



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA INTEGRADA

BÁRBARA GRECCO DE LIMA

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA INFLUÊNCIA DO ASCORBATO
DE SÓDIO NA ESTRUTURA DENTÁRIA APÓS O CLAREAMENTO
EXTERNO COM H₂O₂ 37,5% - ESTUDO *IN VITRO***

MARINGÁ

2018

BÁRBARA GRECCO DE LIMA

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA INFLUÊNCIA DO ASCORBATO DE SÓDIO NA
ESTRUTURA DENTÁRIA APÓS O CLAREAMENTO EXTERNO COM H₂O₂ 37,5% -
ESTUDO *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Integrada, da Universidade Estadual de Maringá, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a Francielle Sato

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Renata Corrêa
Pascotto

MARINGÁ

2018

À minha avó Agemir, meu maior exemplo de mestre e professora.
Saudades eternas...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por me proporcionar tamanha oportunidade de viver essa experiência, me dar forças para seguir em frente e nunca me abandonar.

Aos meus pais, meus maiores incentivadores, não medem esforços para me ver feliz, me dão forças, são minha base, meus exemplos. Devo tudo a vocês, meus amores.

Ao meu irmão Igor e sua família Vivian, Livia e Sara, por não me deixarem desistir dos meus sonhos, me apoiarem, e por me presentear com os dois melhores motivos para sempre querer seguir em frente. Amo vocês.

Ao meu amor Lucas que encarou mais essa batalha comigo, sempre companheiro, amigo, entendendo minhas renúncias, choros, e agora dividindo a sensação de dever cumprido. Obrigada mais uma vez, amo você.

À minha tia Maria Eugênia, Fabiola e todos familiares pelo apoio dado, ensinamentos docentes e de vida, sem vocês essa conquista seria muito mais difícil.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-graduação em Odontologia Integrada pela iniciativa, apoio, infraestrutura e oportunidade.

À minha querida orientadora Doutora Francielle Sato que me acolheu da melhor forma possível nessa área que jamais imaginei trabalhar, e acabei me apaixonando. Sempre atenciosa, paciente, querida, um exemplo de mulher que sabe o que faz, e faz muito bem feito. Jamais terei palavras para agradecer essa oportunidade. Obrigada por tudo.

À minha co-orientadora professora Doutora Renata Pascotto, nome tão forte na Odontologia e o qual tenho tanta admiração. Obrigada por confiar em mim e no meu trabalho, por me mostrar, com toda humildade, uma Odontologia diferentemente linda. Minha eterna admiração à Sra.

Aos professores dos departamentos de Odontologia e Física, obrigada por me acolherem, sempre se mostrarem de prontidão para o que fosse preciso, colaborando com a minha formação e trabalho.

À professora Doutora Cintia Gaio Murad pela colaboração, disponibilidade e ajuda durante o desenvolvimento do trabalho, sempre atenciosa e paciente, muito obrigada.

As minhas amigas Mariucha, Janaina e Maira, que foram responsáveis por esta escolha, me apoiando desde a primeira cogitação, dando forças para continuar, e hoje trilhando os mesmos caminhos. Essa conquista também é de vocês.

À IX turma do Mestrado em Odontologia Integrada UEM, obrigada pela parceria, ajudas, conselhos e aprendizado.

As queridas amigas que o curso me deu, Maiara e Érica, essa jornada foi mais leve pela ajuda de vocês. Obrigada por me acolherem, por serem amigas do lado de dentro e do lado de fora, por chorarem juntas, rirem juntas, desesperarem juntas e conquistarem juntas. Nós conseguimos!

Aos funcionários do Departamento de Odontologia por sempre se mostrarem dispostos a ajudar, em especial à Sônia por assessorar todos os alunos e professores de forma exemplar.

Aos amigos da Física, Lidiane, Mariana, Adriane, Camilla, Raquel, Pablo, Hugo, aos técnicos Fernando e Nilma, obrigada por me receberem de braços abertos e sorriso no rosto mesmo nas horas de aflição, e nunca me negarem uma ajuda. Obrigada por me ensinarem um pouco sobre Física todos os dias, sem vocês não teria conseguido.

As doutorandas em Odontologia, Adriana e Bruna, devo esse trabalho a vocês. Exemplo de profissionais, mulheres que se tornaram minhas amigas e que tenho muito orgulho. Palavras jamais descreverão a alegria de ter passado por tudo e ver que vocês estavam ao meu lado. Obrigada, obrigada, obrigada, mais uma vez.

As agências financiadoras CAPES, CNPq, Fundação Araucária e Finep pelo auxílio financeiro ao longo de todo o trabalho e ao COMCAP pela disposição dos equipamentos.

“Não é na ciência que está a felicidade,
mas na aquisição da ciência.”

Edgar Allan Poe

RESUMO

O clareamento dentário é um procedimento estético amplamente procurado nos consultórios odontológicos, ocorrendo por oxidação entre peróxido de hidrogênio e pigmentos orgânicos gerando moléculas de oxigênio residuais que permanecem retidas nos tecidos dentários e são eliminadas gradualmente. Até sua total eliminação, o oxigênio pode interferir na adesividade da resina composta à estrutura dentária, dificultando a realização dos procedimentos clareador e restaurador em uma mesma sessão clínica, necessitando aguardar até 20 dias entre estes, causando insatisfação do paciente. Sendo assim, antioxidantes como o ascorbato de sódio são estudados a fim de facilitar a remoção do oxigênio. A espectroscopia fornece informações das características estruturais moleculares de corpos excitados, apresentando espectros padrões que podem modificar após tratamentos da amostra. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar por meio da espectroscopia Raman a ação do ascorbato de sódio 20% no processo de remoção do oxigênio logo após o clareamento dental externo, e possíveis alterações minerais e orgânicas após os procedimentos. Quarenta espécimes de esmalte ou esmalte e dentina foram divididos em 4 grupos (n=10) de acordo com suas espessuras (GI: 1,0 mm; GIIa: 2,0 mm; GIIb: 2,0 mm; GIII: 3,0 mm). Todos tiveram seu esmalte externo clareado (60 min) e tratado com ascorbato de sódio (60 min) seguindo um mesmo protocolo, exceto GIIa que foi apenas clareado. Foram obtidos os espectros das faces externa e interna dos espécimes antes dos procedimentos. Durante o clareamento e o uso do antioxidante, foram realizadas medidas da face interna em intervalos de 10 min ao total de 60 min, e após a remoção do material era realizada a medida da face externa. Para GIIa, as medidas após o clareamento seguiram o mesmo protocolo, porém sem nenhum agente em sua superfície, utilizando seus dados como controle para avaliação da eliminação de O₂. A ação do clareador e antioxidante nos espécimes foi avaliada pela área da banda 873 cm⁻¹ (O-O). Os resultados demonstraram um aumento de O₂ durante o clareamento e sua redução nos 60 min posteriores a remoção deste, com ou sem a ação do antioxidante, porém com maior eliminação em todas as espessuras e tecidos na presença do ascorbato. Para avaliar alterações minerais foi analisada a largura a meia altura da banda em 961 cm⁻¹ (PO₄) após o clareamento e tratamento com antioxidante, na qual não foram observadas alterações após os procedimentos, indicando que nenhuma intervenção causou modificação mineral. Na parte orgânica foram avaliadas áreas de bandas nos espectros ao final de 60 min de clareamento e em 60 min posterior a este, ou da ação do ascorbato de sódio. Foi utilizada a razão entre as bandas Amida I(1610-1710 cm⁻¹)/PO₄(920-990 cm⁻¹), e posteriormente os dados obtidos foram submetidos ao teste estatístico ANOVA (p<0,05). Os valores apresentados para p em GIIa (0,926), GIIb (0,653) e GIII (0,450) demonstraram que os dados não obtiveram significância estatística. Sendo assim o trabalho concluiu que o ascorbato de sódio tende a auxiliar na remoção do O₂ residual após o clareamento dental externo sem comprometer a composição mineral e orgânica dos tecidos dentários.

Palavras-chave: Clareamento dental. Peróxido de hidrogênio. Ascorbato de sódio. Espectroscopia Raman. Análise espectral Raman.

ABSTRACT

Dental whitening is an esthetic procedure widely sought in dental offices. This one occurring by oxidation between hydrogen peroxide and organic pigments generating oxygen residual molecules that remain retained in dental tissues and are gradually eliminate. Until their totally elimination, the oxygen can interfere in the composite resin and dental tissues adhesion making it difficult to perform the bleaching and restorative procedures in the same clinical session, needing to wait up to 20 days between them, causing patient dissatisfaction. Therefore, antioxidants such as sodium ascorbate are studied in order to facilitate the removal of oxygen. The spectroscopy provides information about molecular structural characteristics of excited materials, presenting standard spectra that can modify after sample treatments. Thus, the aim of this study was to evaluate the action of sodium ascorbate 20% on the oxygen removal process, after external bleaching, and possible mineral and organic alterations after this procedures using Raman spectroscopy. Forty enamel and enamel/dentin specimens were divided in 4 groups (n=10) according to their thickness (GI: 1,0 mm; GIIa: 2,0 mm; GIIb: 2,0 mm; GIII: 3,0 mm). All of them had their external enamel bleached (60 min) and treated with sodium ascorbato (60 min) following a same protocol, except GIIa with was bleached only. The spectra of the external and internal faces of the specimens were obtained before the procedures. During the bleaching and the use of antioxidant, measures of internal face were realized at intervals of 10 min to the total of 60 min, after the removal of the material was performed the measurement of the external face. For GIIa, measurements after bleaching follow the same protocol, but without agent on its surface, using this data as a control evaluation of O₂ elimination. The bleaching and antioxidant action on the specimens was evaluated by the band area 873 cm⁻¹ (O-O). The results showed an increase of O₂ during the bleaching and its reduction in the 60 min after its removal, with or without the antioxidant action, but with greater elimination in all thickness and tissues in the presence of ascorbato. In order to evaluate mineral alterations, the width at half height of the band 961 cm⁻¹ (PO₄) was analyzed after the bleaching and antioxidant treatment, in which no alterations were observed after the procedures, indicating that no intervention caused mineral modifications. In the organic part, areas of bands were evaluated in the spectra at the end of 60 min of bleaching and in 60 min after this, or of the action of sodium ascorbate. Reasons of Amide I (1610-1710 cm⁻¹) / PO₄ (920-990 cm⁻¹) bands were used, and the data were then submitted to ANOVA statistical test (p <0.05). The values presented for *p* in GIIa (0,926), GIIb (0,653) e GIII (0,450) showed that the data didn't reach statistical significance. Thus, the study concluded that sodium ascorbate tends to auxiliare on residual O₂ removal after external tooth whitening without compromising the mineral and organic composition of dental tissues.

Keywords: Tooth bleaching. Hydrogen peroxide. Sodium ascorbato. Raman spectroscopy. Raman spectrum analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01	Reações químicas dos agentes clareadores externos.....	14
Figura 02	Representação tridimensional da molécula de ascorbato de sódio.....	16
Figura 03	Reação química do ascorbato de sódio monoânion.....	18
Figura 04	Princípios do espalhamento de luz.....	19
Figura 05	Esquema ilustrativo dos cortes realizados nos dentes para obtenção dos espécimes.....	25
Figura 06	Esquema ilustrativo dos espécimes obtidos.....	26
Figura 07	Espécimes obtidos após os cortes.....	26
Figura 08	Esquema ilustrativo da distribuição dos espécimes de acordo com o tratamento.....	27
Figura 09	Espectros Raman médios da face externa do grupo experimental GII.....	32
Figura 10	Gráfico demonstrando valor médio das áreas obtidas da banda Raman do O ₂ residual em função do tratamento.....	33
Figura 11	Evolução temporal da banda Raman do O ₂ residual em dentina para o grupo experimental GII.....	35
Figura 12	Média das áreas da banda O ₂ residual em função do tempo para o grupo GII.....	37
Figura 13	Média das áreas da banda O ₂ residual em função do tempo para os grupos GI.....	38
Figura 14	Avaliação mineral da banda Raman do fosfato ($\nu_1\text{PO}_4^{3-}$) em 961 cm ⁻¹ com ajuste matemático, por meio da função de Lorentz.....	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	CONTEXTUALIZAÇÃO	13
2.1	CLAREAMENTO DENTÁRIO.....	13
2.2	ASCORBATO DE SÓDIO.....	15
2.3	ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	18
3	JUSTIFICATIVA	21
4	OBJETIVOS	23
5	METODOLOGIA	24
5.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	24
5.2	CONFECÇÃO DOS ESPÉCIMES.....	24
5.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	26
5.4	OBTENÇÃO DE ESPECTROS.....	28
5.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
6	RESULTADOS	31
6.1	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DA AÇÃO DE O ₂ NA ESTRUTURA DENTÁRIA.....	31
6.1.1	Face externa	31
6.1.2	Face interna	34
6.2	ANÁLISE DAS MODIFICAÇÕES NAS COMPOSIÇÕES MINERAL E ORGÂNICA DOS TECIDOS DENTÁRIOS.....	38
7	DISCUSSÃO	44
8	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50
	ANEXOS	56

1 INTRODUÇÃO

O clareamento dental é um procedimento estético amplamente requisitado nos consultórios odontológicos por ser considerado um tratamento conservador para a restauração da estética em dentes vitais e não vitais com alterações de cor, já que são independentes da realização de desgastes dentários. Desde 1800 diversas pesquisas são realizadas a fim de promover o processo de clareamento dentário em melhores condições de trabalho, evitando danos à estrutura dentária e melhorando seu desempenho frente aos materiais restauradores (SULIEMAN, 2004; HAYWOOD, 2006; BARATIERI et al., 2007; CAKIR et al., 2011).

O processo de clareação dos dentes ocorre por oxidação onde ao aplicar o peróxido de hidrogênio sobre a superfície dentária, moléculas de oxigênio penetram pelo esmalte e pela dentina, alcançando pigmentos orgânicos, reduzindo suas ligações duplas e facilitando sua difusão, alterando suas propriedades ópticas e promovendo o clareamento dos elementos dentais tratados (SULIEMAN, 2004; BARATIERI, 2004; JOINER, 2006; BRISO et al., 2010; SUNDFELD et al., 2013).

Estudos demonstram que após a reação de oxidação, radicais livres de oxigênio permanecem retidos nos tecidos dentários, principalmente na dentina (TITLEY, TORNECK, RUSE, 1992; UBALDINI et al., 2013). Quando necessária a confecção de restaurações em resina composta logo após o procedimento clareador, tais moléculas podem interferir na adesividade do material resinoso dificultando a penetração do adesivo dentinário nos tecidos dentários. Os radicais livres do material interagem com o oxigênio inibindo a formação de uma cadeia polimérica ideal durante o processo de polimerização, prejudicando a resistência de união entre dente e material restaurador imediatamente após o clareamento (LAI et al., 2002; BARCELLOS et al., 2010; PESSARELLO et al., 2012).

Com a intenção de eliminar esta adversidade, a literatura indica um tempo de espera variado para realização do tratamento restaurador após o clareamento, visando a eliminação espontânea de O_2 , podendo ser este de 1 a 20 dias (MARSON et al., 2007; KAYA, TÜRKÜN, ARICI, 2008; BOING et al., 2011), inviabilizando assim a realização dos procedimentos clareador e restaurador em uma mesma sessão clínica.

Métodos alternativos para melhora imediata na adesão do material restaurador ao substrato dentário clareado vem sendo estudados, dentre eles o uso de álcool, adesivos contendo solventes orgânicos, α -tocoferol, aloe vera e o ascorbato de sódio ($C_6H_7NaO_6$). Este último tem respondido bem às pesquisas, auxiliando na remoção do oxigênio e restabelecendo a adesividade do esmalte clareado a níveis próximos de dentes hígidos (MARSON et al., 2007; SOUZA-GABRIEL et al., 2011; MIRANDA et al., 2013; WHANG, SHIN, 2014; SHARAFEDDIN, FARSHAD, 2015; MURAD et al., 2016).

Grande parte das pesquisas realizadas com o ascorbato de sódio junto ao tratamento clareador avaliam sua influência na melhora da adesividade da restauração realizada imediatamente após o clareamento, por testes mecânicos, como cisalhamento e microtração (LAI et al., 2002; BULUT, KAYA, TURKUN, 2005; SASAKI, FLÓRIO, BASTING, 2009; HANSEN, FRICK, WALKER, 2014; ANIL et al., 2015; ALENCAR et al., 2016; MURAD et al., 2016), mas pouco se sabe sobre a ação molecular que o antioxidante pode causar nos tecidos dentários, bem como possíveis alterações estruturais nos tecidos dentários.

Desta forma, o emprego da espectroscopia Raman no estudo da ação do ascorbato de sódio sobre os tecidos dentários após clareamento dental, pode ser uma metodologia de análise eficiente, pois a técnica permite a investigação dos modos vibracionais moleculares, complementando a necessidade do aprofundamento nos estudos da utilização do ascorbato de sódio, principalmente com relação às suas interações químicas com os tecidos dentários.

2 CONTEXTUALIZAÇÃO

2.1 Clareamento dentário

O esmalte dentário é o tecido mais mineralizado do corpo humano, constituído de aproximadamente 96% de fosfato de cálcio, os quais formam os cristais de hidroxiapatita, e o restante formado por tecido orgânico e água. Já a dentina possui 30% de sua estrutura sendo matéria orgânica demonstrada principalmente pelo colágeno tipo I (MIRANDA, REIS, MIRANDA, 2002). A coloração dos elementos dentários é dada pela soma de vários fatores, como por exemplo, a origem intrínseca ou extrínseca das alterações de cores, que torna este aspecto diferenciado para cada indivíduo (CARVALHO, ROBAZZA, LAGE-MARQUES, 2002; ALBUQUERQUE; VASCONCELLOS, 2004; MONDELLI et al., 2012).

Diversos tratamentos podem ser utilizados com o fim de eliminar e/ou melhorar o aspecto manchado dos dentes, abrangendo desde procedimentos invasivos, como confecção de restaurações e facetas que dependem da perda da estrutura dentária, aos procedimentos conservadores, como limpezas profissionais e procedimentos clareadores (BARATIERI et al., 2004).

O clareamento dental é um dos procedimentos clínicos amplamente requisitados e estudados. A procura por materiais com aplicações clínicas ideais, gerando bons resultados ao profissional e ao paciente são os motivos para tantas pesquisas (MONDELLI et al., 2012).

Embora o primeiro relato de clareamento em dentes vitais tenha sido realizado em 1877 por Chapple, o tratamento só ganhou impacto em 1989, com a publicação do método “Nightguard Vital Bleaching” de Haywood e Heymann, o qual consistia no uso de moldeiras individuais preenchidas com Proxigel (peróxido de carbamida 10%) e adaptadas nas arcadas dentárias do paciente durante a noite por até 6 semanas. Este método ficou muito conhecido, sendo um marco na Odontologia estética, e atualmente essa técnica é denominada como clareamento caseiro (HAYWOOD, HEYMAN, 1989; SULIEMAN, 2004).

Os agentes mais utilizados para o clareamento dentário externo são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o peróxido de carbamida ($CH_4N_2O.H_2O_2$). O primeiro possui um baixo peso molecular facilitando sua movimentação pelos tecidos dentários. Já o peróxido de carbamida é, na verdade, um agente carregador do

peróxido de hidrogênio, isso porque quando dissociado, ele se reduz a uréia e peróxido de hidrogênio. A uréia se degrada produzindo amônia e dióxido de carbono, porém o mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio ainda não é totalmente compreendido e, dependendo das suas condições, pode liberar diferentes produtos como radicais livres, ânions peridroxil, uma associação de radicais livres com ânions que se diferem dependendo do pH da solução (MIRANDA, REIS, MIRANDA, 2002; BARATIERI et al., 2004; BARATIERI et al., 2007; ASCHEIM, 2014).

A figura 01 demonstra o processo químico de dissociação dos agentes clareadores à base de peróxido de carbamida e peróxido de hidrogênio.

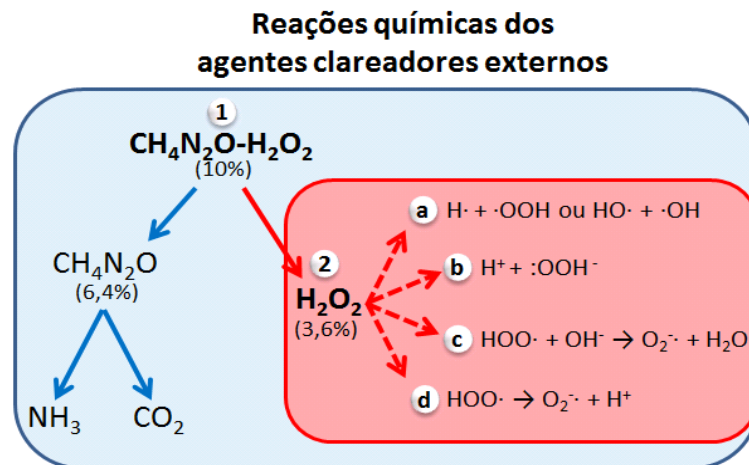


Figura 01. Reações químicas dos agentes clareadores externos (1) Peróxido de carbamida exemplificado por todo o retângulo azul, (2) Peróxido de hidrogênio demonstrando suas reações no retângulo em vermelho; (2a) radicais livres, (2b) ânions peridroxil, (2c) radicais livres e ânions em solução básica, (2d) radicais livres e ânions em solução ácida. Adaptado de Baratieri et al. (2007).

Características como a formação de radicais livres e moléculas ativas de oxigênio fazem com que o peróxido de hidrogênio seja o agente mais efetivo para o processo (DAHL, PALLESEN, 2003). Ele pode ser utilizado em várias concentrações, sendo as próximas a 35% as mais utilizadas para o procedimento quando realizado em consultório (BARATIERI et al., 2004).

O processo de clareamento dos dentes ocorre por oxidação e por redução dos pigmentos encontrados nos tecidos. Ao se aplicar o peróxido de hidrogênio sobre a superfície dentária, moléculas reativas de oxigênio que possuem baixo peso molecular penetram profundamente pelo esmalte e pela dentina e alcançam as macromoléculas responsáveis pela coloração escura que são encontradas principalmente em materiais orgânicos. Quando entram em contato, fracionam tais

cadeias em menores, alterando assim suas configurações, propriedades ópticas e dissolubilidade, tendo como resultado o elemento dental mais claro a partir da mudança estrutural dos pigmentos (DAHL, PALLESEN, 2003; SULIEMAN, 2004; BARATIERI, 2004; JOINER, 2006; BRISO et al., 2010; SUNDFELD et al., 2013; UBALDINI et al., 2013).

Alguns efeitos adversos podem ocorrer durante ou após o clareamento dentário, dentre eles podemos destacar a sensibilidade dentinária, a irritação do tecido gengival, diferenças entre a coloração final do substrato e material resinoso, e uma redução na força de ligação entre a estrutura dentária e a resina composta.

Estudos mostram que esta última consequência pode ser explicada pela presença do oxigênio residual encontrado nos tecidos dentários resultante das reações ocorridas durante o clareamento, sendo que este inibiria a correta polimerização da resina composta. Tais radicais são liberados da estrutura dentária ao longo dos dias após a realização do procedimento, assim o ideal seria aguardar entre 1 a 20 dias após a finalização do clareamento para realizar procedimentos restauradores com resina composta (TITLEY et al., 1993; DISHMAN, COVEY, BAUGHAN, 1994; MARSON et al., 2007; KAYA, TÜRKÜN, ARICI, 2008; BOING et al., 2011).

Pesquisas baseadas no uso de antioxidantes, visando reduzir essa complicação causada pelo clareamento, vêm sendo cada vez mais realizadas com a intenção de possibilitar a confecção de procedimentos restauradores com resina composta logo após o clareamento dentário (LAI et al., 2001; LAI et al., 2002; BULUT, KAYA, TURKUN, 2005; BULUT, TURKUN, KAYA, 2006; GÖKÇE et al., 2008; KAYA, TÜRKÜN, ARICI, 2008; SASAKI, FLÓRIO, BASTING, 2009; HANSEN, FRICK, WALKER, 2014; ANIL et al., 2015; ALENCAR et al., 2016; MURAD et al., 2016; ISMAIL et al., 2017; TÜRKMEN, GÜLERYÜZ, ATAL, 2018).

2.2 Ascorbato de sódio

O ascorbato de sódio é um sal de sódio derivado do ácido L-ascórbico que é popularmente conhecido como vitamina C (RIOS, PENTEADO, 2003). É caracterizado pela fórmula química $C_6H_7NaO_6$ (Figura 02) cuja massa molar é 198,11 g/mol. Sua apresentação comercial é feita em pó cristalino de coloração branca ou levemente amarelado, que tende a escurecer quando exposto à luz, mas

também pode ser encontrado em algumas frutas e vegetais. Este sal possui solubilidade dependente do meio em que é dispersado, sendo facilmente solúvel em água, moderadamente em álcool e praticamente insolúvel em cloreto de metileno (SWEETMAN, 2009; ANVISA, 2010).

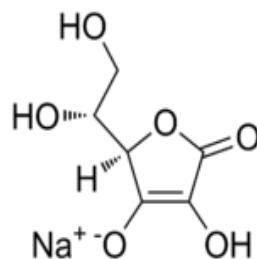


Figura 02. Representação tridimensional da molécula de ascorbato de sódio. Fonte: PubChem Compound Database, 2018.

Este composto é altamente sensível a luz e a umidade, sendo assim deve ser acondicionado em local escuro, seco e hermeticamente fechado, evitando a perda de sua função precipitadamente. O ascorbato de sódio geralmente fornece cerca de 131 mg de sódio por grama de ácido ascórbico, sendo assim, um grama de ascorbato contém 889 mg de ácido ascórbico e 111 mg de sódio (SWEETMAN, 2009).

Esta substância é muito utilizada na indústria alimentícia por possuir funções antissépticas, conservantes e antioxidantes. Esta última característica denomina ao ascorbato de sódio a capacidade de reduzir ou inibir o processo de oxidação de alguns substratos (DROGE, 2002). Esta função tem chamado a atenção da Clínica Odontológica a alguns anos e assim várias pesquisas vêm sendo realizadas, uma vez que sua ação antioxidante atuaria na captação de radicais livres de oxigênio oriundos do processo clareador e assim poderia melhorar as condições de ligação entre a estrutura dentária e o material restaurador resinoso (FREIRE et al., 2009).

O fato do ácido ascórbico e de seus sais possuírem uma baixa toxicidade, possibilita a utilização destes na indústria alimentícia como agentes antioxidantes, sendo assim pode-se considerar que a ocorrência de complicações biológicas ou efeitos adversos quando aplicados sobre o esmalte e a dentina são mínimos (LAI et al., 2001; FREIRE et al., 2009; DABAS, PATIL, UPPIN, 2011).

O pH da solução de ascorbato de sódio é aproximadamente neutro, enquanto o pH do ácido ascórbico é ácido, em torno de 2,0 a 2,5. Este é um dos motivos o qual torna o ascorbato de sódio o composto de escolha para tratamentos em superfície dentária, uma vez que o pH ácido poderia ocasionar um pré

condicionamento ácido desnecessário na superfície aplicada (LAI et al., 2001; MORRIS et al., 2001).

Para a ação sobre tecidos mais profundos dos dentes, como a dentina, os produtos aplicados em sua superfície devem apresentar um baixo peso molecular, como é o caso do peróxido de hidrogênio o qual permeia para o tecido gerando radicais livres neste (GÖKÇE et al., 2008; VIDHYA et al., 2011). Sendo assim, quaisquer produtos antioxidantes utilizados para a remoção destes radicais devem seguir o mesmo princípio de permeação. Considerando a regra de Lipinski a qual afirma que, para uma boa biodisponibilidade o fármaco deve apresentar massa molecular menor ou igual a 500 g/mol, e sabendo que o ascorbato de sódio possui massa inferior (198,11 g/mol), presume-se que este agente seja capaz de penetrar pelos tecidos dentários e interagir com o peróxido de hidrogênio.

Radicais livres são espécies químicas que contém um ou mais elétrons desemparelhados, ou seja, há perda ou ganho de um elétron, sendo assim altamente reativos e capazes de atacar qualquer biomolécula, podendo acarretar processos degenerativos. As espécies reativas do oxigênio (ROS) ocorrem durante processos oxidativos, destacando-se o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), agente principal de vários clareadores dentais (ASCHHEIM, 2014).

Os antioxidantes podem minimizar ou evitar os danos causados pelos radicais livres por meio de mecanismos como a captura do oxigênio reativo do meio ou até mesmo torná-lo menos reativo.

O ácido ascórbico é um dos antioxidantes mais conhecidos devido à sua facilidade em ser oxidado, protegendo outras espécies químicas de se oxidarem. Na forma do sal ascorbato de sódio, também mantém sua atividade antioxidante, que na presença de radicais livres doa elétrons inibindo a oxidação (PARK, KWON, KIM, 2013).

A ação química do ascorbato de sódio com o oxigênio residual proveniente do clareamento dental pode ser hipotetizada pela reação abaixo:

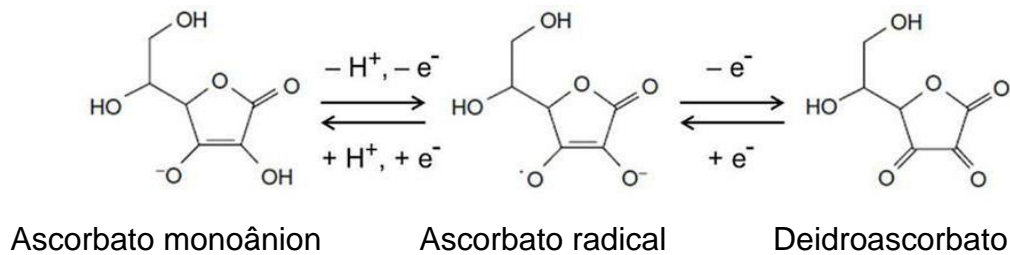


Figura 03. Reação química, reversível, entre o ascorbato monoânion com meio reativo, doando elétrons íons de H^+ até atingir a forma de deidroascorbato. Adaptada de Kuiper e Vissers (2014).

A formação de deidroascorbato é a etapa final do processo de oxidação do ascorbato, no qual neutraliza as espécies reativas, como no caso do O_2 residual.

2.3 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica que possibilita a caracterização da estrutura molecular e ligações químicas de substâncias pelo fornecimento de informações dos modos vibracionais, através da detecção do espalhamento Raman destes (MANSOUR, HICKEY, 2007).

A espectroscopia é dependente do processo de interação entre radiação incidente com a matéria atingida. No espalhamento Raman a radiação espalhada pela substância tem energia diferente da radiação incidente, chamado de espalhamento inelástico. Avaliando os níveis de energia, a molécula analisada sofrerá uma alteração de seu estado fundamental para um estado vibracional excitado, absorvendo um fóton incidente e emitindo um fóton espalhado, simultaneamente. Quando o fóton incidente sofre espalhamento, ocorrem transições de energia da molécula que podem ser elásticas (Rayleigh), o fóton permanece com a mesma energia incidente, ou inelásticas, espalhando com menor (Stokes) ou maior (Anti-Stokes) energia que o fóton incidente, como mostra a figura 04. Tais transições caracterizam a espectroscopia Raman (MANSOUR, HICKEY, 2007; SALA, 2008).

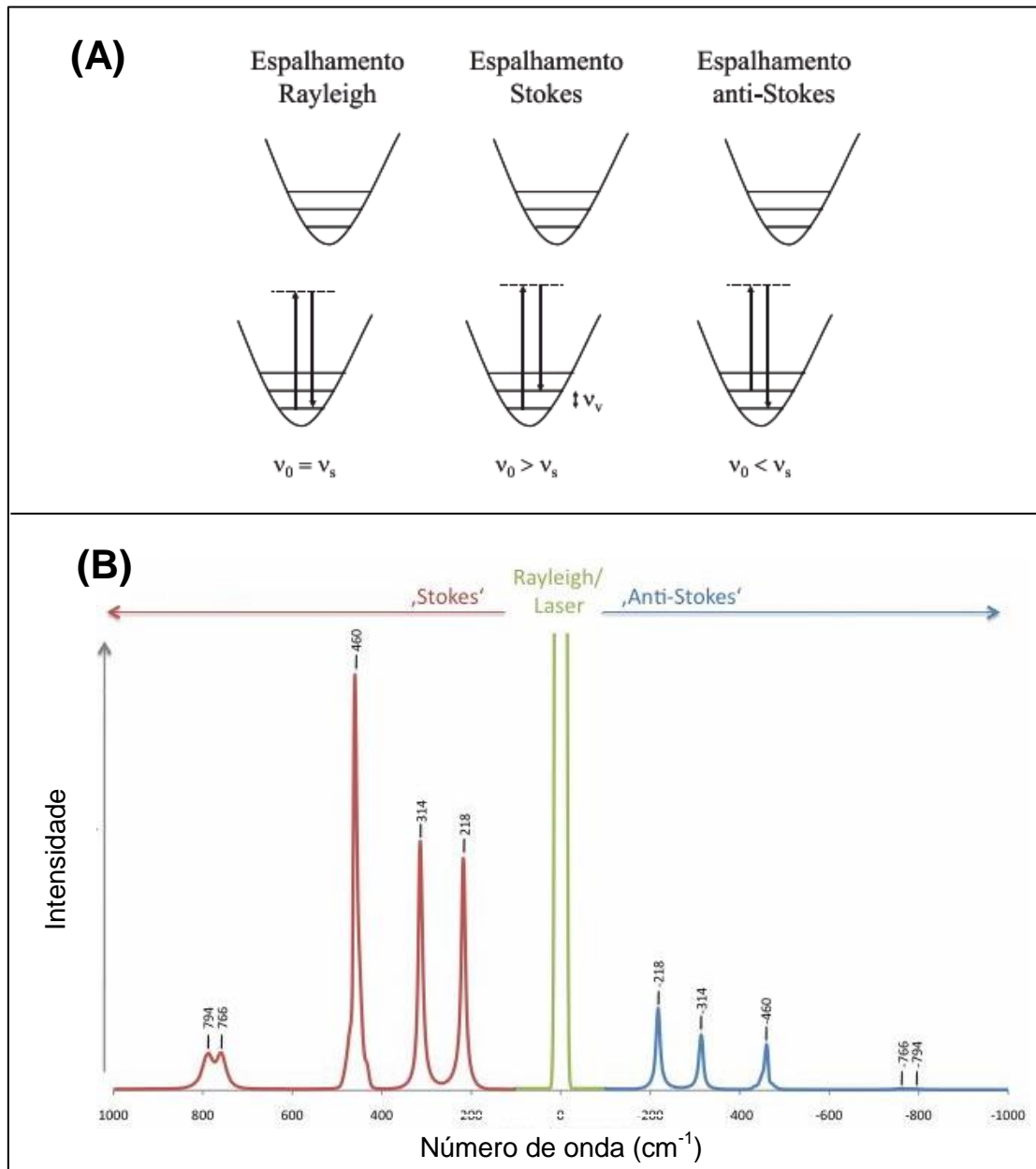


Figura 04. Princípios de espalhamento de luz (A) Transições de níveis de energia para um fóton que sofre espalhamento Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes; (B) Ilustração de espectro com os espalhamentos Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes. Adaptado de Millen, Faria, Temperini (2005) e Dippel (2017).

No espalhamento Rayleigh a energia do fóton, após interagir com a molécula, sobe para um nível virtual e logo em seguida decai para o nível de energia inicial, sendo assim o fóton incidente não perde sua energia inicial mesmo após o espalhamento. Já no espalhamento Raman Stokes, após a colisão da molécula com um fóton, a primeira altera seu estado vibracional fundamental para um estado virtual, em seguida o sistema decai para um nível vibracional excitado da molécula. No espalhamento Raman Anti-Stokes o fóton colide com a molécula já excitada, a

molécula decai para o estado fundamental com intensidade menor que o Stokes (SALA, 2008; GUIMARÃES, 2011).

Uma molécula é considerada Raman ativa, ou seja, apresenta espalhamento Raman ao ser excitada com uma luz monocromática, caso seja satisfeita a regra de seleção no efeito Raman a partir da variação de polarizabilidade na molécula causada pelo campo elétrico incidente. Uma separação de cargas ocorre quando uma molécula é colocada em um campo elétrico, os núcleos carregados positivamente são atraídos para o pólo negativo, e os elétrons para o positivo, gerando um momento dipolo induzido. Este último pode ser representado como $\mathbf{P}=\alpha\mathbf{E}$, com α sendo a polarizabilidade da molécula e \mathbf{E} o campo elétrico da radiação incidente (SALA, 2008; GÓMEZ, 2013).

A possibilidade de aplicação da espectroscopia Raman em diferentes amostras visando identificar substâncias em misturas físicas até mesmo em processos de interação química entre elas, torna este tipo de espectroscopia muito vantajosa (RODRIGUES, GALZERANI, 2012).

Ajustes matemáticos podem ser utilizados nos espectros Raman descrevendo, por exemplo, a simetria de bandas Raman, bem como, calculando suas áreas e analisando suas intensidades e centros. Estes parâmetros podem fornecer análises qualitativas e semi-quantativas acerca do sistema estudado.

3 JUSTIFICATIVA

Sabe-se que após o clareamento dental, as moléculas de oxigênio residual nos tecidos dentários afetam a adesividade da resina composta, quando utilizada em procedimentos restauradores logo após clareamento. A espera de até 20 dias após o procedimento para a confecção ou refacção de restaurações com resinas, muitas vezes torna-se um fator de descontentamento estético para o paciente, o qual, em sua maioria, contará com dentes mais claros, porém com restaurações de coloração alterada até que seja realizada sua substituição. Sendo assim, a ação antioxidante do ascorbato de sódio vem sendo estudada a fim de eliminar as moléculas de oxigênio retidas nos tecidos dentários pós-clareamento, possibilitando o processo restaurador imediato após o último, eliminando a necessidade de uma nova consulta clínica para a confecção de restaurações e, conseqüentemente, o descontentamento do paciente (MARSON et al., 2007; SOUZA-GABRIEL et al., 2011; MIRANDA et al., 2013; MURAD et al., 2016).

Dentre as interações das áreas de estudo Odontológica e Física, técnicas para ensaios mecânicos, bem como para estudo de propriedades térmicas e ópticas tem se tornado corriqueiras entre as duas áreas. A espectroscopia em particular, permite o estudo de materiais em diferentes estados da matéria, tornando a técnica de grande interesse em estudos multidisciplinares. Dentre as técnicas espectroscópicas, as vibracionais tem destaque por possibilitar a avaliação de materiais com relação a vibrações moleculares, relacionadas a grupos funcionais químicos. A espectroscopia Raman, faz parte do conjunto das técnicas vibracionais, a qual utiliza uma fonte de luz monocromática que ao incidir em um material pode ser espalhada com uma energia igual ou diferente da incidente, ocorrendo assim o espalhamento elástico ou inelástico, respectivamente. O espalhamento Raman é o inelástico, que, a partir da diferenciação de energias, informa os modos vibracionais de moléculas Raman ativas presentes no material analisado. Cada espécie química, dita Raman ativa, possui um espectro Raman, que pode ser interpretado como sua impressão digital, gerado pelos modos vibracionais das moléculas. Sendo assim, quaisquer mudanças ocorridas no estado das moléculas da amostra ocasionam alterações vibracionais, e conseqüentemente, em seu espectro (OLIVEIRA, 2001; SANTINI et al., 2008; FARIA, MASSABNI, 2011; SA et al., 2012).

Neste viés, a espectroscopia Raman torna-se uma técnica de interesse para estudos em tecidos biológicos, tais como os tecidos dentários, pois possibilita a caracterização bioquímica de materiais e ainda permite a análise de alterações moleculares em tecidos tratados. Sendo assim, o uso desta metodologia a fim de verificar a ação do ascorbato de sódio em esmalte e dentina após o clareamento dentário deve ser considerado. A obtenção de dados gerados a partir dos modos vibracionais moleculares agregam informações a dados já obtidos do antioxidante.

Diante do exposto, viu-se a possibilidade de avaliar a ação do antioxidante sobre o oxigênio residual em dentes clareados, das possíveis modificações moleculares dos tecidos dentários quando hígidos, clareados, e tratados com ascorbato de sódio.

Com os resultados deste trabalho, espera-se contribuir com a área odontológica, proporcionando conhecimento sobre aspectos bioquímicos para a utilização do ascorbato de sódio como antioxidante aplicado logo após o tratamento clareador, em casos que requeiram a realização de procedimentos restauradores adesivos imediatos.

4 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é investigar por meio da espectroscopia Raman a ação do gel antioxidante de ascorbato de sódio 20% aplicado logo após o clareamento dental externo com peróxido de hidrogênio a 37,5%.

Os objetivos específicos são:

- (I) Avaliação físico-química da ação antioxidante do ascorbato de sódio 20% a partir da remoção do oxigênio residual, cuja a assinatura da banda Raman é o estiramento da ligação O-O, nas faces externa e interna de espécimes com 1,0, 2,0 e 3,0 mm de espessura;
- (II) Avaliar possíveis alterações do conteúdo mineral e orgânico do esmalte e dentina quando hígidos e após os tratamentos clareador e com ascorbato de sódio 20%.

5 METODOLOGIA

O presente estudo experimental *in vitro* foi encaminhado e aceito pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COPEP) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) (CAAE: 60009716.5.0000.0104) (Anexo 01).

Foram coletados e armazenados em água destilada 10 terceiros molares hígidos extraídos por motivos periodontais e/ou ortodônticos, de pacientes jovens entre 18 e 35 anos de idade, que aceitaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 02) autorizando sua participação na pesquisa.

5.1 Delineamento experimental

O presente trabalho propôs realizar a avaliação da presença de oxigênio residual proveniente do processo de clareamento dental externo feito em esmalte, e sua redução após tratamento com ascorbato de sódio 20%, bem como analisar possíveis alterações na composição tecidual dos espécimes após os tratamentos. Foi utilizada a Espectroscopia Raman por meio de um espectrômetro Raman acoplado a um microscópio confocal (Modelo Senterra, Bruker, Alemanha). Para isto os fatores de estudo foram a presença de O₂ residual e as possíveis alterações mineral e orgânica nos espécimes dentários com 1,0, 2,0 e 3,0 mm de espessura.

As variáveis de respostas quantitativas foram: I) presença de O₂ em esmalte e dentina, analisada a partir da banda Raman centrada em 873 cm⁻¹; II) alterações no composto mineral, avaliadas a partir da largura da banda Raman centrada em 961 cm⁻¹ (PO₄), e compostos orgânicos calculadas a partir da razão das áreas de banda Raman referentes a amida I (1610-1710 cm⁻¹)/fosfato (920-990 cm⁻¹).

Este trabalho apresenta como hipótese nula que o ascorbato de sódio não influenciará na remoção do O₂ após o clareamento, bem como não causará alterações nos tecidos dentários.

5.2 Confeção dos espécimes

Dez molares hígidos foram seccionados, unitariamente, com discos diamantados de precisão (Diamond Wheel 012"x fine, South Bay Technology Inc,

CA, EUA) refrigerados por água, que atuaram em baixa velocidade quando adaptados em máquina de corte (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA).

Para que todos os cortes fossem realizados na porção coronária, cada dente tinha sua raiz aderida a uma matriz metálica, apropriada para adaptação na máquina de corte, com a ajuda de godiva em bastão de baixa fusão (Godibar, Lysanda, São Paulo, SP, Brasil) amolecida em fogo.

Os cortes foram realizados na seguinte ordem: 1) três cortes no sentido ocluso-cervicais/vestíbulo-linguais com intervalo de 3,0 mm entre eles; 2) dois cortes no sentido ocluso-cervicais/mésio-distais, sendo um a 2,0 mm de distância da face vestibular, e o outro a 3,0 mm da face lingual; 3) dois cortes horizontais, no sentido vestibúlo/lingual, um deles próximo à face oclusal e outro 3,0 mm abaixo (Figura 05).

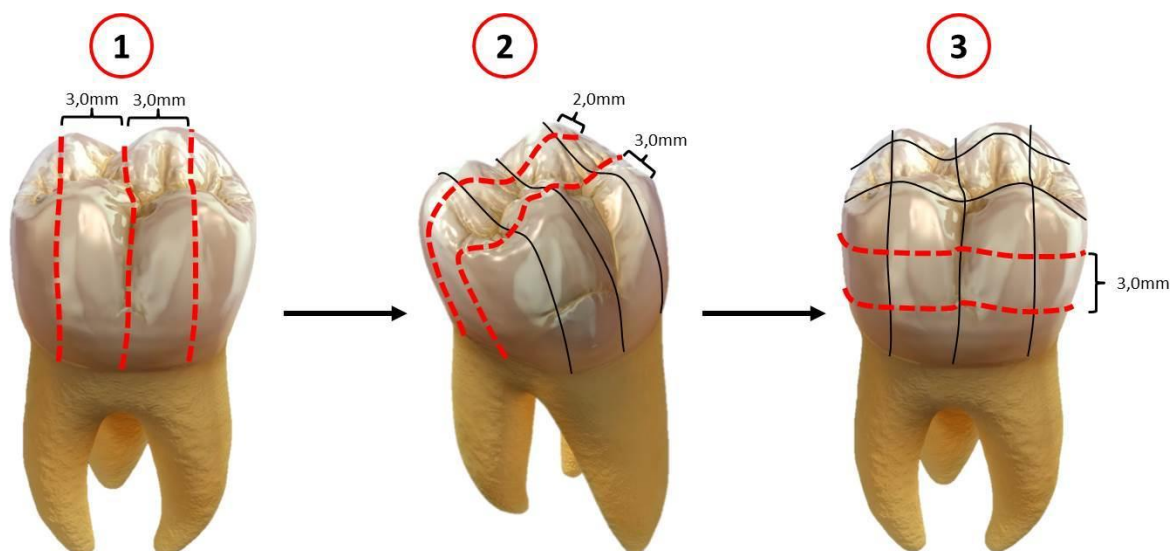


Figura 05. Esquema ilustrativo dos cortes realizados nos dentes para obtenção dos espécimes: (1) cortes ocluso-cervicais/vestíbulo-linguais; (2) cortes ocluso-cervicais/mésio-distais; (3) cortes horizontais vestibúlo-linguais. Adaptado de Javier Tapia Guadix.

Foram obtidos dois corpos de prova da face vestibular (3,0 mm x 3,0 mm x 2,0 mm) e dois da face lingual (3,0 x 3,0 x 3,0 mm), resultando em 20 espécimes com 2,0 mm de espessura, e outros 20 com 3,0 mm. Dez blocos de 3,0 mm de espessura tiveram sua dentina interna polida com lixa d'água n°220 (3M, Campinas, São Paulo, Brasil) até que os espécimes se reduzissem a 1,0 mm de espessura (Figuras 06 e 07).

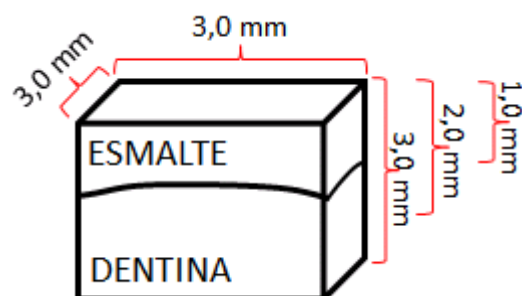


Figura 06. Esquema dos espécimes obtidos.

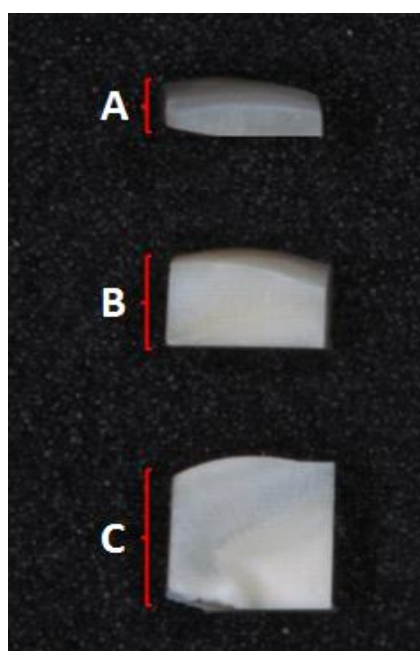


Figura 07. Espécimes contendo (A) 1,0 mm de espessura, (B) 2,0 mm de espessura, (C) 3,0 mm de espessura.

Após os cortes, todos os blocos foram lavados durante 5 min em lavadora ultrassônica (Bio Wash, Bio-Art, São Carlos, São Paulo, Brasil), ficaram imersos em recipientes plásticos (Eppendorf Tubes[®] 3810X, Eppendorf AG, São Paulo, SP, Brasil) contendo aproximadamente 1,5 ml de água destilada, até que fossem realizados seus tratamentos e análises.

5.3 Grupos experimentais

Com a intenção de diminuir o grau de variabilidade biológica dos grupos, os quatro espécimes obtidos após os cortes de um dente foram alocados em cada grupo de acordo com sua espessura.

Os grupos experimentais foram diferenciados a partir da espessura dos blocos de dentes: GI (n=10) - blocos com 1,0 mm de espessura; GII - blocos de 2,0 mm de espessura, os quais foram subdivididos em GIIa (n=10) e GIIb (n=10); GIII (n=10) - blocos de 3,0 mm de espessura. A subdivisão de GII foi realizada com a intenção de comparar a ação de remoção ou não do O₂ realizada pelo ascorbato de sódio 20%, como será explanado mais adiante.

Foram realizadas medidas espectrais de cada bloco em diferentes momentos, delimitando assim o controle negativo, com medidas realizadas nos espécimes ainda não clareados, o controle positivo com medidas durante/após o clareamento, e o tratado durante/após aplicação do antioxidante e/ou durante/após 60 min posterior ao tratamento clareador (Figura 08).

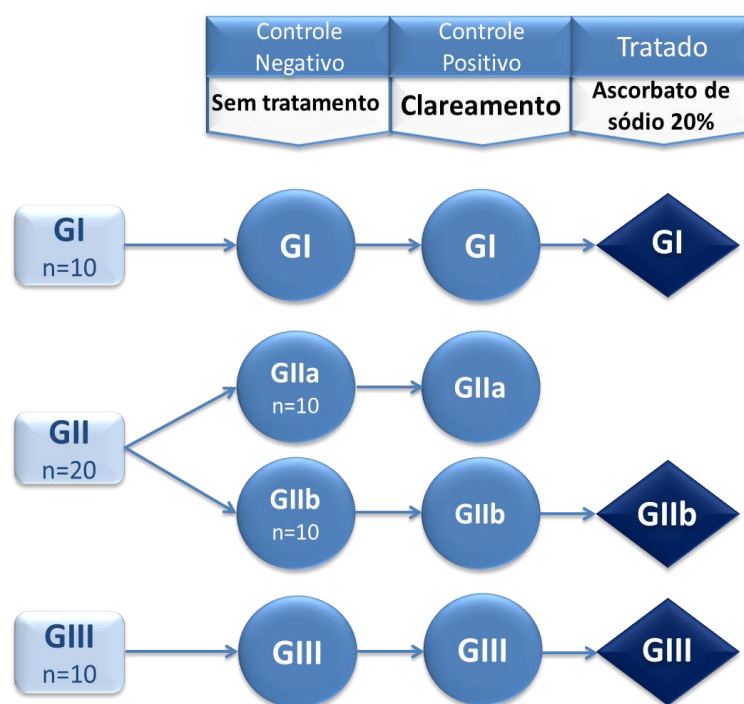


Figura 08. Esquema ilustrativo da distribuição dos espécimes de acordo com o tratamento.

Avaliar a ação do ascorbato de sódio quanto a remoção do O₂ em diferentes espessuras contribui com a averiguação da ação de agentes antioxidantes em processos de pós-clareamento. Além disso, o estudo em espécimes com espessuras que variam de 1,0 a 3,0 mm abrange ambos os tecidos dentários, esmalte e dentina, os quais têm composições químicas diferentes, e assim diferenciando o mecanismo de permeação do agente clareador nos tecidos.

5.4 Obtenção de espectros

Todas as análises, dos espécimes e dos produtos, foram realizadas por Espectroscopia Raman configurado de modo que os espectros obtidos apresentassem a melhor relação sinal ruído, e com menor contribuição de luminescência. Todas as imagens e os dados espectrais obtidos foram processados pelo *software* OPUS[®] (Alemanha). Foi utilizada a seguinte configuração: comprimento de onda de excitação em 785 nm com potência nominal de 100 mW, abertura confocal de 50x1000 μm , resolução espectral de 3-5 cm^{-1} , no intervalo espectral entre 450-1800 cm^{-1} e tempo de integração de 3s. Cada espectro é uma média de 60 varreduras em uma mesma posição na amostra. Foi utilizada uma objetiva de 20x de magnitude, permitindo um diâmetro do laser incidente de aproximadamente 10 μm na amostra.

O ascorbato de sódio 20% foi manipulado mensalmente pelos alunos de pós-graduação em Farmácia da UEM em colaboração com a Prof^a Cintia Gaio Murad do Unicesumar condicionado sob refrigeração controlada, e semanalmente, antes de ser utilizado no tratamento dos espécimes, foi monitorado seu espectro Raman a fim de controle da estabilidade do produto.

Os espécimes foram retirados da água, secos com gaze e apoiados sobre um espelho com primeira superfície de alumínio, pois este não exibe espectro Raman no intervalo estudado. O ponto mais central da face de interesse da amostra foi focalizado a partir de uma câmera digital acoplada ao espectrômetro, e então foram realizadas as medidas em cada amostra utilizando as configurações descritas anteriormente.

Para avaliação da ação do ascorbato de sódio após clareamento dental, foi analisado o comportamento da banda Raman do oxigênio residual do gel clareador por meio do estiramento vibracional da ligação O-O, centrada em 873 cm^{-1} . Entretanto, foi necessário observar a ação do agente clareador, a fim de se avaliar a eficiência do gel antioxidante na remoção do oxigênio residual. Desta maneira, é esperado que a banda Raman do oxigênio residual seja menos intensa em espécimes tratados com ascorbato quando comparados aos clareados. Esta eficiência foi realizada somente no GII, pois este grupo tem os tecidos dentários aproximadamente com a mesma proporção em espessura.

A metodologia empregada para o estudo da ação tanto do gel clareador quanto do antioxidante em função do tempo foi a aplicação do produto no esmalte externo e leituras na face de aplicação, após a remoção dos produtos, e na face oposta. As leituras na face oposta à aplicação foram para avaliar a ação do ascorbato de sódio em diferentes espessuras, uma vez que a literatura relata que o gel clareador a base de peróxido de hidrogênio permeia até 3,0 mm de um espécime constituído de esmalte e dentina (UBALDINI et al., 2013).

O tratamento e a obtenção dos espectros dos espécimes foram realizados individualmente. Cada fragmento teve seu esmalte externo clareado com uma camada de aproximadamente 10 mg de gel clareador à base de peróxido de hidrogênio à 37,5% (Pola Office Plus, SDI Limited, Bayswater, Victoria, Austrália) cobrindo toda a face em questão, sem extravasar para as laterais. Logo em seguida, o espécime foi posicionado sobre um espelho de alumínio, e inserido no espectrômetro Raman, de modo que o esmalte com peróxido de hidrogênio ficasse voltado para o espelho e a face oposta direcionada ao laser de excitação do equipamento. Como forma de estabilização do espécime, foram acrescentados sobre o espelho pequenos incrementos de cera 7 (Asfer, São Caetano do Sul, SP, Brasil) nas regiões coincidentes com as bordas das amostras, de modo que estas não influenciassem na obtenção dos espectros.

Foram obtidos espectros do mesmo local da amostra em intervalos de 10 min até que se completasse 60 min de medida, totalizando 6 medidas por espécime. Ao final da sexta medida, o bloco era retirado do espectrômetro Raman, e o gel clareador removido do espécime, friccionando a face clareada em lenços de papel, para então realizar a obtenção do espectro da face externa, ou seja, na face a qual estava aplicado o agente clareador. Este procedimento foi adotado como forma de verificar a presença do agente clareador após sua remoção.

Após o clareamento, uma camada de 10 mg do gel de ascorbato de sódio 20% foi aplicada sobre toda a superfície de esmalte externo de cada bloco de dente e permaneceu durante 60 min, exceto para espécimes do GIIa. A metodologia de posicionamento do espécime para análise, assim como a forma de obtenção dos espectros, seguiram as mesmas condições dos espécimes clareados. Após o término do tempo pré-estabelecido, o gel antioxidante foi removido com lenços de papel e o esmalte externo analisado pelo mesmo equipamento.

Para o grupo GIIa foram realizadas as medidas controle negativo e positivo seguindo o mesmo protocolo dos outros grupos, porém após a medida da face externa pós-clareamento, o bloco de dente foi invertido e teve sua face interna novamente analisada, agora sem qualquer agente em sua superfície oposta. Nestes espécimes as medidas também foram realizadas em intervalos de 10 min, até 60 min completos, e logo após foi realizada a medida da face externa. Este procedimento foi adotado para avaliação da detecção do oxigênio residual em função do tempo sem a presença de qualquer material na face oposta a medida, desta forma é possível investigar se o houve a retenção de oxigênio residual após o clareamento, e se o mesmo difunde-se no tecido dentário.

5.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada para verificação de possíveis alterações orgânicas dos espécimes durante os tratamentos. A obtenção de tais dados foi realizada a partir da área das bandas de interesse e os valores foram avaliados estatisticamente por meio da Análise de Variância a um critério (ANOVA One-way), no programa estatístico SigmaPlot® (San Jose, California). Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando o valor de $p \leq 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 Análise físico-química da ação de O₂ na estrutura dentária

Foram realizadas medidas das faces externa e interna de todos os espécimes, sendo a face da aplicação e a oposta, respectivamente. Os espécimes foram avaliados em função do tempo que os produtos, clareador e ascorbato de sódio, permaneceram em contato com os mesmos, sendo a face de leitura a interna.

Neste estudo somente no grupo experimental GII, com espessura de 2,0 mm, foi realizada um grupo controle positivo, no qual foi avaliado a liberação espontânea do O₂ residual do gel clareador. Este grupo experimental foi escolhido por conter os dois tecidos dentários em espessuras aproximadamente iguais.

Para melhor análise os resultados foram separados em face externa e interna. Em ambas as faces foi avaliado o comportamento da área da banda Raman referente ao oxigênio residual oriundo do processo de clareamento dental na região espectral entre 903 – 830 cm⁻¹, centrada em 873 cm⁻¹, obtida pelo método de integração. Tal banda é atribuída ao modo vibracional do tipo estiramento simétrico entre os oxigênios chamada de $\nu(\text{O-O})$ (UBALDINI et al., 2013).

Todos os espectros apresentados foram submetidos a correção de linha de base e normalização com relação a intensidade da banda centrada em 961 cm⁻¹, referente ao grupo funcional fosfato PO₄³⁻ da hidroxiapatita, presente tanto no esmalte quanto na dentina. Foram obtidos os espectros das duas faces de todos os espécimes de todos os grupos experimentais antes de qualquer tratamento.

6.1.1 Face externa

Em todos os espécimes dos grupos experimentais foi observada a banda Raman do O₂ residual e, como a espessura dos espécimes não é relevante na avaliação da face externa, serão apresentados os dados somente do grupo experimental GII.

A figura 09 apresenta um espectro Raman obtido a partir dos valores médios apresentados pelos espécimes após cada fase de tratamento do esmalte externo, com as principais atribuições do tecido em questão (SOARES et al., 2009). Os

espectros foram adquiridos no intervalo espectral entre $1780 - 420 \text{ cm}^{-1}$, porém um intervalo menor é mostrado para melhor visualização dos dados.

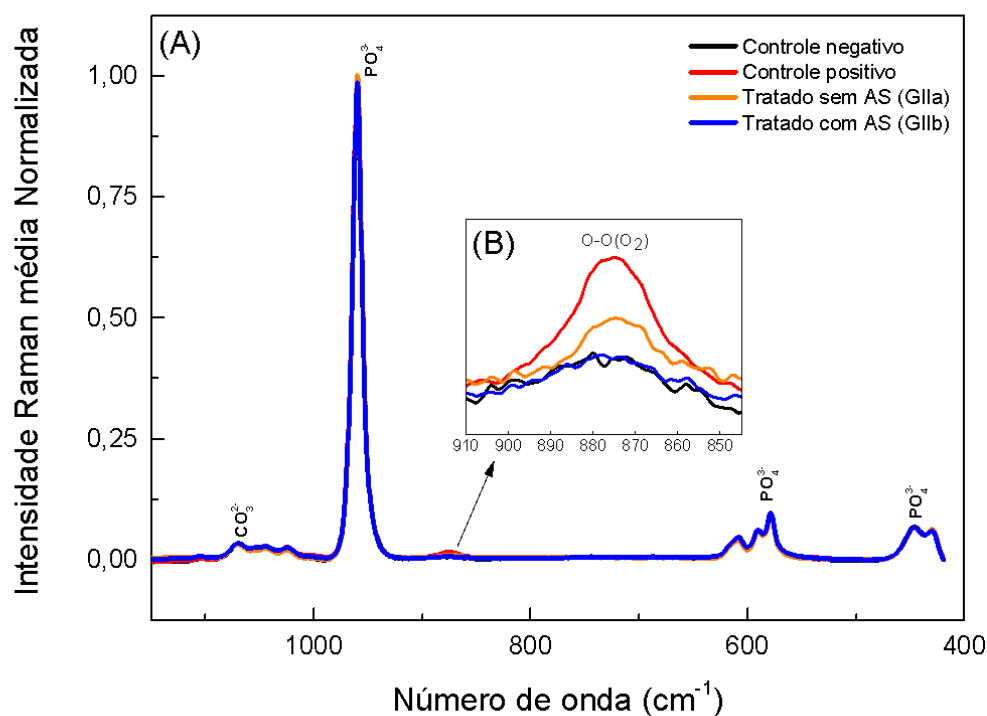


Figura 09(A) Espectros Raman médios da face externa do grupo experimental GII: controle negativo (sem tratamento), controle positivo (após 60 min de início do clareamento), tratado sem ascorbato de sódio (GIIa), e tratado com ascorbato de sódio (GIIb). (B) Detalhe da banda média do O_2 residual.

Na figura 09(B) nota-se a presença da banda Raman do O_2 residual no espectro da média dos espécimes após 60 min de clareamento, e após 60 min de tratamento com ascorbato de sódio ou não. Ainda é possível observar que o tratamento com ascorbato de sódio reduz a intensidade da banda do O_2 próxima à intensidade do controle negativo, indicando que a ação do antioxidante na remoção do O_2 na face externa é mais efetiva do que a liberação espontânea do mesmo, como mostra o tratado sem ação do ascorbato de sódio, ambos os dados nos 60 min posteriores à finalização do clareamento, com ou sem a ação do antioxidante.

Para os grupos experimentais GI e GIII foi observado uma diminuição na contribuição da banda Raman do O_2 residual após o tratamento com ascorbato de sódio, porém nestes grupos experimentais não foi realizado o controle pós-clareamento.

A figura 10 mostra o valor médio das áreas obtidas da banda Raman do O₂ residual em função do tratamento para GII, todos clareados, porém a figura 10(A) mostra os espécimes sem o tratamento com ascorbato de sódio e a figura 10(B) com tratamento. Nota-se uma diminuição da área da banda do O₂, mostrando que ocorre a ação do antioxidante na remoção do O₂ residual (Figura 10(B)), e sua liberação espontânea (Figura 10(A)) na face externa dos espécimes. Entretanto, se compararmos a média das áreas entre os intervalos de tempo de final e inicial, ou seja, após 60 min de tratamento com e sem antioxidante e após 60 min de clareamento, há uma diferença percentual de $(64 \pm 26) \%$ para os espécimes clareados e sem tratamento com ascorbato de sódio e de $(54 \pm 28) \%$ para os submetidos ao tratamento com o antioxidante, sendo assim há uma tendência de ter mais O₂ residual retido na face externa dos espécimes que não foram submetidos ao tratamento com ascorbato. Este resultado pode sugerir que o tratamento com ascorbato de sódio pode auxiliar na remoção do O₂ residual proveniente do processo de clareamento.

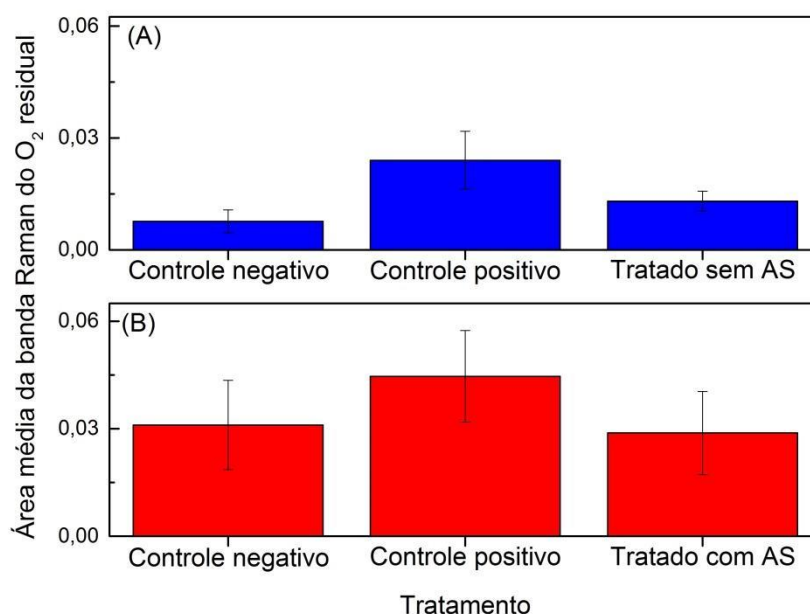


Figura 10 – Valores médio das áreas da banda Raman do O₂ residual em função do tratamento do grupo GII: (A) sem tratamento com ascorbato de sódio e (B) com tratamento de ascorbato de sódio. Os valores de tempo indicam o intervalo após a aplicação do agente clareador. Controle negativo: espécimes sem tratamento; controle positivo: espécimes submetidos ao tratamento de clareamento dental; tratado com AS: espécimes clareados e tratados com ascorbato de sódio; tratado sem AS: espécimes clareados e não tratados com ascorbato de sódio.

Sendo assim, a partir desta análise podemos tendenciar que o ascorbato de sódio é capaz de promover uma maior remoção de oxigênio residual da superfície externa do esmalte dentário.

6.1.2 Face interna

Na face interna foram realizadas as medidas em intervalos de tempo de 10 min. A figura 11 (A) mostra espectros da face interna do grupo experimental GII e as atribuições químicas das bandas Raman da dentina, há também a banda do O₂ residual e sua evolução em função do tempo de medida, em destaque para melhor visualização. As figuras 11 (B) e (C) mostram a evolução temporal dos espectros para o grupo GII somente clareados e, clareados e tratados com ascorbato de sódio, os intervalos de tempo indicados nestas figuras são após a aplicação do gel clareador, o qual permaneceu aplicado durante 60 min, sendo assim o tempo total de medida para os grupos GIIa e GIIb foi de aproximadamente 120 min.

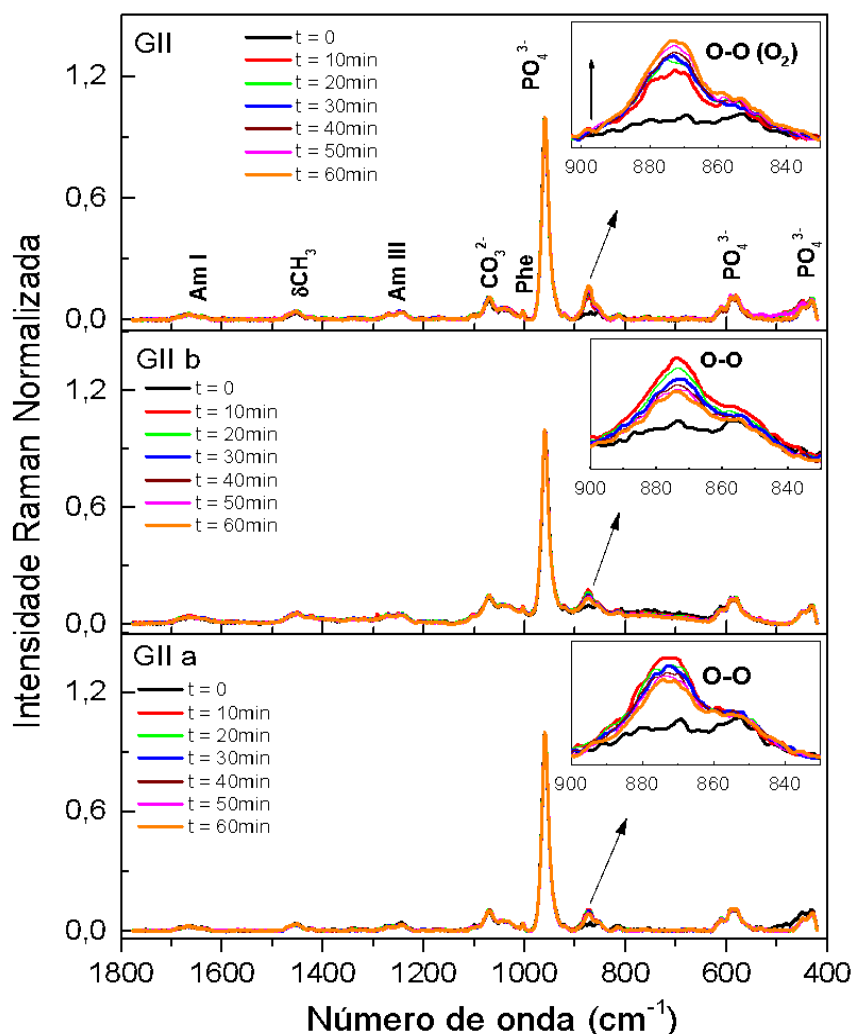


Figura 11. Evolução temporal da banda Raman do O_2 residual em dentina para o grupo experimental GII: (A) durante 60 min da aplicação do agente clareador; (B) GIIb (após a remoção do agente clareador) durante 60 min com o tratamento de ascorbato de sódio; (C) GIIa (após a remoção do agente clareador) durante 60 min sem tratamento com ascorbato de sódio. $t = 0$ representa o espécime sem nenhum tratamento. AmI: Amida I, δCH_3 : deformação no CH_3 , AmIII: amida III, CO_3^{2-} : carbonato, Phe: fenilalanina, PO_4^{3-} : fosfato, O-O: estiramento do O_2 .

É possível observar na figura 11 (A) a evolução da banda do O_2 , a qual aumenta sua intensidade com o tempo, evidenciando a ação do agente clareador a base de peróxido de hidrogênio em dentina. Nas figuras 11 (C) e (B) nota-se uma diminuição da banda do O_2 , sugerindo que tanto o tratamento com ascorbato de sódio quanto a liberação espontânea do O_2 residual ocorrem na dentina.

Para avaliar a eficácia da remoção do oxigênio residual por meio do tratamento com ascorbato de sódio, foi comparada a área da banda Raman do O_2 residual para os grupos GIIa e GIIb, após a aplicação do gel clareador, como mostra a figura 12. Os dados apresentados são uma média de todos os espécimes do grupo

GII mensurados. Na face interna dos grupos GII e GIII o tecido constituinte é a dentina, sendo a região da banda do O_2 residual nos espectros Raman sobreposta com uma banda do fosfato da dentina. Esta sobreposição de bandas influencia a interpretação das contribuições espectrais, sendo assim faz-se necessário minimizar as contribuições das bandas que não são de interesse, desde que as mesmas não sejam influenciadas pelo tratamento proposto. Para minimizar a contribuição da banda do fosfato da dentina (852 cm^{-1}) foi realizada a subtração da área na região entre $903\text{-}830\text{ cm}^{-1}$ entre os espectros tratados, clareado e clareado tratado com ascorbato de sódio, e seus respectivos controles negativos. Sendo assim, a figura 12 mostra a média das bandas do O_2 residual já realizada a subtração entre espectros.

Na figura 12 observa-se a difusão do O_2 residual na dentina no período de 60 min por meio do aumento na área da banda, após sua remoção há uma diminuição da banda tanto para grupo GIIa quanto para o GIIb, ou seja há a remoção do O_2 pelo tratamento com ascorbato de sódio (GIIb) e sua liberação espontânea (GIIa), entretanto áreas de valores menores são observadas para o grupo GIIb em função do tempo, indicando que o tratamento com ascorbato de sódio após o clareamento dental contribui na eliminação do O_2 na dentina, em espécimes com esmalte e dentina de 2,0 mm de espessura.

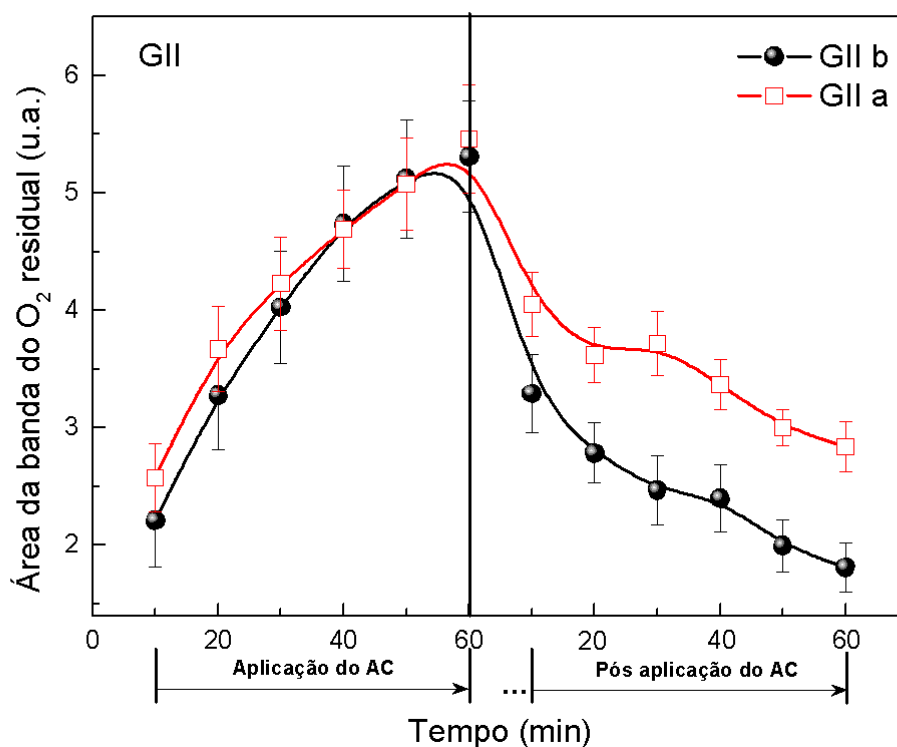


Figura 12. Média das áreas da banda O₂ residual em função do tempo para o grupo GII. AC: agente clareador; ... : tempo para remoção do AC; GIIa: clareado e tratado sem ascorbato de sódio; GIIb: clareado e tratado com ascorbato de sódio.

Os resultados apresentaram diferentes comportamentos na evolução temporal da banda do O₂ residual nos espécimes de 1,0, 2,0 e 3,0 mm de espessura, como mostra os primeiros 60 min das figuras 12 e 13, e a difusão do O₂ residual também resultou em comportamentos diferenciados, mostrando que podem haver diferentes mecanismos de difusão devido a composição do esmalte e da dentina. Podemos inferir que para os grupos GI e GIII o ascorbato de sódio também auxilia na remoção do O₂ do clareamento dental, porém a eficácia nas espessuras de 1,0 e 3,0 mm referentes aos grupos GI e GIII, respectivamente, não pode ser comprovada, uma vez que não há um subgrupo sem ascorbato de sódio como no grupo experimental GII. Entretanto, cabe ressaltar, que o processo de remoção do O₂ residual utilizando o ascorbato de sódio depende da difusão do agente clareador, pois há mecanismo distintos dependendo da espessura e do tipo de tecido dentário, como pode ser visto nas figuras 12 e 13 no intervalo de 60 min após a aplicação do agente clareador.

Para o esmalte (GI) o processo é mais constante, e para os grupos GII e GIII decai de forma aproximadamente linear, sendo a taxa de decaimento dependente da espessura.

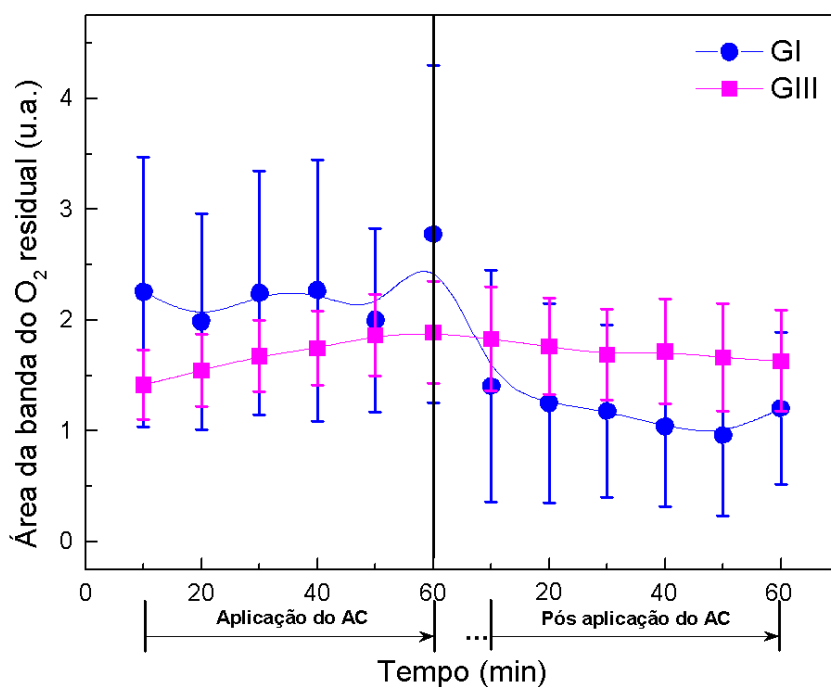


Figura 13. Média das áreas da banda O₂ residual em função do tempo para os grupos GI e GIII. AC: agente clareador; ... : tempo para remoção do AC. —●— : linhas de referência de comportamento.

6.2 Análise das modificações nas composições mineral e orgânica dos tecidos dentários

A análise de modificação na composição de um material por espectroscopia Raman, geralmente, utiliza razões entre intensidades ou áreas de bandas correlacionadas aos grupos funcionais de interesse (AKKUS, KARASIK, ROPERTO, 2017; BUCHWALD, OKULUS, SZYBOWICZ, 2017; OKULUS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017). No caso de tecidos dentários as análises corriqueiras envolvem a composição mineral e orgânica. Para a composição mineral podem ser analisados os grupos químicos fosfato (PO_4^{3-}) ou carbonato (CO_3^{2-}) constituintes da hidroxiapatita (GÖTZ et al., 2007; XU et al, 2009; WANG et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2017), presente tanto no esmalte quanto na dentina. Já a composição orgânica pode ser avaliada por meio dos grupos funcionais amida I e amida III e/ou pelos

grupos químicos CH, e é correlacionada com o colágeno (XU et al., 2009, MANDAIR, MORRIS, 2015), o qual não se apresenta no esmalte.

A Tabela 1 apresenta as posições das principais bandas Raman do dente, suas atribuições químicas e modos vibracionais.

Tabela 1. Posição das bandas Raman para esmalte e dentina e suas respectivas atribuições.

Atribuição química e modo vibracional	Posição da banda (cm ⁻¹)		Referências
	Esmalte	Dentina	
v(C=O) e v(C-C) da Amida I		1710-1610	XU et al., 2009.
δ(CH ₂) de proteínas		1400-1490	MANDAIR, MORRIS, 2015.
δ(N-H) da Amida III		1300-1220	XU et al., 2009.
v ₁ (CO ₃ ²⁻) (tipo A) da Hap	1104		SOARES et al., 2009.
γ(C-C-C)		1166	WANG et al., 2011.
v ₁ (CO ₃ ²⁻) da Hap (tipo B)	1070	1070	XU et al., 2009.
v(C-C) e v ₃ (PO ₄ ³⁻) da Hap		1038	WANG et al., 2011; MANDAIR, MORRIS, 2015.
v(C-C) do anel aromático da Phe		1004	MORRIS, MANDAIR, 2011.
v ₁ (PO ₄ ³⁻) da Hap	960	960	MORRIS, MANDAIR, 2011.
v(C-C) da Hyp		875	MORRIS, MANDAIR, 2015.
v(C-C) da Pro		854	WANG et al., 2011.
v ₄ (PO ₄ ³⁻) da Hap	610, 590 e 579	610, 590 e 579	SOARES et al., 2009.
v ₂ (PO ₄ ³⁻) da Hap	447 e 429	447 e 429	SOARES et al., 2009; BERGER et al., 2014.

(v: estiramento; δ: deformação; γ: deformação fora do plano; ω: deformação fora do plano tipo abano; Hap: hidroxiapatita; Hyp: hidroxiprolina; Phe: fenilalanina).

Um dos principais componentes minerais que constitui o esmalte e a dentina dentária é o fosfato. A banda centrada em 961 cm⁻¹ proveniente do modo vibracional v₁PO₄³⁻ da hidroxiapatita é a que apresenta maior intensidade nos espectros Raman. Sendo assim optou-se por selecionar esta banda a fim de verificar prováveis alterações após o clareamento e o tratamento com ascorbato de sódio.

Todos os espectros foram corrigidos por linha de base e normalizado em 961 cm⁻¹. As análises foram realizadas nos espectros dos espécimes controle negativo,

após o clareamento (60 min) e 60 min após a remoção do clareador, lembrando que neste último período de tempo o ascorbato de sódio ficou aplicado aos espécimes de todos os grupos experimentais, e que somente no grupo GII houve um subgrupo, a qual ficou neste período de tempo sem aplicação de nenhum produto.

A figura 14 mostra a região da banda Raman do fosfato ($\nu_1\text{PO}_4^{3-}$) em 961 cm^{-1} com ajuste matemático, por meio da função de Lorentz, para todos os grupos experimentais. O ajuste matemático evidencia que as larguras (ω) obtidas não sofrem variações significativas nem com o clareamento dental ou com o tratamento com ascorbato de sódio. Cabe ressaltar que a figura 14 é somente de um espécime de cada grupo, entretanto esse comportamento foi observado para todos os espécimes. A avaliação por meio da largura ω é representativa da cristalinidade do material, pois como é possível observar, para o GI externo tem-se o menor valor de ω entre os grupos, e o segundo menor valor é para GI interno, os dois referentes ao esmalte. O esmalte é mais mineralizado que a dentina, sendo assim apresenta menores valores de ω .

A resposta da porção mineral tanto do esmalte quanto da dentina foi negativa quanto a modificações moleculares na região espectral do fosfato.

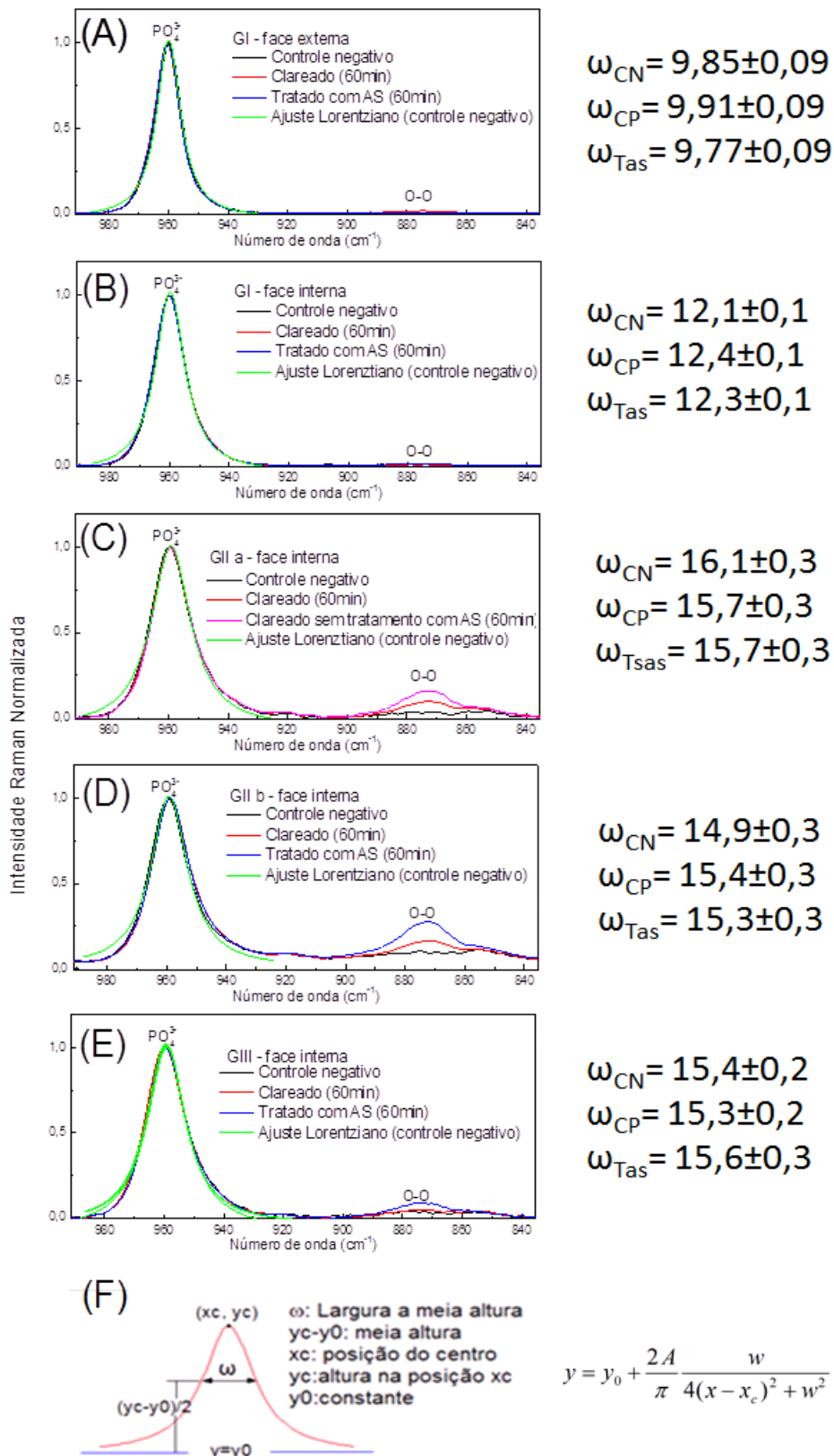


Figura 14. (A-E): Banda Raman do fosfato de todos os grupos experimentais, dos intervalos de tempo de 60 min de clareamento e 60 min após o clareamento, exemplo de ajuste lorentziano (controle negativo) e indicação da largura a meia altura (ω) obtida por meio do ajuste. (F) Parâmetros matemáticos de uma função de Lorentz.

Já para a avaliação de possíveis alterações na composição orgânica foram observados os espectros controle negativo, ao final do clareamento (60 min) e ao final da aplicação do antioxidante (60 min) ou após 60 min de finalizado o clareamento, obtidos a partir da dentina, ou seja, face interna de GIIa, GIIb e GIII.

Foram selecionadas regiões específicas dos espectros as quais identificavam uma banda de componente orgânico e outra de componente mineral. Para a primeira o intervalo selecionado foi da amida I abrangendo de 1610-1710 cm^{-1} , e para o segundo optou-se pela área do fosfato (920-990 cm^{-1}). Sendo assim a razão foi determinada por Amida I / $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ foi escolhida uma vez que seu resultado representa as alterações em redução ou não do colágeno nos tecidos dentários (MORRIS, MANDAIR, 2011).

Após a obtenção dos valores das razões, primeiramente foi realizada a análise descritiva dos dados (Tabela 2), logo após estes foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) o qual determinou sua normalidade, e em seguida foram estatisticamente analisados utilizando ANOVA *One-way*.

A análise de variância foi realizada intragrupos, sendo que para GIIb e GIII, a análise estatística foi realizada comparando as razões controle negativo e clareado, controle negativo e ascorbato, e para GIIa substituiu-se a razão com ascorbato por pós-clareamento. Essas comparações com o controle negativo tem por finalidade avaliar se a porção orgânica sofreu alguma alteração após os espécimes serem submetidos aos tratamentos clareador e antioxidante.

Caso os valores apresentados por p fosse menores ou iguais a 0,05, o resultado seria considerado estatisticamente significativo.

Tabela 2. Análise descritiva das taxas obtidas para os grupos de acordo com o tratamento realizado (C= controle; CL= após 60 min de clareamento; PCL= após 60 min do término do clareamento; AS= após 60 min de tratamento com ascorbato de sódio 20%; $p \leq 0,05$ significativa).

Grupo	Condição	Média (\pm DP)	Mínimo	Máximo	p ($\leq 0,05$)
GIIa	C	0,075 \pm 0,008	0,064	0,087	
	CL	0,07 \pm 0,02	0,057	0,104	0,926
	PCL	0,07 \pm 0,01	0,059	0,093	

Grupo	Condição	Média (\pmDP)	Mínimo	Máximo	p ($\leq 0,05$)
GIIb	C	0,1 \pm 0,2	0,058	0,117	
	CL	0,09 \pm 0,02	0,062	0,117	0,653
	AS	0,09 \pm 0,01	0,066	0,112	
GIII	C	0,08 \pm 0,01	0,051	0,097	
	CL	0,08 \pm 0,02	0,037	0,100	0,450
	AS	0,07 \pm 0,02	0,050	0,098	

De acordo com o valor de p obtido tem-se que não houveram diferenças estatisticamente significativas intragrupos, confirmando a hipótese nula apresentada no trabalho.

Sendo assim pode-se afirmar que este trabalho demonstrou que os tratamentos clareador e antioxidante não são capazes de promover alterações na estrutura orgânica da dentina em espécimes de 2,0 mm e 3,0 mm de espessura.

7. DISCUSSÃO

O fato clareamento dentário interferir diretamente na adesividade de restaurações realizadas com resina composta imediatamente após o procedimento se torna um desafio para os cirurgiões dentistas. A presença de resíduos de peróxido de hidrogênio e/ou oxigênio residual nos tecidos influencia negativamente o tratamento restaurador, dificultando a infiltração do adesivo dentinário na estrutura dentária (TURKUN, KAYA, 2004) e até mesmo inibindo a correta polimerização dos monômeros resinosos (GARCÍA-GODOY et al., 1993; DISHMAN, COVEY, BAUGHAN, 1994; LAI et al., 2002; TÜRKÜN, KAYA, 2004; SILVA et al., 2005; BARCELLOS et al., 2010; PESSARELLO et al., 2012; SHARAFEDDIN, FARSHAD, 2015). Sendo assim, pesquisas avaliando a eficácia no uso de antioxidantes após o clareamento vêm sendo realizadas a fim de melhorar este aspecto, removendo-os da estrutura dentária e promovendo sua interação com os radicais de oxigênio (BARGHI, GODWIN, 1994; DROGE, 2002; CARLOS, KAND, ALESSANDRA, 2006; DABAS, PATIL, UPPIN, 2011; VIDHYA et al., 2011; ARUMUGAM et al., 2014; SHARAFEDDIN, FARSHAD, 2015).

Grande parte dos trabalhos apresentados para verificação da efetividade antioxidante do ascorbato de sódio são realizados a partir de testes mecânicos, como testes de cisalhamento e microtração, e estes têm observado a melhora na adesão da superfície dentária aos materiais resinosos (LAI et al., 2001; LAI et al., 2002; BULUT, KAYA, TURKUN, 2005; BULUT, TURKUN, KAYA, 2006; GÖRKE et al., 2008; KAYA, TÜRKÜN, ARICI, 2008; ANIL et al., 2015; ALENCAR et al., 2016; MURAD et al., 2016; ISMAIL et al., 2017). Embora a maioria dos trabalhos evidencie a melhora na adesão imediata pós-clareamento após o uso do antioxidante, algumas pesquisas mostraram resultados não tão satisfatórios (SASAKI, FLÓRIO, BASTING, 2009; HANSEN, FRICK, WALKER, 2014; TÜRKMEN, GÜLERYÜZ, ATAH, 2018). As controvérsias com relação aos ensaios mecânicos podem estar associadas ao tempo de aplicação do ascorbato de sódio, tal como foi observado em nossos resultados, uma vez que a atuação do antioxidante é correlacionada aos radicais livres no meio. Outro fator importante é que o O₂ do agente clareador é liberado mesmo sem a utilização de removedores, como foi notado em nossos resultados tanto no esmalte quanto na dentina (Figuras 09 e 11), mas esta liberação ainda depende do mecanismo de difusão do agente clareador.

Freire et al. (2009) realizou um estudo observando a cinética de reação entre o ascorbato de sódio e o peróxido de hidrogênio à 35%, determinando a massa de antioxidante necessária para a neutralização dos efeitos oxidativos. Os resultados apresentados indicaram uma relação direta entre a massa dos dois reagentes, e que o tempo de 5 min seria o ideal para equilibrar a reação. Outro estudo avaliou a quantidade de H_2O_2 remanescente no tecido dentário após o clareamento, e a efetividade do ascorbato de sódio 20% na remoção dos remanescentes da dentina de acordo com diferentes tempos de aplicação do antioxidante a partir de um ensaio colorimétrico. Os resultados demonstraram que duas aplicações de 1 min do antioxidante foram suficientes para remover resquícios do clareador ao nível da liberação espontânea do H_2O_2 5 dias após o tratamento (FREIRE et al., 2011). Em nosso estudo para o GII, o tempo inicial para avaliação do antioxidante foi de 10 min (Figura 12), o qual mostrou-se o tempo de ação mais intenso, pois apresentou uma diminuição mais abrupta da banda do O_2 residual do que os intervalos de tempo superiores.

Ubalini et al. (2013) em estudo da difusão de gel clareador a base de peróxido de hidrogênio através dos tecidos dentários, identificou uma maior concentração de agente clareador na zona de transição esmalte-dentina (região amelodentinária) em espécimes de 3,0 mm de espessura, sendo a difusão em função do tempo de comportamento mais constante em espécimes de 1,0 mm, e crescente para espécimes de 2,0 e 3,0 mm. No estudo citado foi empregada espectroscopia Raman e difusão do agente clareador foi medida na dentina, face oposta a aplicação do gel clareador.

Os resultados por espectroscopia Raman obtidos no presente trabalho apresentam o indicativo de atuação do agente clareador no esmalte interno em GI e externo de todos os grupos, caracterizados pelo aumento da banda de oxigênio durante o tratamento clareador e após este, respectivamente (Figuras 09 e 13). Nas análises em dentina, o aumento de oxigênio também foi encontrado ao longo do tempo de tratamento tanto para GII quanto para GIII (Figuras 11 e 13(A)). A maior afinidade do gel clareador com compostos orgânicos está associada à maneira como o H_2O_2 irá reagir nos tecidos. Na dentina, a qual possui grande quantidade orgânica, são necessárias mais reações oxidativas para o efeito clareador, enquanto o contrário ocorre no esmalte, tecido majoritariamente composto por minerais (KWON et al., 2012; NANCI, 2013; UBALDINI et al., 2013). Sendo assim, o trabalho

sugere que o ascorbato de sódio teve influência na remoção de O_2 da estrutura dentária externa (Figura 10) e interna (esmalte e dentina) em todos os níveis de espessura (Figura 12 e 13), uma vez que o antioxidante deveria agir nas regiões onde houveram reações do processo clareador, o qual gera os radicais livres ideais para ação do antioxidante (GÖKÇE et al., 2008; VIDHYA et al., 2011), e este demonstrou um melhor desempenho no GII comparando os subgrupos com e sem ascorbato, sugerindo que o antioxidante possui a mesma ação removedora para as duas outras espessuras. Para GI sua ação deve ser superficial, semelhante ao clareamento, já que conseqüentemente poucas moléculas de oxigênio residual devem ser encontradas. Para GIII a sua eficácia pode ser reduzida, uma vez que a demanda de reações é maior pela quantidade de dentina.

O processo de oxidação do peróxido de hidrogênio durante o tratamento clareador já foi indicado como responsável pela redução de compostos minerais e orgânicos dos tecidos dentários, porém este assunto ainda é controverso. Embora alguns estudos demonstrem alterações na composição dos tecidos após o clareamento (KAWAMOTO, TSUJIMOTO, 2004; AL-SALEHI, WOOD, HATTON, 2007; UBALDINI et al., 2013; COCESKA et al., 2016; FERREIRA et al., 2016), nas condições experimentais do presente estudo não houveram alterações estruturais em nenhuma matriz de nenhum tecido dentário (Figura 14, Tabela 2), corroborando com resultados de outras pesquisas (SULIEMAN et al., 2004; GÖTZ et al., 2007; CABALLERO, NAVARRO, LORENZO, 2007). Esta divergência pode estar associada aos diferentes métodos de obtenção dos dados, podendo ser a partir de ensaios mecânicos, moleculares, análise microscópica dos substratos, tipos e concentrações dos agentes clareadores, bem como a seleção de outras regiões espectrais em estudos realizados com espectroscopia Raman, analisando outros componentes da estrutura dentária (SENCER et al., 2001; WANG, YAO, 2010).

Para os espectros obtidos por espectroscopia vibracional, uma forma de confirmar se o material a base de hidroxiapatita sofreu alterações em sua estrutura se faz pela avaliação das larguras das bandas de interesse (MORRIS, MANDAIR, 2011; MANDAIR, MORRIS, 2015). A hidroxiapatita é um cristal e as moléculas de fosfato se mantêm alinhadas neste. Quando ocorre uma deformação na hidroxiapatita estas moléculas sempre sofrerão alterações em sua conformação. Tais alterações podem ser identificadas nos espectros a partir da alteração da largura a meia altura da banda do PO_4^{3-} , ou seja, quando ocorre o alargamento

desta banda significa que o cristal está se tornando amorfo, ou seja, menos mineralizado, já quando ocorre o estreitamento da banda, indica uma maior quantidade de minerais, maior cristalinidade (MORRIS, MANDAIR, 2011; MANDAIR, MORRIS, 2015).

Com base nas pesquisas em literatura, foi encontrado apenas um trabalho que avaliou as possíveis alterações morfológicas em esmalte após o tratamento com o ascorbato de sódio. Bassir et al. (2013) pesquisaram o efeito que o tratamento antioxidante com lasers Er:YAG, Nd:YAG e CO₂ e solução de ascorbato de sódio 10% utilizados após o clareamento dental com peróxido de carbamida pudessem causar ao esmalte dentário. As análises da superfície feitas a partir de microscopia eletrônica de varredura indicaram que lasers Nd:YAG e CO₂ causaram alterações na morfologia do esmalte que podem influenciar na adesividade. Embora o laser Er:YAG também tenha produzido alterações na superfície, estas seriam benéficas ao tratamento restaurador. O ascorbato de sódio foi o único meio que não demonstrou nenhuma alteração morfológica nos espécimes.

Apesar de utilizarem outra técnica para análise de alterações nos tecidos dentários, os resultados das modificações minerais do presente trabalho (Figura 14) corroboram com o trabalho de Bassir et al. (2013), concluindo que o antioxidante não é capaz de causar alterações em sua estrutura.

Não foram encontrados trabalhos que investigassem alterações na porção orgânica dos tecidos. Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que o ascorbato de sódio não causa nenhuma alteração na composição da porção orgânica da dentina após o clareamento e uso do antioxidante (Tabela 2), fato este muito relevante, uma vez que se anseia por tratamentos conservadores preferencialmente que não promovam nenhuma alteração na composição dentária.

Dentro do nosso conhecimento, até o presente momento não se tem relatos na literatura científica sobre estudos físico-químicos da ação do antioxidante ascorbato de sódio por meio de espectroscopia Raman, o que torna o presente estudo um trabalho pioneiro na área da Odontologia.

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho temos que a aplicação do antioxidante pode acarretar em benefícios para o tratamento restaurador posteriormente ao clareamento, devido a sua eficácia na remoção do O₂ residual tanto em esmalte quanto em dentina, o qual prejudica processos de adesão, possibilitando a realização dos procedimentos em um mesmo atendimento clínico e

assim reduzindo o tempo de espera para o paciente, sem afetar a força de ligação entre tecidos dentários e material restaurador, e também sem causar danos ao esmalte e a dentina.

8. CONCLUSÃO

A partir deste estudo pode-se concluir que o antioxidante a base de ascorbato de sódio 20% aplicado durante 60 min em esmalte dentário externo tende a auxiliar no processo de remoção do oxigênio residual oriundo da reação de oxidação durante o clareamento dentário em espécimes com até 3,0 mm de espessura de esmalte e dentina.

Também é possível afirmar que os tratamentos realizados com peróxido de hidrogênio 37,5% e ascorbato de sódio 20% não são capazes de gerar danos na estrutura mineral e orgânica dos tecidos dentários.

Estudos futuros devem ser realizados avaliando possíveis alterações no grau de conversão da resina composta de dentes hígidos, clareados e tratados com ascorbato de sódio 20%. Os resultados obtidos pelo trabalho poderão colaborar para avaliar a ação do ascorbato de sódio na melhora da conversão de monômeros em polímeros do material resinoso aderido à estrutura dentária logo após o clareamento externo.

REFERÊNCIAS

- AKKUS, A.; KARASIK, D.; ROPERTO, R. Correlation between micro-hardness and mineral content in healthy human enamel. **J Clin Exp Dent**, v. 9, n. 4, p. 569-573, 2017.
- ALBUQUERQUE, R. C.; VASCONCELLOS, W. A. Clareamento dental exógeno. In: GOMES, J. C. et al. **Estética em clínica odontológica**. Curitiba: Ed. Maio, 2004. Cap VI, p. 195-238.
- ALENCAR, M. S. et al. Effect of two antioxidants agents on microtensile bond strength to bleached enamel. **Braz Dent J**, v. 27, n. 5, 2016.
- AL-SALEHI, S. K.; WOOD, D. J.; HATTON, P. V. The effect of 24h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. **J Dent**, v. 35, n. 11, p. 845-850, 2007.
- ANIL et al. Effect of 10% sodium ascorbate on shear bond strength of bleached teeth - an in-vitro Study. **J Clin Diagn Res.**, v. 9, n. 7, p. 31-33, 2015.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**. Ed Fiocruz: Brasília, v. 2, ed. 5, 2010.
- ARUMUGAM, M. T. et al. Effect of various antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel: An *in vitro* study. **J Conserv Dent**, v. 17, p. 22-26, 2014.
- ASCHHEIM, K. W. Bleaching and related agents. In: ASCHHEIM, K. W. **Esthetic Dentistry: A clinical approach to techniques and materials**. 3.ed. St Louis: Elsevier, 2014. p. 252-279.
- BARATIERI, L. N. et al. **Caderno de dentística: Clareamento dental**. São Paulo: Ed Santos, 2004. 129 p.
- BARATIERI, L. N. et al. Clareamento de dentes. In: BARATIERI, L. N. **Odontologia Restauradora: Fundamentos e Possibilidades**. 1.ed. São Paulo: Ed Santos, 2007. p.673-722.
- BARCELLOS, D. C. et al. Effect of carbamide peroxide bleaching gel concentration on the bond strength of dental substrates and resin composite. **Oper Dent**, Seattle, v. 35, n. 4, p. 463-469, 2010.
- BARGHI, N.; GODWIN, J. M. Reducing the adverse effect of bleaching on composite enamel bond. **J Esthet Dent**, v. 6, p. 157-161, 1994.
- BASSIR, M. M. et al. In vitro evaluation of the effect of different laser irradiations on the enamel surfaces of teeth treated with home bleach procedure. **J Lasers Med Sci**, v. 4, n. 4, 2013.
- BERGER, S. B. et al. Effects of various hydrogen peroxide bleaching concentrations and number of applications on enamel. **Braz J Oral Sci**, v. 13, n. 1, p. 22-27, 2014.
- BOING, T. F. et al. Avaliação do grau de conversão de uma resina composta utilizando diferentes tratamentos de superfície previamente à fotopolimerização final. **Revista Dentística on line**, v. 22, p. 9-14, Jul/Set, 2011.

BRISO, A. L. F. et al. Color alteration in teeth subjected to different bleaching techniques. **Laser Phys**, Lawrence, v. 20, n. 12, p. 2066-2069, 2010.

BRISO, A. L. F. et al. Effect of sodium ascorbate on tag formation in bleached enamel. **J Adhes Dent**, v. 14, p. 19-23, 2012.

BUCHWALD, T.; OKULUS, Z.; SZYBOWICZ, M. Raman spectroscopy as a tool of early dental caries detection—new insights. **J. Raman Spectrosc.**, v. 48, n. 8, p. 1094-1102, 2017.

BULUT, H.; KAYA, A. D.; TURKUN, M. Tensile bond strength of brackets after antioxidant treatment on bleached teeth. **Eur J Orthod**, v. 27, p. 466-471, 2005.

BULUT, H.; TURKUN, M.; KAYA, A. D. Effect of an antioxidizing agent on the shear bond strength of brackets bonded to bleached human enamel. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 129, p. 266-271, 2006.

CABALLERO, A. B.; NAVARRO, L. F.; LORENZO, J. A. In vivo evaluation of the effects of 10% carbamide peroxide and 3.5% hydrogen peroxide on the enamel surface. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 12, p. E404-407, 2007.

CAKIR, F. Y. et al. Chemical analysis of enamel and dentin following the application of three different at-home bleaching systems. **Oper Dent**, Seattle, v. 36, n. 5, p. 529-536, 2011.

CARVALHO, E. M. O. F. de; ROBAZZA, C. R. C.; LAGE-MARQUES, J. L. Análise espectrofotométrica e visual do clareamento dental interno utilizando laser e calor como fonte catalizadora. **Pesqui Odontol Bras**, São Paulo, v. 16, n. 4, p. 337-342, 2002.

CARLOS, R. G.; KAND, F. A.; ALESSANDRA, B.B. The effects of antioxidant agents as neutralizers of bleaching agents on enamel bond strength. **Braz J Oral Sci**, v. 5, p. 971-976, 2006.

COCESKA, E. et al. Enamel alteration following tooth bleaching and remineralization. **J Microsc**, v. 262, n. 3, p. 232-244, 2016.

DABAS, D.; PATIL, A. C.; UPPIN, V.M. Evaluation of the effect of concentration and duration of application of sodium ascorbate hydrogel on the bond strength of composite resin to bleached enamel. **J Conserv Dent**, v. 14, p. 356-360, 2011.

DAHL, J. E.; PALLESEN, U. Tooth bleaching - a critical review of the biological aspects. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 14, n. 4, p. 292-304, 2003.

DIPPEL, B. Scatterig intensities. Disponível em: <<http://www.raman.de/#intensities>>. Acesso em: 12 mar. 2018.

DISHMAN, M. V.; COVEY, D. A.; BAUGHAN, L. W. The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. **Dent Mater**, v. 9, p. 33-36, 1994.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev**, n. 87, p. 47-95, 2002.

FARIA, D. L. A; MASSABNI, A. C. **Entenda o que é espectroscopia Raman**. 2011. Disponível em: <http://crq4.org.br/sms/files/file/Espectroscopia_Raman_4.pdf>. Acesso em: 10 jun 2016.

FERREIRA, A. F. M. et al. Graded changes in enamel component volumes resulted from a short tooth bleaching procedure. **Arch Oral Biol**, v.65, p. 52-58, 2016.

FREIRE, A. et al. Assessing the use of 35 percent sodium ascorbate for removal of residual hydrogen peroxide after in-office tooth bleaching. **J Am Dent Assoc**, v. 142, n. 7, p. 836-841, 2011.

FREIRE, A. et al. Reaction kinetics of sodium ascorbate and dental bleaching gel. **J Dent**, Bristol, v. 37, n. 12, p. 932-936, 2009.

GARCÍA-GODOY, F. et al. Composite resin bond strength after enamel bleaching. **Oper Dent**, v. 18, p. 144-147, 1993.

GÓMEZ, S. M. V. **Caracterização de carotenóides e lipídeos de microalgas in vivo utilizando espectroscopia raman**. 2013. Dissertação - Mestrado em Engenharia Industrial, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

GOO, D-H et al. The efficiency of 10% carbamide peroxide gel on dental enamel. **Dent Mater J**, v. 23, n. 4, p. 522-527, 2004.

GÖKÇE, B. et al. Effect of antioxidant treatment on bond strength of a luting resin to bleached enamel. **J Dent**, Bristol, v. 36, p. 780-785, 2008.

GÖTZ, H. et al. Effects of elevated hydrogen peroxide 'strip' bleaching on surface and subsurface enamel including subsurface histomorphology, micro-chemical composition and fluorescence changes. **J Dent**, v. 35, p. 457-466, 2007.

GUADIX, J.T. Disponível em: <<http://klander.cgsociety.org/art/cinema-4d-zbrush-first-upper-molar-831160>> Acesso em: dia/mês/ano

GUIMARÃES, C. **Espectroscopia Raman e Infravermelho na molécula (4E)-4((E)-3-fenilalilidenomanino)-1,2-dihidro-2,3-dimetil-1-fenilpirazol-5-ona**. 2011. Dissertação - Programa de Pós Graduação em Física, UFMT, Cuiabá, 2011.

HAYWOOD, V. B. Nightguard vital bleaching: indications and limitations. **US Dentistry**, p. 2-8, 2006.

HAYWOOD, V. B.; HEYMANN, H. O. Nightguard vital bleaching. **Quintessence Int**, v. 20, n. 3, p. 173-176, 1989.

HANSEN, J. R.; FRICK, K. J.; WALKER, M. P. Effect of 35% sodium ascorbate treatment on microtensile bond strength after nonvital bleaching. **J Endod**, v. 40, n. 10, p. 1668-1670, 2014.

ISMAIL, E. H. et al. Effect of two minute application of 35% sodium ascorbate on composite bond strength following bleaching. **J Contemp Dent Pract**, v. 18, n. 10, p. 874-880, 2017.

JOINER, A. The bleaching of teeth: A review of the literature. **J Dent**, Bristol, p. 1-8, 2006.

KAYA, A. D.; TÜRKÜN, M.; ARICI, M. Reversal of compromised bonding in bleached enamel using antioxidant gel. **Op Dent**, Seattle, v. 33, n. 4, p. 441-447, 2008.

KAWAMOTO, K.; TSUJIMOTO, Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. **J Endod**, v. 30, p. 45-50, 2004.

KUIPER, C.; VISSERS, M. C. M. Ascorbate as a co-factor for Fe- and 2-oxoglutarate dependent dioxygenases: physiological activity in tumor growth and progression. **Front Oncol**, v. 4, p. 1-11, 2014.

KWON, S. R., et al. Penetration pattern of rhodamine dyes into enamel and dentin: confocal laser microscopy observation. **Int J Cosmet Sci**, v. 34, p. 97-101, 2012.

LAI, S. C. et al. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. **J Dent Res**, v. 80, p. 1919-1924, 2001.

LAI, S. C. N. et al. Reversal of compromised bonding in bleached enamel. **J Dent Res**, Bristol, v. 81, n. 7, p. 477-481, 2002.

MANDAIR, G. S.; MORRIS, M. D. Contributions of Raman spectroscopy to the understanding of bone strength. **BoneKey Reports**, n. 620, p. 1-8, 2015.

MANSOUR, H. M.; HICKEY, A. J. Raman characterization and chemical imaging of biocolloidal self-assemblies, drug delivery systems, and pulmonary inhalation aerosols: a review. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 4, p. E99, 2007.

MARSON, F. C. et al. Influência do gel de ascorbato de sódio na resistência adesiva entre resina composta e esmalte clareado. **Rev Odontol UNESP**, Araçatuba, v. 36, n. 1, p. 17-21, 2007.

MILLEN, R. P.; FARIA, D. L. A.; TEMPERINI, L. A. Modelos para dispersão Raman em polímeros conjugados. **Química Nova**, São Paulo, v. 28 n. 2, 2005.

MIRANDA, M. M.; REIS, N. A.; MIRANDA, J. R. Clareamento dental endógeno e exógeno. In: CARDOSO, R. J. N.; GONÇALVES, E. A. N. **Odontologia: Estética**. 1.ed. São Paulo: Artes Médicas, 2002. p.343-362.

MIRANDA, T. A. M. et al. Influence of exposure time to saliva and antioxidant treatment on bond strength to enamel after tooth bleaching: an *in situ* study. **J Appl Oral Sci**, v. 21, n. 6, p. 567-574, 2013.

MONDELLI, R. F. L. et al. Comparative clinical study of the effectiveness of different dental bleaching methods – two year follow-up. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v. 20, n. 4, p. 435-443, 2012.

MORRIS, M. D. et al. Effects of sodium hypochlorite and RC-prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. **J Endod**, v. 27, p. 753-757, 2001.

MORRIS, M. D.; MANDAIR, G. S. Raman Assessment of Bone Quality. **Clin Orthop Relat Res**, v.469, n.8, p.2160-2169, 2011.

MURAD, C. G. et al. Influence of 10% sodium ascorbate gel application time on composite bond strength to bleached enamel. **Acta Biomater Odontol Scand**, Estocolmo, v.2, n.1, p. 49-54, 2016.

NANCI, A. **Ten Cate histologia oral: desenvolvimento, estrutura e função**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

OKULUS, Z. et al. The effect of bonding system application on surface characteristics of bovine dentin and enamel. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 76, p. 1224-1231, 2017.

OLIVEIRA, B. B. et al. Chemical interaction analysis of an adhesive containing 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (10-MDP) with the dentin in noncarious cervical lesions. **Oper Dent**, v. 41, n. 1, p. 01-10, 2017.

OLIVEIRA, L. F. C. Espectroscopia molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 4, p. 24-30, 2001.

PARK, J. Y.; KWON, T. Y.; KIM, Y. K. Effective application duration of sodium ascorbate antioxidant in reducing microleakage of bonded composite restoration in intracoronally bleached teeth. **Restor Dent Endod**, v. 38, n. 1, p. 43-47, 2013.

PESSARELLO, N. M. et al. Bond strength of dentin submitted to bleaching and restored with different materials. **RSBO (online)**, Joinville, v. 9, n. 3, p. 286-291, Jul./Set. 2012.

RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. V. C. Vitamina C. In: PENTEADO, M. V. C. **Vitaminas: Aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. 1 ed. São Paulo: Editora Manole, 2003. p. 201-225.

RODRIGUES, A. D. G.; GALZERANI, J. C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. **Rev. Bras. Ensino Física**, v. 34, n. 4, p. 4309-9, 2012.

SA, Y. et al. Investigation of three home-applied bleaching agents on enamel structure and mechanical properties: an *in situ* study. **J Biomed Opt**, Bellingham, 17, n. 3, 2012.

SALA, O. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 2.ed. São Paulo: UNESP, 2008.

SANTINI, A. et al. The effect of a 10% carbamide peroxide bleaching agent on the phosphate concentration of tooth enamel assessed by Raman spectroscopy. **Dent Traumatol**, v. 24, p. 220-223, 2008.

SASAKI, R. T.; FLÓRIO, F. M.; BASTING, R. T. Effect of 10% sodium ascorbate and 10% alpha-tocopherol in different formulations on the shear bond strength of enamel and dentin submitted to a home-use bleaching treatment. **Oper Dent**, v. 34, n. 6, p. 746-52, 2009.

SENCER, P. et al. Molecular structure of acid-etched dentin smear layers—in situ study. **J Dent Res**, v. 80, p. 1802-1807, 2001.

SHARAFEDDIN, F.; FARSHAD, F. The effect of aloe vera, pomegranate peel, grape seed extract, green tea, and sodium ascorbate as antioxidants on the shear bond strength of composite resin to home-bleached enamel. **Dent Shiraz Univ Med Sci**, Shiraz, v. 16, n. 4, p. 296-301, Dec. 2015.

SILVA, A. P. et al. Effect of peroxide based bleaching agents on enamel ultimate tensile strength. **Oper Dent**, v. 30, p. 318-324, 2005.

SOARES, L. E. S. et al. Effects of Er:YAG laser irradiation and manipulation treatments on dentin components, part 1: Fourier transform-Raman study. **J Biomed Opt**, Bellingham, 14, n. 2, 2009.

SOUZA-GABRIEL, A. E. et al. Effect of bleaching protocols with 38% hydrogen peroxide and post-bleaching times on dentin bond strength. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 4, p. 317-321, 2011.

SULIEMAN, M. An overview of bleaching techniques: I. history, chemistry, safety and legal aspects. **Dent Update**, Londres, v. 31, p. 608-616, Dec. 2004.

SULIEMAN, M. et al. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. **J Dent**, Bristol, v. 32, p. 581-590, 2004.

SUNDFELD, R. H. et al. **Capítulo clareamento em dentes vitais com peróxido de carbamida**. Araçatuba, p. 1-17, 2013.

SWEETMAN, S. C. (Ed), **Martindale: The complete drug reference**. London: Pharmaceutical Press. 36th edition, Thomson Micromedex, Greenwood Village, Colorado, USA, 2009.

TITLEY, K. C.; TORNECK, C. D.; RUSE, N. D. The effect of carbamide-peroxide gel on the shear bond strength of a microfil resin to bovine enamel. **J Dent Res**, v. 71, p. 20-24, 1992.

TÜRKÜN, M.; KAYA, A. D. Effect of 10% sodium ascorbate on the shear bond strength of composite resin to bleached bovine enamel. **J Oral Rehabil**, v. 31, n. 12, p. 1184-1191, 2004.

TÜRKMEN, C.; GÜLERYÜZ1, N.; ATAL, P. Y. Effect of sodium ascorbate and delayed treatment on the shear bond strength of composite resin to enamel following bleaching. **Niger J Clin Pract**, v. 19, n. 1, p. 91-98, 2018.

UBALDINI, A. L. M. et al. Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. **J Dent Res**, v. 92, n. 7, p. 661-665, 2013.

VIDHYA, S. et al. Effect of grape seed extract on the bond strength of bleached enamel. **Oper Dent**, v. 36, p. 433-438, 2011.

WANG, Q. et al. *In situ* remineralization of partially demineralized human dentine mediated by a biomimetic non-collagen peptide. **Soft Matter**, p. 9673-9680, 2011.

WANG, Y.; YAO, X. Morphological/chemical imaging of demineralized dentin layer in its natural, wet state. **Dent Mater**, v. 26, p. 433-442, 2010.

WHANG, H-J; SHIN, D-H. Effects of applying antioxidants on bond strength of bleached bovine dentin. **Restor Dent Endod**, Seoul, p. 1-7, Sep. 2014.

XU, C. et al. Chemical/molecular structure of the dentin-enamel junction is dependent on the intratooth location. **Calcif Tissue Int**, v. 84, n. 3, p. 221-228, 2009.

Anexo 02

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa intitulada **Avaliação espectroscópica da influência do ascorbato de sódio na estrutura dentária após o clareamento e no tratamento restaurador - Estudo *in vitro***, que faz parte do curso de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá e é orientado pela Profa Dra Francielle Sato da Universidade Estadual de Maringá. Para a realização de restaurações com resinas compostas logo após o clareamento dentário recomenda-se aguardar sete dias, tempo dito como necessário para a liberação de moléculas de oxigênio restantes nos dentes como resultado do processo clareador. O objetivo desta pesquisa é avaliar a ação de um gel antioxidante (Ascorbato de sódio 20%) no processo de remoção do oxigênio logo após o clareamento dental, e a influência deste oxigênio na adesão do material resinoso ao dente logo após o clareamento, e logo após a aplicação do antioxidante. Estas ações/reações serão analisadas por meio da espectroscopia Raman (técnica que permite determinar a composição química de materiais), e Microscopia Eletrônica de Varredura (técnica que fornece fotografias de alta resolução para análise da adesão). Os testes serão realizados em laboratório (*in vitro*) com a utilização de dentes humanos saudáveis, após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

Os resultados obtidos servirão como base de dados para a realização, publicação e apresentação de trabalhos científicos. É direito do participante o esclarecimento de qualquer dúvida relacionada à realização da pesquisa. A participação será isenta de qualquer gasto ou recompensa, sendo totalmente voluntária. Além disso, o participante terá a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo.

Para isto a sua participação é muito importante, e ela se daria da seguinte forma: Após a extração dos seus dentes, por motivos periodontais (gingivais) e/ou ortodônticos (tratamento com aparelhos dentários), você assinará um termo de cessão desses dentes, estando ciente de que eles serão utilizados com a finalidade de realização de pesquisas em laboratórios. Quando desejar, você poderá requisitar novamente os dentes que foram cedidos, mesmo que estejam restaurados ou cortados.

Informamos que não há riscos inaceitáveis no desenvolvimento desta pesquisa. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa, e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Após a utilização do dente cedido, este material biológico será descartado da mesma forma como seria após sua extração, ou seja, em lixo hospitalar de material contaminado.

Com a utilização do dente doado, será possível testar em laboratório a ação do ascorbato de sódio em dentes recém-clareados, e observar sua influência durante a restauração, para que posteriormente este protocolo seja indicado na prática clínica odontológica. O benefício esperado será de proporcionar novos conhecimentos na área da odontologia adesiva, estabelecendo padrões de tratamentos que aumentem o tempo vida de restaurações dentárias realizadas após

o clareamento. Desta forma, com a comprovação deste produto, o participante poderá ser beneficiado diretamente com os resultados da pesquisa, posteriormente, quando tiver a oportunidade de realizar procedimentos restauradores imediatamente após o clareamento dentário, com tratamento prévio utilizando ascorbato de sódio. Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, pode nos contatar nos endereços abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEM, cujo endereço consta deste documento. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Além da assinatura nos campos específicos pelo pesquisador e por você, solicitamos que sejam rubricadas todas as folhas deste documento. Isto deve ser feito por ambos (pelo pesquisador e por você, como sujeito ou responsável pelo sujeito de pesquisa) de tal forma a garantir o acesso ao documento completo.

Eu, _____
(nome por extenso do sujeito de pesquisa) declaro que fui devidamente esclarecido e concordo em participar VOLUNTARIAMENTE da pesquisa coordenada pela Prof^a Dr^a Francielle Sato, aceitando ceder _____ dente(s) permanente(s) para o Departamento de Odontologia da UEM.

No caso de menor de idade, eu, _____ (nome por extenso do responsável pelo sujeito de pesquisa), responsável pelo menor _____ declaro que fui devidamente esclarecido e concordo em que ele (a) participe VOLUNTARIAMENTE da pesquisa coordenada pela Prof^a Dr^a Francielle Sato, aceitando ceder _____ dente(s) permanente(s) para o Departamento de Odontologia da UEM.

Estou ciente de que este(s) dente(s) foi (foram) extraído(s) por indicação terapêutica, como documentado em meu prontuário e de que o(s) mesmo(s) será(ão) utilizado(s) para pesquisa.

_____ Data: _____
Assinatura ou impressão datiloscópica

Eu, _____
(nome do pesquisador ou do membro da equipe que aplicou o TCLE), declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto de pesquisa supra-nominado.

_____ Data: _____
Assinatura do pesquisador

Qualquer dúvida com relação à pesquisa poderá ser esclarecida com o pesquisador, conforme o endereço abaixo:

Nome: Francielle Sato e Bárbara Grecco de Lima
Endereço: Av. Mandacarú, 1550, Maringá, PR
(telefone/e-mail): (44)3011-9051/ barbaragreccodelima@gmail.com

Qualquer dúvida com relação aos aspectos éticos da pesquisa poderá ser esclarecida com o Comitê Permanente de Ética em Pesquisa (COPEP) envolvendo Seres Humanos da UEM, no endereço abaixo:

COPEP/UEM

Universidade Estadual de Maringá.

Av. Colombo, 5790. Campus Sede da UEM.

Bloco da Biblioteca Central (BCE) da UEM.

CEP 87020-900. Maringá-Pr. Tel: (44) 3261-4444

E-mail: copep@uem.br