000, que oferece uma melhor relação entre os parâmetros de matiz e saturação (coordenadas a^* e b^*), além de considerar as diferenças de luminosidade ΔL^* , saturação ΔC^* e matiz ΔH^* , aproximando-se mais dos limites de percepção do olho humano. Além disso, calcula-se o Índice de Clareamento

(W_{ID}), que determina se a mudança cromática está relacionada diretamente ao efeito clareador.

Com os valores do parâmetro do CIELab anotados, o whiteness index (W_{ID}) e alteração cromática (ΔE_{00}) foram calculados pelas equações:

$$\Delta E_{00} = [(\Delta L^*/K_{LSL})^2 + (\Delta C^*/K_{CS})^2 + (\Delta H^*/K_{SH})^2 + RT^*(\Delta C^*/K_{CS}) * (\Delta H^*/K_{SH})]^{1/2}$$

$$W_{ID} = (0.511 \times L^*) - (2.324 \times a^*) - (1.100 \times b^*)$$

Os espécimes foram analisados 48 horas após cada sessão de consultório, bem como 14 dias após o término do tratamento. As leituras foram realizadas na superfície vestibular dos espécimes, comparando os valores obtidos com a leitura realizada pós-pigmentação.

2.2.1.6 Tratamento clareador

Os espécimes receberam 3 sessões clareadoras, com 7 dias de intervalo, seguindo os protocolos experimentais de cada grupo (Quadro 1). Para tanto, foi utilizado o produto Whiteness HP (FGM Produtos Odontológicos) à base de peróxido de hidrogênio a 35%. O gel foi manipulado manualmente conforme orientações do fabricante (3 gotas de peróxido para 1 gota do aglutinante) e aplicado em um volume padronizado de 0,05 mL com pipeta específica para líquidos viscosos (Microman E, Gilson Inc. Middleton WI, EUA). O tempo de permanência seguiu o determinado para cada grupo experimental.

2.2.1.7 Análise da Difusão Trans-amelodentinária de PH

Esta análise ocorreu durante a primeira sessão clareadora. Para tanto, os discos foram adaptados em câmaras pulpares artificiais (CPA), compostas de 2 compartimentos: o da porção superior apresenta uma abertura de 8 mm de diâmetro e outra abaixo com 6 mm de abertura, permitindo o posicionamento e travamento adequado do espécime; a porção inferior apresenta perfurações laterais que permitem a circulação da solução utilizada para quantificar o peróxido penetrado no espécime. Os espécimes

foram posicionados nas CPAs entre dois anéis de silicone com diâmetro interno de 4,47 mm e espessura de 1,78 mm (Rodimar Rolamentos Ltda, Araraquara, SP, Brasil). Em seguida, realizou-se um vedamento adicional com cera rosa fundida no 7 (Wilson®, Polidental, Cotia, SP, Brasil).

Com as CPAs montadas, os tratamentos clareadores foram realizados, de acordo com a descrição cada grupo de estudo e conforme o quadro descrito no item 2.1.2. Para quantificar o PH que penetra através dos discos de esmalte e dentina, 1 mL de solução tampão de acetato foi depositada em casulos de placas de cultura celular de 24 poços que, posteriormente, também recebeu as CPAs. A superfície dentinária dos espécimes permanece em contato com essa solução e o peróxido de hidrogênio difundido através da estrutura dental faz parte da mesma. Após o clareamento, adicionou-se a solução de corante violeta leucocristal (Sigma Aldrich, San Luis, Missouri, EUA) e a solução contendo enzima peroxidase (Sigma Aldrich, San Luis, Missouri, EUA). Este método foi preconizado por Mottola et al²³ e baseia-se na reação do PH e violeta leucocristal, catalisado pela enzima peroxidase. A coloração dessa mistura varia sua intensidade de acordo com a quantidade de peróxido. Assim, como a absorbância é proporcional à concentração do peróxido, torna possível avaliar indiretamente a quantidade de peróxido que difundiu da superfície dental para a solução contida na CPA. A leitura da solução foi realizada com o Espectrofotômetro de Reflexão Ultravioleta Visível*, Modelo UV-2450 (Shimadzu, Kyoto, Japão), 30 minutos após o término da sessão clareadora. Os valores obtidos das leituras das soluções de concentração conhecidas e das obtidas das placas acrílicas após o clareamento permite criar um gráfico de absorbância X concentração, o qual foi utilizado para a determinação de difusão do peróxido.

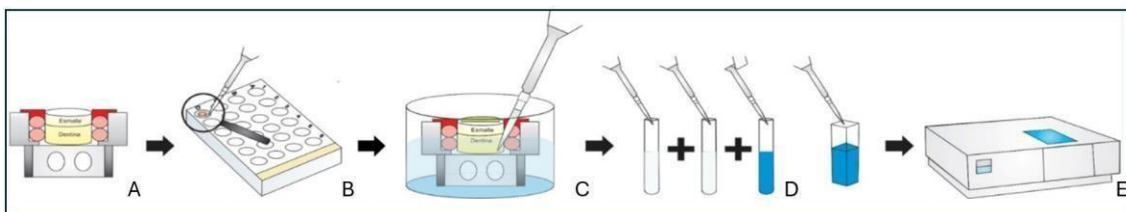


Figura 1 – Esquema ilustrativo da análise de difusão trans-amelodentinária de H_2O_2 . A: montagem dos discos em CPAs; B: Posicionamento das CPAs em placas de cultura, contendo a solução tampão; C: realização da coleta da amostra após o procedimento clareador; D: incorporação da alíquota nas soluções de enzima peroxidase e leucocristal; E: análise em espectrofotômetro de reflexão de luz ultravioleta/visível (Ultraviolet Visible Model UV-2450; Shimadzu).

2.2.2 Alterações do substrato: rugosidade e microdureza superficial

2.2.2.1 Obtenção dos espécimes

Novos espécimes foram obtidos conforme o item 2.2.1.3 (n=15). Em seguida, o aplainamento e polimento da superfície do esmalte foi realizado em politriz, empregando discos abrasivos nas granulações 600 e 800 por 2 minutos e 1200 por 4 minutos, em baixa velocidade e sob refrigeração a água. O polimento final ocorreu com discos de feltro umedecidos em pasta diamantada de $1\mu m$, durante 2 minutos.

2.2.2.2 Análise de rugosidade

A rugosidade da superfície foi medida com um perfilômetro (modelo SJ- 401, Mitutoyo, Kawasaki, Japão), calibrado previamente às leituras. Cada corpo de prova foi fixado individualmente em um aparato de fixação e a agulha do medidor posicionada na superfície do corpo de prova. Para registrar as medidas de rugosidade, a agulha move-se a uma velocidade constante de $0,05\text{ mm/seg}$ com uma força de $0,7\text{ mN}$. Os valores de corte foram fixados em $0,25\text{ mm}$ e a rugosidade superficial foi caracterizada pelos valores de $Ra/\mu m$. Assim, três leituras foram realizadas e a média calculada no tempo inicial (baseline) e ao final das três sessões clareadoras.

2.2.2.3 Análise da microdureza superficial

A microdureza do esmalte foi verificada em microdurômetro (HMV-2000 SHIMADZU, Maryland, USA), com penetrador tipo Knoop, que atua com carga estática de 25 gramas por 5 segundos. Foram realizadas 03 indentações com distância de 100µm entre elas. Os dados foram obtidos inicialmente (baseline) e ao final das três sessões clareadoras.

2.2.2.4 Tratamento clareador

O tratamento clareador foi realizado conforme descrito no item 2.2.1.6.

2.2.3 Propriedades Físico-químicas: análises de viscosidade e quantificação de EROs

2.2.3.1 Delineamento experimental

Descrição dos grupos

O tratamento clareador foi dividido em 3 níveis:

- a) Gel Clareador a 5°C;
- b) Gel Clareador a 25°C;
- c) Gel Clareador a 40°C.

Variável de resposta: viscosidade e quantificação de EROs.

2.2.3.2 Análise da Viscosidade

Para aferição da viscosidade, foi utilizado um viscosímetro Brookfield DV2T (Laboratórios de Engenharia Brookfield Inc., Middleborough, MA, EUA), com sistema Helipath (Helipath Stand, Laboratórios de Engenharia Brookfield Inc., Middleborough, MA, EUA) e haste em forma de “T” de número 96, com um volume de gel padronizado em 2mL.

Quanto ao funcionamento do aparelho, por meio do sistema Helipath,

uma haste em forma de “T” gira dentro do gel em movimento helicoidal cíclico. Esse sistema desloca a haste 25mm no sentido vertical dentro do gel, mantendo uma distância de 5mm tanto da superfície como da base. O aparelho foi programado para realizar uma rotação na velocidade de 0,5 rpm. Essa rotação gera a força necessária para vencer a resistência inerente da viscosidade que o material em estudo oferece ao movimento rotacional. O aparelho é capaz de detectar o torque do motor para manter essa velocidade, convertendo então esses valores em unidades de mensuração da viscosidade (centipoise - cP). O equipamento foi programado para iniciar a leitura após 2 min de teste, quando ocorre uma maior estabilização do valor. A haste, após 4 min de leitura, completa 6 vezes o ciclo vertical do Helipath, sendo realizadas 240 leituras em intervalos de 1s. A viscosidade utilizada foi a média destas leituras.

2.2.3.3 Quantificação de EROs

Alíquotas de cada grupo experimental foram individualmente posicionadas no fundo de compartimentos de uma placa esterilizada de 96 compartimentos (KASVI Imp.). Para quantificar o total de RLs produzidos, os compartimentos foram recobertos com uma alíquota de 20 μ L do gel clareador. As alíquotas de gel clareador foram avaliadas em T0 e T3 com 100 μ L da sonda carboxy- H2DCFDA (Invitrogen, San Francisco, CA, EUA), usada para detectar a geração de intermediários reativos de oxigênio, na concentração de 1 mM na proporção 1:1 (carboxy-H2DCFDA /Solução salina tamponada com fosfato). A intensidade de fluorescência foi avaliada a 492 nm de excitação e 527 nm de emissão (Synergy H1, Biotek, Winooski, VT, EUA).

2.2.4 Análise Estatística

Após a tabulação dos dados, foi realizada análise descritiva e exploratória, verificando-se a normalidade e a homogeneidade dos dados. Utilizou-se Anova dois fatores, com medidas repetidas para as análises de alteração cromática e sensibilidade. Todas as análises estatísticas foram

conduzidas com o auxílio do software SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA), adotando-se o nível de significância a 5%.

3.0 Resultados

3.1 Alteração cromática

Com relação aos dados de alteração cromática, observou-se que, após a 1ª sessão de clareamento, o grupo a 40°C apresentou a maior alteração cromática, seguido pelo grupo a 25°C e, por último, o grupo a 5°C. Esse padrão se manteve após a 2ª e 3ª sessões, bem como na fase controle: grupo 40° > 25° > 5°.

No comparativo entre os tempos dentro de cada grupo, o grupo 40° teve sua maior alteração cromática após a 3ª sessão, seguido da fase controle, 2ª e 1ª sessões. O grupo 25° também apresentou maior alteração após a 3ª sessão, com valores semelhantes entre a 2ª sessão e a fase controle, sendo a menor alteração registrada após a 1ª sessão. O grupo 5° seguiu a mesma ordem: maior alteração após a 3ª sessão, resultados equivalentes entre a 2ª sessão e a fase controle, e menor alteração após a 1ª sessão. O grupo controle, como esperado, manteve valores constantes de alteração cromática ao longo do tempo.

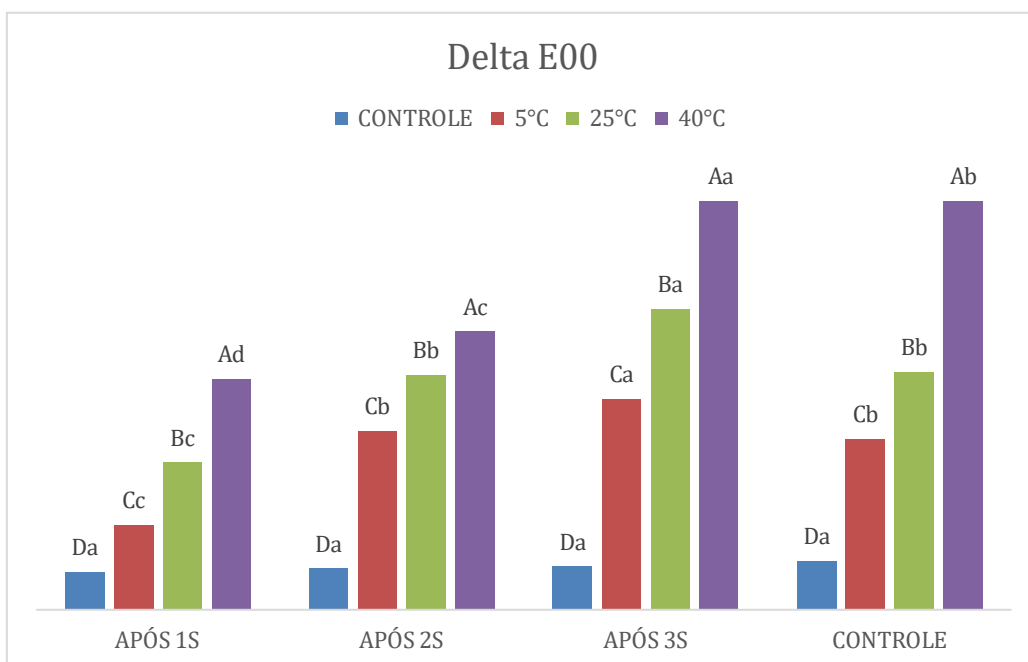


Figura 2 – Gráfico de análise da eficácia estética: alteração cromática. Letras maiúsculas comparam os grupos e as letras minúsculas comparam os tempos.

Com relação ao índice de clareamento, após a 1ª sessão, o grupo a 40°C apresentou o maior índice de clareamento, seguido pelo grupo a 25°C e, por último, o grupo a 5°C. Esse padrão se manteve após a 2ª e 3ª sessões, bem como no tempo controle: grupo 40° > 25° > 5°.

Ao analisar a evolução dos resultados ao longo do tempo, o grupo 40° obteve seu maior índice de clareamento após a 3ª sessão, seguido da fase controle, 2ª e 1ª sessões. O grupo 25° também apresentou maior índice após a 3ª sessão, seguido da fase controle, 2ª e 1ª sessões. Já o grupo 5° apresentou maior índice de clareamento após a 3ª sessão, com valores semelhantes entre a 2ª sessão, fase controle e 1ª sessão. O grupo controle manteve valores constantes ao longo dos diferentes tempos avaliados.

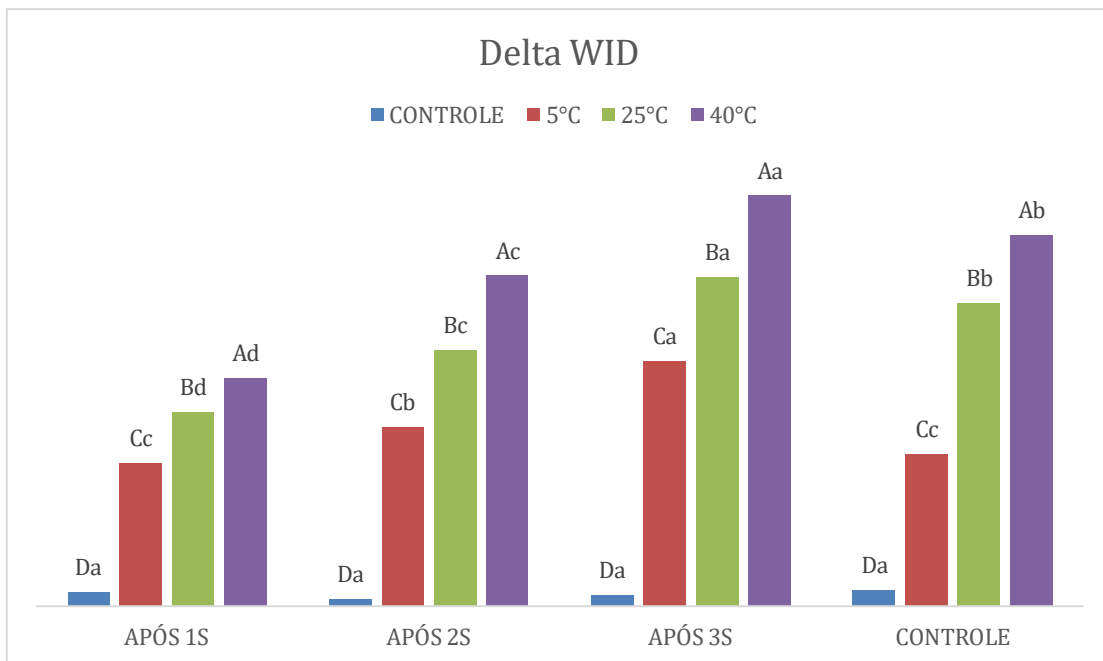


Figura 3 – Gráfico de análise da eficácia estética: índice de clareamento. Letras maiúsculas comparam os grupos e as letras minúsculas comparam os tempos.

3.2 Difusão trans-amelodentinária

Em relação à difusão trans-amelodentinária de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o grupo a 40°C apresentou os maiores níveis de absorção, seguido pelo grupo a 25°C e, por último, pelo grupo a 5°C.

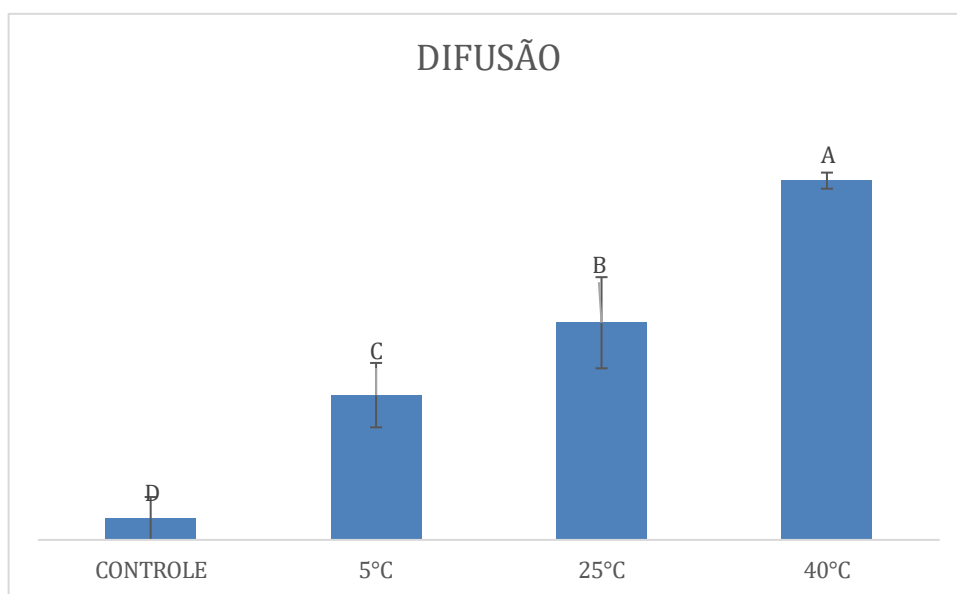


Figura 4 – Gráfico de análise da difusão trans-amelodentinária de H_2O_2 .

3.3 Alteração de substrato

Em relação às alterações do substrato, todos os grupos experimentais apresentaram aumento na rugosidade após o clareamento, exceto o grupo controle, que não mostrou diferença estatística. O maior aumento de rugosidade foi observado no grupo a 40°C, seguido pelos grupos a 25°C e a 5°C, respectivamente.

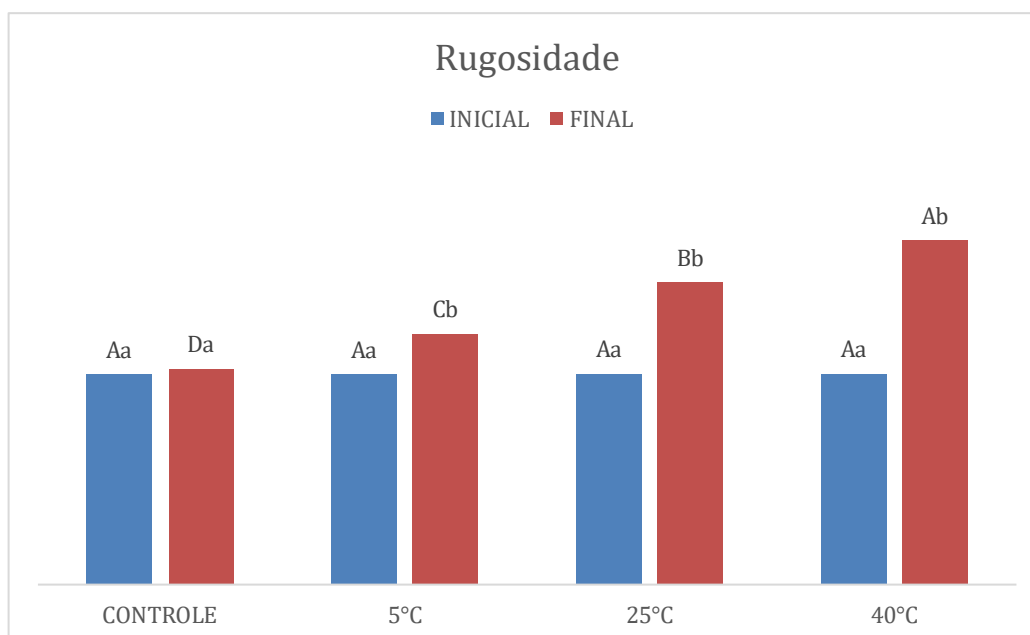


Figura 5 – Gráfico de análise das alterações do substrato: rugosidade. Letras maiúsculas comparam os grupos e letras minúsculas comparam os tempos.

Em relação à microdureza, todos os grupos clareados apresentaram redução na microdureza final em comparação à inicial, exceto o grupo controle, que não mostrou diferença estatística. O menor impacto foi observado no grupo a 5°C, seguido pelo grupo a 25°C, enquanto o grupo a 40°C apresentou a maior redução de microdureza.

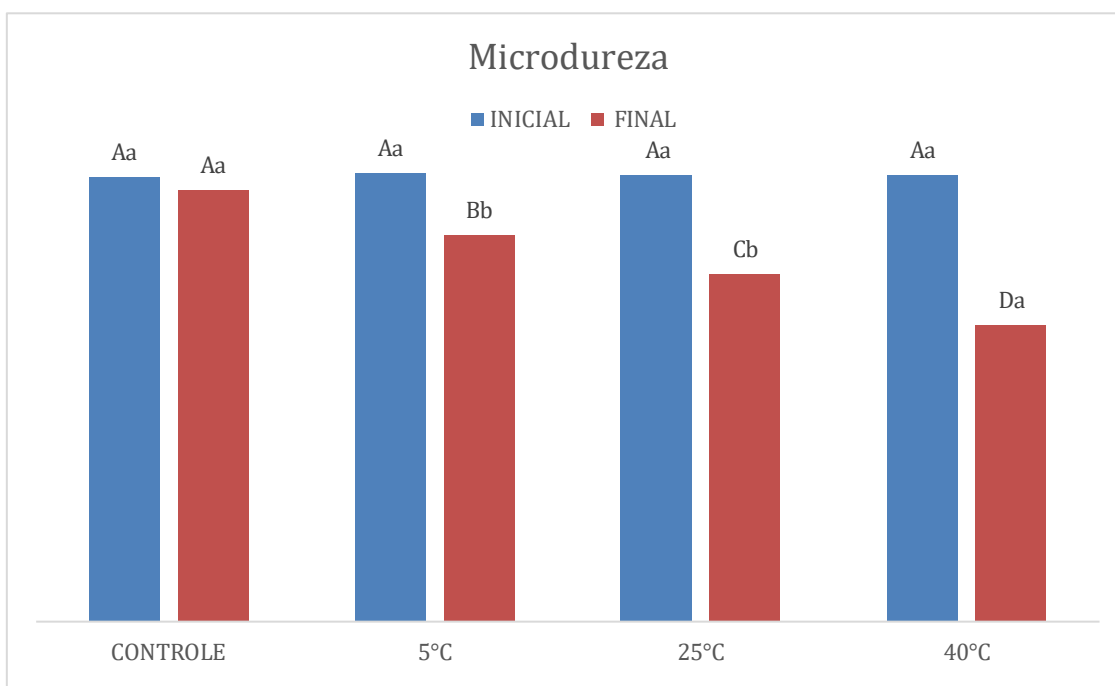


Figura 6 – Gráfico de análise das alterações do substrato: microdureza. Letras maiúsculas comparam os grupos e letras minúsculas comparam os tempos.

3.4 Análise de propriedades físico-químicas do gel

Na análise das propriedades físico-químicas, o grupo a 5°C apresentou a maior viscosidade, seguido pelo grupo a 25°C. O grupo a 40°C demonstrou a menor viscosidade, sendo, portanto, o mais fluido entre os avaliados.

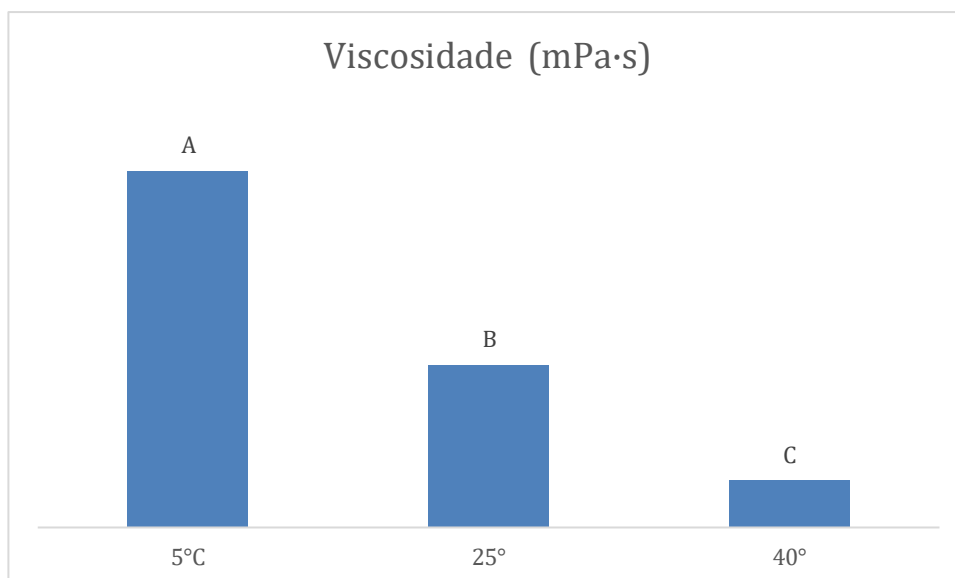


Figura 7 – Gráfico de análise das propriedades físico-químicas: viscosidade. Letras comparam os grupos.

Com relação às espécies reativas de oxigênio, logo após a aplicação do gel clareador, o grupo a 40°C apresentou a maior produção de EROs, seguido pelos grupos a 25°C e a 5°C, respectivamente.

A produção de EROs no grupo a 40°C ocorreu de forma progressiva ao longo do tempo (0, 15, 30 e 45 minutos), com pico de produção aos 45 minutos. O grupo a 25°C também apresentou aumento gradual na liberação de radicais livres. Já o grupo a 5°C mostrou os menores valores em todos os tempos, sem diferença significativa entre o tempo imediato e 15 minutos, mas com liberação aumentada aos 45 minutos.

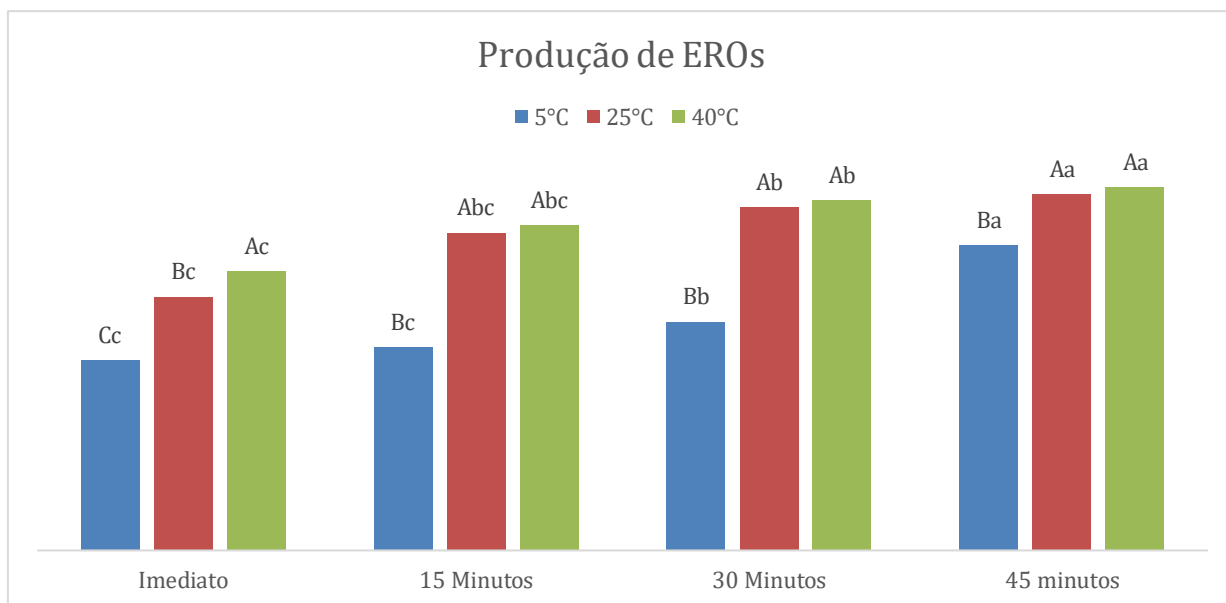


Figura 8 – Gráfico de análise das propriedades físico-químicas: liberação de espécies reativas de oxigênio. Letras maiúsculas comparam os grupos e letras minúsculas comparam os tempos.

4.0 Discussão

Ao avaliar os resultados obtidos diante de cada análise, observou-se que, em relação à eficácia estética, a alteração cromática e índice de clareamento do grupo do gel clareador a 40°C obteve maior sucesso, seguido do grupo a 25°C e, então, o grupo de 5°C. Aumentar significativamente a temperatura do agente clareador, aumenta a eficácia clareadora e reduz a quantidade de sessões necessárias para clarear a tonalidade dos dentes¹⁴, equivalente aos resultados encontrados.

Este fato pode ser justificado, uma vez que o aumento da temperatura potencializa a decomposição do peróxido de hidrogênio, acelerando a liberação de radicais livres responsáveis pela oxidação dos pigmentos orgânicos presentes na estrutura dental¹⁴. Além disso, o calor pode reduzir a viscosidade do gel, favorecendo maior difusão do agente clareador na matriz interprismática do esmalte, o que intensifica sua ação clareadora em menor intervalo de tempo¹⁴.

Por outro lado, os menores valores de clareamento foram observados

no grupo submetido ao gel a 5°C, sugerindo uma redução na eficácia do tratamento em temperaturas mais baixas. Essa menor performance pode estar relacionada à diminuição da taxa de reação química do peróxido de hidrogênio em ambientes frios, o que retarda a liberação dos radicais oxidantes¹⁹. Além disso, a maior viscosidade do gel em temperaturas mais baixas pode comprometer sua penetração nos túbulos dentinários, reduzindo a profundidade de ação e, conseqüentemente, a efetividade do clareamento¹⁸. Portanto, a primeira hipótese nula foi negada.

Outra possibilidade de análise dos dados do índice de clareamento envolve a comparação com os valores de perceptibilidade (0,72) e aceitabilidade (2,62)²⁸. Essa abordagem permite avaliar não apenas se houve diferença estatística entre os grupos, mas também se essas diferenças seriam clinicamente perceptíveis e/ou aceitáveis. Assim, ao comparar os grupos submetidos a diferentes temperaturas (40 °C, 25 °C e 5 °C), observou-se que todas as diferenças nos índices de clareamento foram perceptíveis, considerando o valor de perceptibilidade de 0,72. Na comparação entre 40 °C e 25 °C, embora a diferença tenha sido perceptível, ela se manteve abaixo do limite de aceitabilidade (2,62), sendo considerada clinicamente aceitável. Entre os grupos 40 °C e 5 °C, a primeira sessão apresentou diferença abaixo do limite de aceitabilidade, mas nas sessões subsequentes e no tempo controle, a diferença ultrapassou esse limite, sendo considerada clinicamente inaceitável. Já na comparação entre 25 °C e 5 °C, todas as diferenças foram perceptíveis, porém permaneceram dentro dos limites de aceitabilidade, indicando que, embora detectáveis, as alterações na cor ainda seriam consideradas clinicamente aceitáveis. Esses resultados sugerem que a temperatura influencia significativamente a eficácia do clareamento, especialmente quando há maior diferença térmica entre os grupos.

Com relação à análise da difusão trans-amelodentinária, esta revelou que o grupo tratado com gel clareador a 40°C apresentou a maior taxa de difusão para os agentes clareadores, o que pode ser atribuído à maior mobilidade molecular promovida pelo aumento da temperatura. A elevação da temperatura acelera o processo de degradação do peróxido de hidrogênio, resultando em maior disponibilidade de radicais livres que

conseguem penetrar com maior eficiência tanto no esmalte quanto na dentina subjacente²⁷. A maior fluidez do gel em temperaturas elevadas também favorece uma melhor distribuição e penetração nos canais dentinários, permitindo uma ação mais eficaz do agente clareador nas camadas mais profundas do dente²⁵.

Por outro lado, o grupo submetido ao gel a 5°C apresentou os menores índices de difusão trans-amelodentinária, o que pode ser explicado pela redução da mobilidade das moléculas de peróxido de hidrogênio em temperaturas mais baixas. A viscosidade aumentada do gel a 5°C pode dificultar sua penetração nos túbulos dentinários, resultando em uma ação mais superficial e limitada no tratamento do dente¹⁸. Além disso, a menor taxa de reação química do peróxido de hidrogênio em temperaturas baixas também compromete a quantidade de radicais livres disponíveis para a oxidação dos pigmentos dentais, diminuindo a eficácia do clareamento e a profundidade da difusão nos tecidos dentais¹⁸. Sendo assim, a segunda hipótese nula foi negada

Outra análise deste estudo foi a variação promovida pelos géis de diferentes temperaturas no substrato dental. A análise da rugosidade do substrato demonstrou um aumento significativo nos grupos tratados com gel clareador a 40°C, o que pode ser atribuído à maior atividade do peróxido de hidrogênio em temperaturas elevadas. O calor acelera a decomposição do agente clareador, gerando radicais livres mais agressivos que podem interagir de forma mais intensa com a estrutura do esmalte dental, promovendo uma degradação superficial²⁶. Essa degradação, embora eficaz no clareamento, pode resultar em um aumento da rugosidade da superfície dentária, uma vez que a remoção de pigmentos e a quebra de ligações químicas podem deixar a estrutura do esmalte mais exposta e suscetível a abrasões e desgastes, aumentando a rugosidade superficial²⁴.

Por outro lado, a aplicação do gel a 5°C resultou em uma redução significativa na microdureza do substrato, sugerindo que o gel frio pode ter um efeito mais suave sobre a estrutura dental. A menor atividade do peróxido de hidrogênio em temperaturas baixas reduz a intensidade das reações químicas no esmalte, limitando a degradação da superfície e, consequentemente, a perda de dureza²⁷. Esse efeito pode ser vantajoso em termos de preservação da integridade estrutural do esmalte, mas, ao mesmo

tempo, pode comprometer a eficácia do clareamento, pois a menor interação do agente clareador com a estrutura dental reduz o impacto do tratamento sobre os pigmentos dentários. Portanto, enquanto o gel quente promove um clareamento mais eficaz, ele pode resultar em alterações mais evidentes na integridade superficial do esmalte, enquanto o gel frio oferece uma abordagem mais conservadora, mas menos eficiente em termos de clareamento, indicando a necessidade de um equilíbrio entre efeito clareador e danos estruturais, encontrados no grupo 25°C.

Ainda, o peróxido de hidrogênio é um agente oxidante instável quando armazenado em altas temperaturas, tornando o pH mais ácido e potencializando o efeito desmineralizante no esmalte²⁷, o qual pode afetar rugosidade superficial linear, microdureza e morfologia da superfície⁹. Nega-se, então, a terceira hipótese nula.

Com relação à viscosidade, os resultados indicaram que o gel clareador a 5°C apresentou maior viscosidade, o que pode ser explicado pela menor mobilidade das moléculas do gel em temperaturas mais baixas. A maior viscosidade implica uma menor fluidez, o que pode limitar a capacidade de penetração do agente clareador nas camadas mais profundas do esmalte e dentina²⁵. Em contraste, o gel aquecido a 40°C exibiu uma fluidez significativamente maior, o que facilita a dispersão do agente clareador e sua interação com a superfície dental. Essa diferença na viscosidade entre os grupos sugere que a temperatura do gel tem impacto direto nas propriedades físico-químicas que influenciam a eficácia do tratamento clareador, com o gel quente permitindo uma aplicação mais uniforme e eficiente¹⁸.

Em relação à liberação de EROs (espécies reativas de oxigênio), o gel a 40°C demonstrou maior liberação imediata de radicais livres, o que é consistente com a maior taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio em temperaturas elevadas. No entanto, a partir de 15 minutos, observou-se que a liberação de EROs do gel a 40°C se igualou ao gel em temperatura 25°C, e essa tendência foi mantida até o final de 45 minutos. Isso sugere que, embora o gel quente inicie o processo de clareamento de forma mais intensa, a eficiência de liberação de EROs estabiliza-se com o tempo, alcançando um nível semelhante ao do gel em temperatura 25°C²³. Assim, a quarta hipótese nula foi negada. Portanto, os resultados

demonstraram que a temperatura do gel clareador desempenha um papel crucial na eficácia do clareamento dental. O gel a 40°C foi superior em termos de alteração cromática e difusão trans-amelodentinária, evidenciando que o aumento da temperatura acelera tanto a liberação de radicais livres quanto a penetração do agente clareador nas camadas mais profundas do dente. Este efeito foi acompanhado de um aumento na rugosidade superficial, o que pode ser atribuído à degradação mais intensa da estrutura do esmalte devido à maior atividade química do peróxido de hidrogênio. Em contraste, o gel a 5°C apresentou uma menor eficácia clareadora e difusão, mas teve um efeito mais suave na preservação da microdureza do esmalte, evidenciado pela redução significativa da rugosidade e a manutenção de uma maior dureza superficial, o que pode ser vantajoso para a integridade estrutural do dente.

Além disso, as propriedades físico-químicas dos geles também influenciaram a viscosidade e a liberação de EROs. O gel a 5°C foi o mais viscoso, o que limitou sua penetração no esmalte e reduziu a eficácia do clareamento, além de resultar em uma menor liberação de EROs ao longo do tempo. Já o gel a 40°C, com sua maior fluidez, possibilitou uma melhor distribuição e maior liberação de radicais livres, o que potencializou a ação clareadora, embora tenha impactado negativamente na rugosidade do substrato. Assim, o gel a temperatura ambiente apresentou um equilíbrio entre eficácia e preservação da integridade do esmalte, oferecendo um clareamento eficaz sem promover alterações tão drásticas na microdureza ou rugosidade. Esses dados sugerem que, embora o gel quente proporcione melhores resultados em termos de clareamento e difusão, a escolha da temperatura do gel deve ser cuidadosamente balanceada com a preservação da saúde estrutural dental.

Embora os resultados deste estudo forneçam importantes informações sobre a influência da temperatura do gel clareador em diferentes parâmetros, algumas limitações devem ser consideradas. Primeiramente, o estudo foi conduzido em um modelo *in vitro*, o que pode não refletir totalmente as condições clínicas reais, onde fatores como a saliva, a temperatura corporal e a interação com outros materiais odontológicos podem alterar os resultados. Além disso, os espécimes foram padronizados quanto à presença de esmalte e dentina, e é sabido que os dentes

apresentam variações naturais de espessura, o que pode resultar em respostas diferentes ao mesmo tratamento ^{29,30}. Ainda, a análise foi limitada ao uso de um único gel clareador, e a inclusão de diferentes formulações de gel poderia proporcionar uma visão mais ampla sobre o desempenho dos produtos. Desta forma, sugere-se para estudos futuros, investigações clínicas para avaliar o impacto dos resultados in vitro em pacientes, além de explorar o efeito a longo prazo do clareamento com diferentes temperaturas, considerando possíveis alterações na microestrutura dental ao longo do tempo. Outro ponto relevante seria avaliar a interação do gel clareador com diferentes tipos de esmalte dental e a influência de outros fatores, como o pH e o tempo de exposição, para otimizar ainda mais os protocolos de clareamento.

4 CONCLUSÃO

Em síntese, a temperatura do gel clareador exerce um impacto considerável tanto na eficácia do clareamento dental quanto nas propriedades físico-químicas do esmalte. O gel clareador a temperaturas mais elevadas demonstrou melhores resultados estéticos, porém, com maiores danos ao substrato dental e às propriedades físico-químicas. Por outro lado, o gel a temperaturas mais baixas resultou em danos menores, mas apresentou uma eficácia clareadora reduzida, com menores índices de alteração cromática e clareamento. Dessa forma, o gel clareador a temperatura 25°C demonstrou melhor desempenho, equilibrando eficácia estética eficiente com danos estruturais intermediários.

REFERÊNCIAS

1. Pereira R, Silveira J, Dias S, Cardoso A, Mata A, Marques D. Bleaching efficacy and quality of life of different bleaching techniques - randomized controlled trial. Clin Oral Investig. 2022 Dec;26(12):7167-7177. doi: 10.1007/s00784-022-04678-5. Epub 2022 Aug 17. PMID: 35976497; PMCID: PMC9383653.
2. Ryskina EA, Magsumova OA, Postnikov MA, Lobaeva TA, Ahmedzhanov BB, Shishparenok AN, Zhdanov DD. Effect of the Teeth Whitening Procedure on the Mineral Composition of Oral Fluid. Dent J (Basel). 2023 Dec 29;12(1):9. doi: 10.3390/dj12010009. PMID: 38248217; PMCID: PMC10814888.
3. Roderjan DA, Stanislawczuk R, Hebling J, Costa CA, Reis A, Loguercio AD. Response of human pulps to different in-office bleaching techniques: preliminary findings. Braz Dent J. 2015 May-Jun;26(3):242-8. doi: 10.1590/0103-6440201302282. PMID: 26200147.
4. Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. Clin Oral Investig. 2010 Feb;14(1):1-10. doi: 10.1007/s00784-009-0302-4. Epub 2009 Jun 20. PMID: 19543926.
5. Bistey T, Nagy IP, Simó A, Hegedus C. In vitro FT-IR study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel. J Dent. 2007 Apr;35(4):325-30. doi: 10.1016/j.jdent.2006.10.004. Epub 2006 Nov 20. PMID: 17116354.
6. Carey C. M. (2014). Tooth whitening: what we now know. *The journal of evidence-based dental practice*, 14 Suppl, 70–76.
7. Barbosa DC. Comparative study of tooth whitening techniques in office and supervised at home in vital teeth: a literature review. Rev. Odontol. Univ. 2015 7(3):244-452.
8. Yusof EM, Abdullah SA, Mohamed NH. Influence of light and laser activation of tooth bleaching systems on enamel microhardness and surface roughness. J Conserv Dent. 2020 Sep-Oct;23(5):473-478. doi: 10.4103/JCD.JCD_509_20. Epub 2021 Feb 10. PMID: 33911356; PMCID: PMC8066663.
9. Wijetunga CL, Otsuki M, Abdou A, Luong MN, Qi F, Tagami J. The effect of

- in-office bleaching materials with different pH on the surface topography of bovine enamel. *Dent Mater J.* 2021 Dec 1;40(6):1345-1351. doi: 10.4012/dmj.2021-010. Epub 2021 Jul 7. PMID: 34234048.
10. Vilhena, K. F. B. et al. Dental enamel bleached for a prolonged and excessive time: Morphological changes. *PLoS One*, v. 14, n. 4, p. e0214948, 2019.
 11. 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 Feb 1;12(2):e116-e122. doi: 10.4317/jced.56006. PMID: 32071692; PMCID: PMC7018475.
 12. Kwon SR, Oyoyo U, Li Y. Effect of light activation on tooth whitening efficacy and hydrogen peroxide penetration: an in vitro study. *J Dent.* 2013 Aug;41 Suppl 3:e39-45. doi: 10.1016/j.jdent.2012.12.003. Epub 2012 Dec 20. PMID: 23261814.
 13. Mondelli, R. F. L.; Soares, A.F.; Pangrazio, E.G.K.; Wang, L.; Ishikiriama, S.K.; Bombonatti, J.F.S.. Evaluation of temperature increase during in-office bleaching. *Journal of Applied Oral Science*, v. 24, n. 2, p. 136–141, 2016.
 14. Davidi MP, Hadad A, Weiss EI, Domb A, Mizrahi B, Sterer N. The effect of a mild increase in temperature on tooth bleaching. *Quintessence Int.* 2008 Oct;39(9):771-5. PMID: 19093051.
 15. Kwon SR, Oyoyo U, Li Y. Effect of light activation on tooth whitening efficacy and hydrogen peroxide penetration: an in vitro study. *J Dent.* 2013 Aug;41 Suppl 3:e39-45. doi: 10.1016/j.jdent.2012.12.003. Epub 2012 Dec 20. PMID: 23261814.
 16. Hortkoff, D., Bittencourt, B. F., Nadal, J. M., Gomes, O. M., Rezende, M., & de Almeida Farhat, P. B. (2019). Clinical Study of Bleaching Gel Storage Temperature on Tooth Color and Sensitivity. *Operative dentistry*, 44(5), 459–468.
 17. Chisini LA, Conde MCM, Meireles SS, Dantas RVF, Sarmiento HR, Della Bona Á, Corrêa MB, Demarco FF. Effect of temperature and storage time on dental bleaching effectiveness. *J Esthet Restor Dent.* 2019.Jan;31(1):93-97. doi: 10.1111/jerd.12439. Epub 2018 Oct 31. PMID: 30379397.
 18. Torres, C., Moecke, S. E., Mafetano, A., Cornélio, L. F., Di Nicoló, R., & Borgesd, A. B. (2022). Influence of Viscosity and Thickener on the Effects of Bleaching Gels. *Operative dentistry*, 47(3), E119–E130.
 19. Freire A, Archegas LR, de Souza EM, Vieira S. Effect of storage temperature on pH of in-office and at-home dental bleaching agents. *Acta Odontol Latinoam.* 2009;22(1):27-31. PMID: 19601493.
 20. Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products.

- J Can Dent Assoc. 2000 Sep;66(8):421-6. PMID: 11040525.
21. Ito Y, Otsuki M, Tagami J. Effect of pH conditioners on tooth bleaching. Clin Exp Dent Res. 2019 Feb 19;5(3):212-218. doi: 10.1002/cre2.172. PMID: 31249701; PMCID: PMC6585585.
 22. Silva L, Cintra L, de Oliveira Gallinari M, de Alcântara S, Dos Santos PH, Chaves Neto AH, Briso A. Influence of Different Dye Substances on the Effectiveness of Bleaching and H₂O₂ Diffusion. Oper Dent. 2022 Nov 1;47(6):648-657. doi: 10.2341/21-021-L. PMID: 36251542.
 23. Mottola HA, Simpson BE & Gorin G (1970) Absorptiometric determination of hydrogen peroxide in submicrogram amounts with leuco crystal violet and peroxidase as catalyst Anal. Chem. 43(3) 410-411, 10.1021/ac60285a017
 24. Azrak B, Callaway A, Kurth P, Willershausen B. Influence of bleaching agents on surface roughness of sound or eroded dental enamel specimens. J Esthet Restor Dent. 2010 Dec;22(6):391-9. doi: 10.1111/j.1708-8240.2010.00372.x. PMID: 21126294.
 25. Kwon SR, Pallavi F, Shi Y, Oyoyo U, Mohraz A, Li Y. Effect of Bleaching Gel Viscosity on Tooth Whitening Efficacy and Pulp Chamber Penetration: An In Vitro Study. Oper Dent. 2018 May/Jun;43(3):326-334. doi: 10.2341/17-099-L. PMID: 29676980.
 26. Fu B, Hoth-Hannig W, Hannig M. Effects of dental bleaching on micro- and nano-morphological alterations of the enamel surface. Am J Dent. 2007 Feb;20(1):35-40. PMID: 17380806.
 27. Sobral-Souza DF, Gouveia THN, Ortiz MIG, Condeles AL, Junior JCT, Franz-Montan M, Aguiar FHB, Lima DANL. Altered physical-chemical properties of home bleaching gels after an accelerated stability study and their effects on tooth enamel. Clin Oral Investig. 2022 Dec;26(12):7229- 7242. doi: 10.1007/s00784-022-04683-8. Epub 2022 Aug 24. PMID: 35999386.
 28. Perez MM, Herrera LJ, Carrillo F. Whiteness difference thresholds in dentistry. Dental Materials 2019;35 292–297
 29. Esteves LMB, Cintra LTÂ, de Souza Santos AM, Milaré Seicento Aida K, de Souza Costa CA, Dos Santos PH, Fraga Briso AL. Anatomical characteristics of different tooth groups. Effect on in-office bleaching treatment. Int J Esthet Dent. 2024 Aug 2;19(3):268-280. PMID: 39092820.
 30. Esteves LMB, Souza-Costa CA, Honma CM, Aida KMS, Fagundes TC, Briso ALF. Clinical evaluation of different types of teeth in in-office whitening. Quintessence Int. 2024 Dec 11;55(10):804-812. doi: 10.3290/j.qi.b5754879. PMID: 39302115.