BRUNO ANTUNES LOPES

**Otimização do clareamento dental utilizando
Processos Oxidativos Avançados (POAs)**

São Paulo

2016

BRUNO ANTUNES LOPES

**Otimização do clareamento dental utilizando
Processos Oxidativos Avançados (POAs)**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em **Odontologia (Biomateriais e Biologia Oral)** para obter o título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Capel Cardoso

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Silva Costa Teixeira

São Paulo

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Lopes, Bruno Antunes.

Otimização do clareamento dental utilizando Processos Oxidativos Avançados (POAs) / Bruno Antunes Lopes ; orientador Paulo Eduardo Capel Cardoso. co-orientador Antônio Carlos Silva Costa Teixeira -- São Paulo, 2016.

136 p. : fig., tab.; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Biomateriais e Biologia Oral. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original

1. Clareamento dentário. 2. Corantes de Alimento. 3. Materiais dentários. I. Cardoso, Paulo Eduardo Capel. II. Teixeira, Antônio Carlos Silva Costa. III. Título.

Lopes BA. Otimização do clareamento dental utilizando Processos Oxidativos Avançados. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências.

Aprovado em: / /2016

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura _____

Dedico esse trabalho,

aos meus pais **Edmilson** e **Mônica**, cujo apoio, suporte e amor sempre estiveram presentes em toda minha vida, se esforçando ao máximo para que eu tivesse o melhor e pudesse correr atrás dos meus objetivos sem me preocupar com nada. Com certeza, devo tudo o que eu sou a vocês dois, exemplos de caráter, honestidade, respeito, ética e determinação, características estas que sempre irei me espelhar, para um dia conseguir ser a pessoa e o profissional que vocês são. Obrigado por tudo, amo vocês!

à minha irmã **Camilla**, além de irmã uma mãe também, sempre atenciosa e preocupada comigo. Não poderia ter recebido um presente melhor na minha vida do que essa pequena de cabelos rebeldes. Te admiro demais e tenho certeza que irá se tornar a melhor dentista que existe. Obrigado, te amo!

ao meu irmão **Raphael**, sempre me trazendo alegria e fazendo com que eu me sinta a pessoa mais importante do mundo na hora de passar, para ele, das fases difíceis no vídeo game. Obrigado, te amo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço, de maneira especial,

ao **Prof. Paulo Capel**, grande amigo e exemplo, muito obrigado por ter assumido a orientação deste trabalho e dividido comigo seus conhecimentos. Sou muito grato por todo carinho e confiança que o senhor depositou em mim. Já são mais de 4 anos de muita parceria, amizade e aprendizado, estando sempre presente e pronto a me ajudar para que eu superasse qualquer dificuldade. Com toda certeza, devo muito ao senhor pelo profissional e pessoa que estou me tornando.

ao **Prof. Antônio Carlos**, muito obrigado por ter aceitado a co-orientação deste trabalho. Um excelente professor, muito atencioso com enorme conhecimento. Aprendi muito com o senhor e tenho certeza que você foi fundamental para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

Agradeço, de maneira carinhosa,

à **Jomara Cardoso**, por todo carinho, incentivo e colaboração durante todos estes anos. Seu auxílio e atenção foram muito importantes para minha formação, sempre abrindo portas e me dando confiança para crescer.

à **Helena Burlamaqui**, por toda ajuda durante toda minha jornada, desde a iniciação científica até o termino do doutorado.

ao **Prof. Rafael Ballester**, por todos ensinamentos, dicas, auxílios e discussões, científicas ou não. Tenho o senhor como um exemplo de pessoa, sempre ético, dedicado e pronto a ajudar. Foi um prazer!

ao **Prof. Fernando Nogueira**, por disponibilizar o laboratório de bioquímica para a realização dos experimentos, além de sempre estar disponível para conversar e responder minhas dúvidas.

à todos os **professores do Departamento de Biomateriais e Biologia Oral**, pela amizade, convivência e grande aprendizado proporcionado.

ao **Prof Daniel Rettori** e a **Profª Carolina Giongo**, pessoas dedicadas que me ajudaram muito na reta final do trabalho. Obrigado por abrir as portas do seu laboratório para mim e por toda dedicação que tiveram comigo.

à **Rosinha** e **Eli**, por sempre resolverem todos os meus problemas administrativos, além da excelente convivência.

ao **Antônio**, sem você o departamento não anda, te devemos muito.

ao **Douglas**, por me auxiliar com toda parte experimental do trabalho. Sempre alegre e disponível para ajudar.

à querida **Dona Fran**, sempre me defendendo e torcendo por mim. A senhora é uma pessoa muito especial e só lhe desejo coisa boas. Você merece todo carinho que todos no departamento tem pela senhora. Muito obrigado pelas conversas, pelo apego e atenção que sempre teve comigo.

à **Mariana Dutra**, **Aline Rodrigues**, **Giovanna Leal** e **Allif Queiroz**, por todas as horas que passamos juntos. Além de conhecimento, pudemos compartilhar uma boa amizade. Torço pelo sucesso e crescimento de vocês.

aos amigos **Flávio Umeda, Pedro Albuquerque, Bernar Benites e Ezequias Rodriguez**, porque compartilhamos os compromissos e sacrifícios que a pós graduação nos empoeira. Sou muito grato pela amizade que criamos e tenho certeza que está irá continuar para o resto da vida.

aos **colegas de pós-graduação e graduação**, pela excelente convivência. Todos participaram de alguma forma para que este trabalho fosse desenvolvido.

aos amigos **Daniel Assis, Alexandre Augusto, Fernando Agra e Giuliano Russo**, vocês são os irmãos que eu escolhi e vou levar pela vida toda. Obrigado por sempre estarem presentes, devo muito a vocês.

à todos os **Éders**, pela amizade sempre presente. “Estamos”

as minhas avós **Clarice e Jacyra**, por todo carinho, amor e dedicação que sempre tiveram comigo. Amo vocês.

à **Ana Dias e Aline Santana**, por todas as risadas, conversas, ajuda e torcida. Sempre solícitas e atenciosas.

à **Glauci** por toda ajuda com a formatação e revisão deste trabalho

Agradeço, de modo institucional,

à **Capes**, pela bolsa de estudo concedida.

à **FOUSP** e ao **Departamento de Biomateriais e Biologia Oral** por me proporcionar o espaço e ambiente necessário pra realização deste trabalho.

à **Philips**, pelo apoio com os bocais necessários para ligar o LED.

à **Politécnica Rugby**, por todo crescimento pessoal que me foi proporcionado.

“O primeiro dever da inteligência
é desconfiar dela mesma”

Albert Einstein

RESUMO

Lopes BA. Otimização do clareamento dental utilizando processos oxidativos avançados (POAs) [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Original

Introdução: Para o clareamento dental de consultório usa-se basicamente peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em concentrações acima de 25%. Os processos oxidativos avançados, usados em engenharia, poderiam ser uma alternativa mais eficiente.

Objetivo: O objetivo deste trabalho é otimizar o clareamento dental, buscando a melhor combinação entre diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, complexos de ferro e o tempo de irradiação. **Materiais e métodos:** Parte 1 - foi realizada a otimização do clareamento utilizando corantes alimentares, buscando-se a melhor combinação entre H_2O_2 , complexo de ferro e tempo de irradiação para o clareamento de 3 corantes alimentares (Carmim, Índigo Carmim e Verde Rápido).

Parte 2 - foi verificada a produção de radicais hidroxila ($OH^\bullet$) para os diferentes processos clareadores por meio de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR). Parte 3 - utilizando os resultados obtidos na parte 1, realizou-se o clareamento em 42 dentes humanos. Estes foram divididos em 6 grupos ($n=7$) de acordo com a formulação clareadora proposta (2 fórmulas comerciais e 4 fórmulas experimentais). Grupo 1 – 30% de H_2O_2 por 45 minutos; Grupo 2 – 25% de H_2O_2 + 0,003% de gluconato ferroso (GF) + irradiação LED por 45 minutos; Grupo 3 – 10% de H_2O_2 + 0,016% de GF + irradiação LED por 45 minutos; Grupo 4 – 10% de H_2O_2 + 0,016% de citrato férrico (CF) + irradiação LED por 45 minutos; Grupo 5 – 0,01% de H_2O_2 + 0,009% de GF + irradiação LED por 45 minutos; Grupo 6 – 0,01% de H_2O_2 + 0,009% de CF + irradiação LED por 45 minutos. As alterações de cor foram aferidas utilizando escala de cor e espectrofotômetro digital. **Resultados:** Parte 1 - foi possível a obtenção de uma superfície de resposta para cada corante utilizado. O clareamento dos corantes Carmim e Verde Rápido se mostrou dependente da condição experimental, de modo que o valor ótimo para o clareamento de cada um é respectivamente: 10% de H_2O_2 + 0,016% de complexo de ferro + 45 minutos de irradiação e 0,01% de H_2O_2 + 0,009% de complexo de ferro + 35 minutos de irradiação.

Parte 2 - foi observada a produção de radicais $\text{HO}^\bullet$ nos diferentes processos avaliados. Parte 3 - na avaliação realizada com auxílio da escala de cor, a ordem decrescente de efeito clareador apresentado entre os grupos analisados foi: Grupos 3 e 4 > Grupo 2 > Grupos 1, 5 e 6. Já para a análise com espectrofotômetro digital a ordem decrescente foi: Grupos 2, 3 e 4 > Grupos 1, 5 e 6. **Conclusão:** a) A metodologia com corantes utilizada no estudo é promissora, sendo a reação de foto-Fenton a mais efetiva para a remoção de cor. b) Os corantes não interferiram na produção de radicais $\text{HO}^\bullet$, de modo que, esta foi dependente da presença de ferro, do aumento da temperatura ou da irradiação LED. c) As formulações experimentais 3 e 4 apresentaram o melhor resultado clareador.

Palavras-Chave: Clareamento Dentário; Corantes Alimentares; Processos Oxidativos Avançados; Foto-Fenton; Materiais Dentários.

ABSTRACT

Lopes BA. Optimization of tooth whitening using advanced oxidation processes (AOPs) [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Original

Introduction: Basically, hydrogen peroxide (H_2O_2) in concentrations above 25% is used for in office tooth whitening. The advanced oxidation processes used in engineering could be a more efficient alternative. **Objective:** The objective of this work is to optimize tooth whitening, seeking the best combination of different concentrations of hydrogen peroxide, iron complexes and irradiation time. **Methods:** Part 1 - optimization of whitening using food dyes was carried out, pursuing the best combination of H_2O_2 , iron complex and irradiation time for the bleaching of three food dyes (Carmine, Indigo Carmine and Green Fast). Part 2 - the production of hydroxyl radicals ($\text{OH}^\bullet$) for the different bleaching processes was verified by electron paramagnetic resonance spectroscopy (EPR). Part 3 - using the results obtained in part 1, whitening in 42 human teeth was carried out. These were divided into 6 groups ($n = 7$) according to the whitening formulation proposed (2 commercial formulas and 4 experimental formulas). Group 1 - 30% H_2O_2 for 45 minutes; Group 2 - 25% H_2O_2 + 0.003% ferrous gluconate (GF) + LED irradiation for 45 minutes; Group 3 - 10% H_2O_2 + 0.016% GF + LED irradiation for 45 minutes; Group 4 - 10% H_2O_2 + 0.016% ferric citrate (FC) + LED irradiation for 45 minutes; Group 5 to 0.01% H_2O_2 + 0.009% GF + LED irradiation for 45 minutes; Group 6 - 0.01% H_2O_2 + 0.009% CF + LED irradiation for 45 minutes. Color changes were measured using color scale and digital spectrophotometer. **Results:** Part 1 - it was possible to obtain a response surface for each dye used. The whitening of Carmine and Fast Green dye showed to be dependent on the experimental condition, so the optimum value for the bleaching of each one is respectively: 10% H_2O_2 + 0.016% iron complex + 45 min irradiation and 0.01% H_2O_2 + 0.009% iron complex + 35 minutes of irradiation. Part 2 – it was observed the production of $\text{OH}^\bullet$ radicals for the different processes evaluated. Part 3 - the assessment carried out with the aid of the color scale, the descending order of the bleaching effect obtained among the groups was: Groups 3 and 4 > Group 2 > Groups

1, 5 and 6. As for the analysis with digital spectrophotometer, the descending order was Groups 2, 3 and 4 > Groups 1, 5 and 6. **Conclusions:** a) the dyes methodology used in this study is promising, and the photo-Fenton reaction is more effective to remove color. b) The dyes do not interfere in the production of $\text{OH}^\bullet$ radicals, which was dependent on the presence of iron, increased temperature or LED irradiation. c) The experimental formulations 3 and 4 gave the best bleaching results.

Keywords: Dental whitening; Food dyes; Advanced Oxidation Processes; Photo-Fenton; Dental materials.

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Abs	Absorbância
C	Carmim
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CF	Citrato férrico
DMPO	5,5-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide
DMSO	Dimetilsulfoxido
DTPA	Ácido dietilenotriamina-pentacético
EPR	Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
GF	Gluconato ferroso
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HO•	Radical hidroxila
HO• ₂	Radical hidroperoxila
HOO•	Ânions hidroperoxila
IC	Índigo Carmim
LED	Diodo emissor de luz
MSR	Metodologia de superfície de resposta
min	Minuto
nm	Nanômetros
O•	Espécies reativas de oxigênio
O• ₂	Ânions de superóxidos

$O_2^{\bullet}$	Radical superóxido
O_3	Ozônio
POAs	Processos oxidativos avançados
TiO_2	Dióxido de titânio
UV	Ultravioleta
Vis	Visível
VR	Verde Rápido FCF

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
3	PROPOSIÇÃO	51
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	53
5	RESULTADOS	69
6	DISCUSSÃO	93
7	CONCLUSÃO.....	103
	REFERÊNCIAS.....	105
	ANEXOS	117

1 INTRODUÇÃO

O clareamento dental vem ganhando cada vez mais importância. Ao consultar a literatura entre as décadas de 1970 e 1990, o número de publicações na área era de 145 artigos completos. Hoje contabilizam-se aproximadamente 2000 textos, dentre os quais, mais de 500 foram publicados recentemente, entre 2010 e 2016 (Pubmed). Isto se justifica pelo fato de o clareamento dental apresentar baixo custo, ser efetivo e não sacrificar a estrutura dental sadia. Além disso, há uma crescente busca por parte dos pacientes por dentes claros, de aparência mais jovem e sadia.

Atualmente, o processo clareador em odontologia restringe-se basicamente à utilização de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou seus precursores, como o peróxido de carbamida ou o perborato de sódio ⁽¹⁾. Estas substâncias já são utilizadas há mais de 100 anos ⁽²⁾ e promovem bons resultados, porém ainda há espaço para melhorias, sendo que alternativas vêm sendo estudadas ⁽³⁻⁶⁾.

Dentre elas, tem-se a utilização de altas concentrações de H_2O_2 (25 a 38%), bem como a sua associação com fontes de radiação como, por exemplo, LED e Lasers ⁽⁷⁾.

Embora o aumento da concentração do H_2O_2 acelere o processo de clareamento, sendo dessa forma mais eficiente ⁽⁸⁾, o uso de fontes radiação ainda é muito controverso na literatura odontológica, não havendo consenso a respeito do seu real efeito sobre os peróxidos, ou mesmo sobre a sua eficácia no tratamento clareador ⁽⁹⁻¹²⁾.

Grande parte das pesquisas na área consistem em testes clínicos comparativos, utilizando peróxidos ou sua associação com fontes de radiação ⁽¹³⁻¹⁵⁾. Na maioria das vezes os estudos restringem-se apenas a mencionar que uma determinada fonte de luz influenciou ou não no processo de clareamento, sendo que, a compreensão dos fenômenos e processos químicos envolvidos não são abordados. Nesse sentido, é fundamental que se entenda o porquê dos resultados e consequentemente das reações envolvidas no processo, o que pode permitir, no futuro, o desenvolvimento de novos produtos, ou mesmo técnicas.

Num primeiro momento, talvez a resposta do que acontece durante o clareamento dental possa estar na engenharia química, nos chamados processos oxidativos avançados (POAs) ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Praticamente desconhecidos na odontologia, estes estudam as reações de diferentes oxidantes, assim como a potencialização das reações químicas de oxidação. Muito possivelmente os POAs podem ser uma excelente estratégia para entender e aumentar a eficiência dos peróxidos durante o clareamento dental.

Mais especificamente, estes processos buscam, através da combinação de oxidantes como, por exemplo, o peróxido de hidrogênio, associado à radiação ultravioleta ou visível, e a catalisadores como íons metálicos, a geração *in situ* de radicais hidroxila ($\text{HO}^\bullet$) ⁽¹⁷⁾, sendo estes fortes oxidantes. Estes promovem um grande aumento no potencial de oxidação, além de serem capazes de oxidar diversos compostos orgânicos, a exemplo dos corantes alimentares, apontados como um dos principais fatores responsáveis pelo escurecimento da estrutura dental ^(19, 20).

Dessa forma, o presente trabalho aplica uma nova abordagem no clareamento dental, utilizando como base o estudo dos POAs, procurando, além da realização de diversos testes utilizando corantes alimentares e dentes humanos, otimizar o fenômeno oxidativo e com isto, tornar possível o aperfeiçoamento de formulações já conhecidas, sendo estas cientificamente embasadas e compreendidas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A presente revisão de literatura aborda o estado da arte do clareamento dental e apresenta possíveis alternativas para a otimização do processo oxidativo. Além disso, descreve conceitos importantes de engenharia química para a compreensão da metodologia aplicada durante o estudo.

2.1 EVOLUÇÃO DO CLAREAMENTO DENTAL

Desde meados do século XIX a odontologia busca materiais e técnicas que promovam ou possibilitem a melhora da estética através do clareamento dental ⁽²¹⁻²³⁾. Inicialmente aplicado apenas em dentes desvitalizados, surge em 1848 o primeiro relato científico sobre clareamento, onde se utilizou o hipoclorito de cálcio como agente oxidante ⁽²⁴⁾. Posteriormente, em 1864, esta substância foi misturada ao ácido acético, dando origem ao que, por muito tempo, foi creditado como sendo o melhor clareador para dentes não vitais, comercialmente conhecido como solução de Labarraque ^(25, 26).

Outras substâncias também foram utilizadas durante este período, como, por exemplo, o ácido oxálico, ácido sulfúrico, cianeto de potássio, peróxido de sódio, hipofosfato de sódio, cloreto de alumínio, peróxido de éter (Pyrozone) e dióxido de hidrogênio (peróxido de hidrogênio). A maioria dessas substâncias agiam como oxidantes ⁽²⁷⁾.

Apesar destas primeiras publicações focarem principalmente o clareamento de dentes não vitais, em 1868, foram relatadas tentativas de clareamento em dentes vitais, utilizando-se o ácido oxálico e, posteriormente, o peróxido de éter ⁽²⁸⁾. Em 1910 é publicado o primeiro artigo onde o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi utilizado como clareador ⁽²⁾.

Com o passar do tempo, o H_2O_2 foi sendo cada vez mais usado como oxidante em dentes vitais e não vitais. Já em 1991, esta substância começou a ser associada a fontes de calor, instrumentos aquecidos, ou às fontes de luz para acelerar o processo clareador ⁽²⁶⁾.

Em 1968, o ortodontista Bill Klusmier notou que seus pacientes, ao utilizarem, um antisséptico bucal a base de 10% de peróxido de carbamida (Gly-Oxide), com o auxílio de moldeiras individualizadas, tinham seus dentes clareados ⁽²⁹⁾. Posteriormente, em 1989, Haywood e Heymann ⁽³⁰⁾ descreveram este procedimento como técnica de “clareamento dental de moldeira”, sendo que neste mesmo ano foram fabricados pela empresa Omni International os primeiros géis a base de peróxido de carbamida, na concentração de 10% ^(27, 28).

Desde então, a indústria vem desenvolvendo diversos produtos para o clareamento dental como, por exemplo, géis contendo altas concentrações de peróxido de hidrogênio ⁽²⁶⁾, diferentes fontes de luz para auxiliar no clareamento ⁽³¹⁾, bem como diferentes tipos de catalisadores para a melhora do resultado final ⁽³⁾. Porém, independentemente do produto utilizado, em termos de composição, praticamente nada mudou, sendo o peróxido de hidrogênio o principal princípio ativo no clareamento dental até o presente.

Atualmente existem 3 diferentes abordagens para realizar o branqueamento, sendo o clareamento feito em consultório, o caseiro supervisionado e o clareamento caseiro não supervisionado ^(29, 32, 33).

2.2 TÉCNICAS DE CLAREAMENTO DENTAL

2.2.1 Clareamento em consultório

O clareamento de consultório é indicado para pacientes que não disponham de muito tempo para o tratamento e queiram resultados rápidos, não gostem do sabor dos géis clareadores e apresentem qualquer desconforto ou impossibilidade em utilizar moldeiras como, por exemplo, pacientes que façam uso de placas de mordida ou contenções ortodônticas ⁽⁷⁾.

Neste tipo de abordagem são utilizadas altas concentrações de peróxido de hidrogênio (25 a 40%), aplicadas diretamente sobre a superfície dental, após à proteção dos tecidos moles da boca e olhos do paciente. Nesta técnica o cirurgião

dentista tem total controle sobre o procedimento, sendo possível encerrá-lo ou repeti-lo a qualquer momento ⁽²⁸⁾.

O efeito clareador pode ser notado na primeira sessão, porém, em alguns casos, mais sessões se fazem necessárias, tornando-o um procedimento mais caro ^(29, 34). Para evitar isso, além da aplicação de peróxidos em alta concentração, alguns fabricantes sugerem o uso de fontes de luz (hálogena, Laser, LED) para potencializar o clareamento ^(9, 10, 31).

O cirurgião dentista pode também lançar mão de uma técnica combinada, onde após o clareamento de consultório o paciente da continuidade ao tratamento, com a supervisão do dentista, através do tratamento caseiro supervisionado.

2.2.2 Clareamento caseiro supervisionado

O clareamento caseiro supervisionado consiste na aplicação de géis clareadores contendo peróxido de hidrogênio (7,5 – 14%) ou peróxido de carbamida em baixas concentrações (10 – 22%), sendo estas substâncias aplicados nos dentes com o auxílio de uma moldeira individualizada, por um período mínimo de 2 semanas ⁽²⁹⁾. As aplicações são feitas pelo próprio paciente e o mesmo deve retornar ao consultório periodicamente para a supervisão do cirurgião dentista ^(28, 35).

A avaliação do profissional é importante para verificar se a concentração do gel, assim como o período de utilização pelo paciente estão surtindo efeito clareador esperado. Além disso, a presença de sensibilidade dental, principalmente ao frio, pode ser um indicativo da necessidade de mudança de conduta por parte do profissional, alterando tanto a concentração do peróxido quanto o número de horas de utilização do gel pelo paciente.

Deve-se ainda destacar que os resultados obtidos estão diretamente relacionados à colaboração e adesão do paciente ao tratamento. Neste caso, a seleção do material que melhor se adeque às suas necessidades e à rotina se tornam essenciais ⁽³⁵⁾. Atualmente existem produtos para uso diurno, cujas aplicações são realizadas por, no mínimo 15 minutos e produtos de uso noturno, onde o paciente dorme com a moldeira contendo o gel clareador.

Mais recentemente, devido à grande aceitação, difusão e efetividade das técnicas de clareamento dental realizadas pelos profissionais, a indústria enxergou um grande nicho para a criação e comercialização de produtos de baixo custo, vendidos em supermercados e farmácias. O uso destes produtos por parte dos pacientes caracteriza a chamada técnica de clareamento caseiro não supervisionado e constitui uma terceira forma de abordagem para o clareamento dental.

2.2.3 Clareamento caseiro não supervisionado

O clareamento caseiro não supervisionado consiste na aplicação de produtos com baixa concentração de peróxido de hidrogênio (3-6%), sem o acompanhamento de um cirurgião dentista. O consumidor, além de escolher o produto (marca e concentração de peróxido) faz a aplicação, decide quando realizar, interromper e repetir o tratamento ^(28, 36). Paralelamente a isto, surgem diversos problemas devido à falta de supervisão, como a sensibilidade dental e presença de queimaduras nos tecidos moles da mucosa oral ⁽³⁷⁾.

Nestes produtos, o H_2O_2 está presente na forma de dentifrícios, enxaguatórios, fitas (whitening strips), pincéis (paint on), ou mesmo para a aplicação direta através de moldeiras pré-fabricadas ⁽²⁹⁾.

Independentemente da técnica, a escolha da melhor abordagem para a realização do clareamento dental deve levar em consideração a rotina do paciente, se o mesmo apresenta sensibilidade dentária, se há disponibilidade para uso de moldeiras e qual a expectativa para com o tratamento ⁽³⁴⁾. Além disso, para se ter maior previsibilidade no tratamento deve-se conhecer e avaliar as causas da pigmentação presente, uma vez que algumas manchas são mais sensíveis do que outras ao processo clareador ⁽³⁸⁾.

2.3 ETIOLOGIA DAS ALTERAÇÕES DE COR

A percepção da cor consiste na resposta psicofísica da interação física de um objeto com uma energia luminosa, no intervalo do espectro eletromagnético entre 400 a 700 nm ⁽³⁹⁾,

A coloração dental é um fenômeno complexo, sendo resultado principalmente do volume de absorção da luz por parte dos cromógenos (compostos que apresentem cor) presentes na estrutura dental, seguido pela luz que consegue atravessar ou ser refletida pela superfície irregular do dente até chegar aos olhos do observador ^(21, 40-42).

Os cromógenos, a exemplo dos corantes alimentares, são compostos orgânicos que apresentam em sua estrutura química grupos funcionais denominados cromóforos, como por exemplo, o grupo carboxila, aldeído, amino, haletos, dissulfeto, éster, éter, nitro, nitroso, tiocarbonila, tioeter e tiol. Estes grupos são caracterizados por apresentarem duplas ligações e absorção de energia eletromagnética na região do ultravioleta. Porém quando essas instaurações se apresentam conjugadas a outros grupos insaturados, a absorção de luz por essa molécula é deslocada para a região visível do espectro eletromagnético, gerando dessa forma cor para o composto em que estão presentes ^(19, 20).

A coloração dental é classificada de duas maneiras, dependendo da origem e localização dos cromógenos, podendo ser extrínseca ou intrínseca ao dente ^(34, 36).

2.3.1 Coloração extrínseca:

A coloração extrínseca ocorre pela deposição de cromógenos na superfície da estrutura dental. Pode ser direta, pelo consumo de chás, cafés, vinhos, tabaco e alimentos que contenham corantes ⁽⁴²⁻⁴⁴⁾, ou indireta, sendo associada ao consumo de antissépticos catiônicos e sais metálicos que ao se combinarem com outros elementos químicos causam a pigmentação ^(34, 42).

A atração de diferentes compostos ou materiais para a superfície dental desempenha um papel importante na deposição de pigmentações extrínsecas, uma

vez que estas interações permitem que o cromógeno se deposite na superfície dental. Estas podem ocorrer através de forças de Van Der Waals ou interações eletrostáticas, agindo por longos períodos, ou mesmo através de forças dipolo, efeitos hidrofóbicos e ligações de hidrogênio que agem por curtos períodos de tempo ^(42, 43).

Na maioria dos casos, as pigmentações extrínsecas podem ser removidas por meio de técnicas de abrasão como, por exemplo, a profilaxia ^(28, 45). Porém em alguns casos, devido a presença de falhas e trincas na superfície dental ou mesmo pelo consumo de corantes ácidos, pode ocorrer a internalização e incorporação destes pigmentos na estrutura dental, tornando-se dessa maneira, uma pigmentação do tipo intrínseca. Nestes casos é necessário o uso de géis clareadores para que os pigmentos sejam oxidados ^(42, 46, 47).

2.3.2 Coloração Intrínseca:

A coloração intrínseca ocorre pela mudança da estrutura (deposição de dentina secundária e terciária) ou composição do dente, bem como pela internalização de pigmentos ^(45, 48). Os cromógenos são encontrados profundamente no dente, principalmente na região da dentina ^(21, 49-51).

Podem ser de origem metabólica (alcaptonúria), iatrogênica (ingestão de tetraciclina durante a formação dental ou utilização de cimentos endodônticos a base de prata), hereditária (porfiria eritropoiética), traumática (hipoplasia de esmalte, hemorragia pulpar ou reabsorção radicular), ou pela internalização de pigmentos através de falhas ou porosidades no esmalte e dentina ^(34, 42).

Devido a sua localização, só é possível a remoção deste tipo de pigmentação através do clareamento dental, uma vez que o agente clareador possui a capacidade de penetrar na estrutura dental e oxidar os grupos cromóforos presentes na estrutura dental.

Nomeada “teoria dos cromóforos” ^(1, 21, 33), a interação entre o agente clareador e os grupos cromóforos, serve como base para explicar o mecanismo de ação do clareamento dental.

2.4 MECANISMO DE AÇÃO

O tratamento clareador é um processo dinâmico que se inicia pela difusão do agente clareador na estrutura dental até a sua interação com os pigmentos presentes nos dentes ^(8, 52, 53). Nela ocorre, principalmente a quebra de um grupo cromóforo e destruição de uma ou mais insaturações que estejam conjugadas a ele, promovendo a perda de cor (teoria dos cromóforos). Assim, o clareamento dental é resultado do processo de reações de oxirredução das moléculas orgânicas coloridas, transformando-as em compostos que absorvam menos luz ^(21, 54, 55).

O processo de oxirredução refere-se à transferência de elétrons entre espécies químicas que estejam reagindo entre si. De acordo com o número de elétrons no orbital molecular mais externo de uma determinada espécie, pode ocorrer a oxidação ou a redução da mesma. Quando ocorre perda de elétrons, diz-se que a substância foi oxidada. Já quando há ganho de elétrons, esta foi reduzida. É importante salientar que o processo de oxidação e redução ocorrem concomitantemente, dessa forma quando uma espécie é oxidada, a outra, ao mesmo tempo, é reduzida. Seguindo-se este raciocínio, a espécie oxidada é dita agente redutor, uma vez que promove a redução da outra espécie, e esta por sua vez é chamada de agente oxidante ^(56, 57).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é o principal agente oxidante no clareamento dental. Este pode ser utilizado de forma direta ou indireta através de seus precursores, como o perborato de sódio ou peróxido de carbamida ⁽¹⁾.

Apresentando-se na forma de pó, o perborato de sódio é mais utilizado para clareamento de dentes não vitais. Este, é misturado com água e com isso se dissocia em metaborato e peróxido de hidrogênio ⁽³⁴⁾.

Já o peróxido de carbamida é utilizado principalmente para o clareamento caseiro supervisionado. Quando em contato com a umidade presente na cavidade oral este se dissocia em peróxido de hidrogênio e uréia ⁽³³⁾.

O H_2O_2 apresenta-se como uma molécula altamente instável, capaz de produzir espécies reativas de oxigênio ($\text{O}^\bullet$; reação 1) e ânions hidroperoxila (HOO^- ; reação 2).

Além disso, reações diferentes podem ocorrer, promovendo a sua degradação formando radicais livres como o radical hidroxila ($\text{HO}^\bullet$; reação 3), o radical hidroperoxila ($\text{HO}_2^\bullet$; reação 4) e ânions de superóxidos ($\text{O}_2^\bullet$; reação 5) ^(28, 29, 34, 58, 59).

Todos estes radicais livres são oxidantes instáveis, e possuem em sua estrutura um elétron desemparelhado. Desta forma, para se tornarem estáveis devem se ligar a elétrons de outras moléculas.

É conhecido que os radicais $\text{HO}^\bullet$ e $\text{HO}_2^\bullet$ são capazes de atacar as duplas ligações presentes nos cromóforos e assim clarear o composto ⁽⁵⁴⁾. Vale ressaltar que todos os oxidantes possuem diferentes potenciais de clareamento, baseados no seu potencial de redução (E° , expresso em Volts), ou seja, quanto maior for o potencial de redução do oxidante, mais eficiente será o agente para atacar o cromóforo ^(17, 60).

Em ordem decrescente, o radical hidroxila apresenta alto potencial de redução ($\text{HO}^\bullet$: +2,800 V), seguido pelo ozônio (O_3 : +2,075), peróxido de hidrogênio (H_2O_2 : +1,780 V), hipoclorito de sódio (NaClO : +1,630 V), radical hidroperoxila ($\text{HO}_2^\bullet$: +1,510 V) e oxigênio (O_2 : +1,229 V) ⁽⁶⁰⁾.

Assim, devido ao alto potencial de redução dos radicais hidroxila, uma maior produção deste pode promover um aumento no efeito clareador, em comparação aos outros oxidantes.

É importante salientar que a taxa de decomposição e os tipos de espécies reativas formadas a partir do peróxido de hidrogênio vão depender de diversos fatores que podem influenciar no processo de clareamento dental ⁽²¹⁾.

2.5 FATORES QUE INFLUÊNCIAM O CLAREAMENTO DENTAL

Diversos estudos têm sido realizados em busca de maneiras para melhorar os resultados obtidos em um tratamento clareador. Suliman e colaboradores ⁽⁸⁾ avaliaram os efeitos de diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio no clareamento dental e observaram que há uma relação entre a concentração do H_2O_2 e o número ou tempo de aplicações necessárias para se chegar à uma mesma cor final B1 (Vita Classical). Eram necessárias mais aplicações do peróxido de hidrogênio em baixas concentrações (5% - 12 aplicações; 10% - 7 aplicações; 15% - 4 aplicações) se comparado a utilização de maiores concentrações de H_2O_2 (25% - 2 aplicações; 35% - 1 aplicação).

Outros autores obtiveram resultados semelhantes ⁽⁶¹⁻⁶³⁾ e demonstraram que a superioridade clareadora do peróxido mais concentrado em relação ao menos concentrado talvez se deva ao fato de que a penetração de radicais livres pelo esmalte e dentina é maior com o aumento da concentração de H_2O_2 utilizada ^(33, 51, 64).

Além da concentração e do tempo de aplicação, outros fatores também são significativos para o resultado final no tratamento clareador. O pH, a aplicação de luz, a temperatura, bem como a presença de catalisadores são importantes fatores na decomposição e difusão do agente clareador pela estrutura dental.

2.5.1 Efeito do pH

O pH do agente clareador tem grande influência nas reações de clareamento. Grande parte dos géis clareadores disponíveis no mercado são comercializados em pH ácido ^(65, 66). Dessa forma, a validade do produto é aumentada, uma vez que a dissociação do peróxido de hidrogênio é menor em pH abaixo de 7,0 ^(67, 68).

Contudo, estudos têm comprovado que os géis clareadores ácidos podem promover a desmineralização do esmalte e da dentina, bem como alterações na composição química do dente ^(60, 64, 69-71). Paralelamente a isto, o uso de peróxido de hidrogênio em meio alcalino (pH ~ 8-9) se mostrou mais eficiente em termos de clareamento, apresentando menor efeito deletério à estrutura dental ^(70, 72-75).

Esta maior eficiência na oxidação se deve ao fato de, em meio alcalino, ocorrer aumento na decomposição do H_2O_2 , inicialmente em cátions de hidrogênio (H^+) e ânions hidroperoxila (HOO^-). Este último irá reagir com outras moléculas de peróxido de hidrogênio, resultando na formação de radicais hidroxila ($\text{HO}^\bullet$) e hidroperoxila ($\text{HO}^\bullet_2$) (reação 6), responsáveis pelo clareamento ^(68, 74).

Além disso, estas reações bem como o processo de clareamento em si também podem ser influenciados pelo uso de fontes luminosas e aumento da temperatura, uma vez que a taxa de reação é maior em altas temperaturas ⁽⁶⁰⁾.

2.5.2 Efeitos da luz, temperatura e catalisadores

Fisicamente, as radiações eletromagnéticas são descritas pela oscilação de um campo elétrico e outro magnético (dualismo onda-partícula), perpendiculares entre si em relação a direção de propagação ^(17, 76), podendo também ser compreendida como o deslocamento de pequenas partículas, os fótons.

A luz visível (400 - 700 nm) é uma forma de radiação eletromagnética, correspondente a uma pequena faixa do espectro eletromagnético (figura 2.1). Este engloba desde a ondas de rádio até os raios gama, sendo classificados de acordo com a frequência de onda de cada tipo de radiação ⁽⁷⁷⁾.

Figura 2.1 - Esquema do espectro eletromagnético (<http://goo.gl/a7IJ59>)

As modificações químicas induzidas pela luz (radiação eletromagnética) com a matéria são chamadas de reações fotoquímicas. Didaticamente, são reações em que ocorre a absorção da radiação eletromagnética, provocando alterações na configuração eletrônica dos átomos ou moléculas, promovendo a transição do seu estado fundamental para um estado eletronicamente excitado, capaz de desencadear uma reação química ^(60, 78, 79).

Dessa forma, moléculas que se encontram no estado singlete fundamental (S_0), ao absorverem radiação eletromagnética que corresponda à diferença entre a energia no estado fundamental e no estado excitado, podem ser elevadas a um nível energético chamado estado singlete excitado (S_1 , S_2 e assim por diante), altamente reativo, cujo tempo de vida é extremamente curto. Nesses estados, os respectivos spins continuam emparelhados, porém em diferentes orbitais eletrônicos ^(80, 81).

Ao ocorrer a inversão do spin de um dos elétrons no estado singlete excitado, este pode se converter ao estado tripleto (T_1 , T_2 , T_3 e etc.), um estado de energia mais baixa que o singlete excitado, cujo tempo de vida é maior e consequentemente estão envolvidos na maioria das reações fotoquímicas ^(17, 81).

Após a formação dos estados excitados singlete e tripleto, estes podem participar de uma reação química ou perder a energia de excitação através de processos radioativos ou não radioativos ^(76, 82).

Como demonstrado no diagrama de Jablonski (figura 2.2), no decaimento radioativo, a molécula excitada, ao voltar ao seu estado fundamental, emite um fóton de luz (fluorescência e fosforescência), já no decaimento não radioativo, ocorre a

liberação de calor, sem a emissão de um fóton, por meio de conversão interna ($S_1 \rightarrow S_0$) ou por cruzamentos entre sistemas ($S_1 \rightarrow T_1$ ou $T_1 \rightarrow S_0$)^(17, 76).

Figura 2.2 - Diagrama de Jablonski: S_0 = estado singlete fundamental; S_1 = estado singlete excitado; T_1 = estado triplete excitado; * configuração eletrônica dos spins. Adaptado de Corrêa, Ivo Carlos 76

Já as reações químicas podem ocorrer pela conversão interna de S_1 para um nível vibracional mais alto que o estado fundamental S_0 (isomerização), pela fragmentação da molécula em radicais e íons (fotólise), ou pela colisão da molécula excitada S_1 com outra molécula e formação de um produto^(79, 81).

Com isso, diversos tipos de fontes luminosas têm sido utilizadas para “ativar” o gel clareador e acelerar o processo de clareamento^(4, 23, 34, 72, 83-86). Lâmpadas incandescentes como as halógenas, arcos de plasma e lasers (argônio, diodo e Nd: YAG), bem como os diodos emissores de luz (LED), e lâmpadas UV, são exemplos presentes no mercado odontológico⁽⁸⁷⁻⁸⁹⁾.

Em geral, estas fontes de luz podem promover a fotólise direta dos corantes presentes nos dentes, desde que os fótons sejam absorvidos diretamente pelo cromóforo e essa energia seja suficiente para quebrá-lo, ou por interações fotoquímicas com os componentes presentes nos géis clareadores^(60, 72).

Assim, existem duas maneiras pelas quais a interação entre a luz e o gel clareador pode ser benéfica. A primeira é pelo aumento da temperatura da reação, e a segunda é pela fotólise do peróxido de hidrogênio propriamente dito^(33, 90).

É aceito que o calor pode dissociar o peróxido de hidrogênio, aumentando a liberação de radicais hidroxila (reação 7) e também a sua penetração na estrutura dental^(60, 88, 91). A cada 10°C ganhos em temperatura há um aumento na

decomposição do peróxido em cerca de 2,2 vezes ^(33, 87). Por outro lado, ganhos acima de 5,5°C em temperatura podem levar a danos irreversíveis a polpa dental ⁽⁹²⁾.

Já em relação a fotólise do H_2O_2 , a radiação eletromagnética ($h\nu$) é absorvida pela molécula de H_2O_2 , rompendo uma de suas ligações químicas e consequentemente quebrando a molécula em dois radicais hidroxila (reação 3) ^(60, 87, 93, 94).

Vale ressaltar que para a fotólise do peróxido de hidrogênio ocorrer é necessário que o mesmo seja irradiado por radiações eletromagnéticas de comprimentos de onda na região do ultravioleta (300 nm ou menor, figura 2.3). Mas a maioria das fontes de luz utilizadas atualmente no mercado odontológico compreendem apenas o espectro visível da luz (400-700 nm) ^(90, 94). Apesar disso, Kashima-Tanaka ⁽⁹³⁾ observou a formação de radicais $\text{HO}^\bullet$ em amostras de H_2O_2 irradiadas com luz visível nos comprimentos de onda variando de 400 a 632 nm.

Figura 2.3 – Gráfico do espectro de absorção UV do peróxido de hidrogênio em meio aquoso. O H_2O_2 absorve energia eletromagnética apenas em comprimentos de onda abaixo de 300 nm. Adaptado de Oppenländer (2003), p.152, figura 6.5 ⁽¹⁷⁾

Existe, dessa forma, uma falta de consenso na literatura em relação a eficácia das fontes de luz para potencializar o tratamento clareador, uma vez que alguns

autores obtiveram efeitos positivos com o uso de fontes luminosas ^(4, 6, 10, 12, 15, 31, 85, 86, 95), e outros não ^(9, 11, 14, 96-98). Na tabela 2.1, é possível comparar algumas pesquisas *in vivo* ou *in vitro*, que avaliaram a influência de fontes de luz sobre o clareamento dental, bem como o uso de catalisadores e diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio.

Kwon e colaboradores ⁽¹⁰⁾, determinaram a eficácia de um tratamento clareador ativado por luz, através da aplicação *in vitro* de um gel clareador contendo 40% de peróxido de hidrogênio (Opalescence Boost, Ultradent Products) associado ou não a uma lâmpada de xênon. Os autores concluíram que a associação do peróxido de hidrogênio a 40% com a lâmpada de xênon teve um efeito positivo quanto ao clareamento dos dentes em comparação a aplicação de somente o peróxido de hidrogênio a 40%. Em contrapartida, Marson e colaboradores ⁽⁹⁶⁾ observaram em seu estudo clínico que a irradiação de um gel clareador, contendo peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP, MAXX-FGM) por fontes de LED, LED/Laser ou halógena não promoveu nenhuma melhora no efeito clareador em relação à utilização do peróxido de hidrogênio isoladamente sem fonte de luz auxiliar.

Tabela 2.1 - Referências bibliográficas relacionadas com os efeitos das fontes de luz no processo de clareamento dental

Autores	Espécime	Fonte de Luz	Oxidante	Catalisador	Efeito da luz
G. Lagori et al. 2015 (4)	"In vitro" (corantes)	UV (365 nm); Laser (405 nm); KTP Laser (532 nm)	25% de peróxido de hidrogênio	Gluconato ferroso	A luz teve um efeito positivo sobre a remoção da cor.
G. Lagori et al. 2014 (9)	"In vitro" (dentes bovinos)	Laser de diodo (810 nm); KTP Laser (comprimento de onda não informado)	30% de peróxido de hidrogênio	Não utilizou	O KTP laser teve efeito positivo sobre o clareamento, o laser de diodo teve efeito positivo apenas nos dentes corados com café.
J. F. Bortolatto et al. 2014 (6)	"In vivo"	LED/Laser (comprimento de onda não informado)	15 e 35% de peróxido de hidrogênio	TiO ₂ N (nano partículas de óxido de titânio)	A luz juntamente com o catalisador teve um efeito positivo sobre o clareamento.

B. J. Nutter et al. 2013 ⁽¹⁴⁾	"In vivo"	LED Azul (400-505 nm)	25% de peróxido de hidrogênio	Gluconato ferroso	O uso das lâmpadas não teve efeito sobre o clareamento.
P. Hahn et al. 2013 ⁽¹¹⁾	"In vitro" (dentes humanos)	Halógena (480-520nm); LED (430-480 nm); Laser de diodo (980 nm)	38% de peróxido de hidrogênio	Beta caroteno	Apenas a luz halógena teve efeito positivo sobre o clareamento..
R. K. Henry et al. 2013 ⁽⁸⁵⁾	"In vivo"	Lâmpada de arco de sódio (comprimento de onda não informado)	25% de peróxido de hidrogênio	Gluconato ferroso	A luz teve um efeito positivo sobre o clareamento.
S. R. Kwon et al. 2013 ⁽¹⁰⁾	"In vitro" (dentes humanos)	Lâmpada de xenon (comprimento de onda não informado)	40% de peróxido de hidrogênio	Não utilizou	A luz teve um efeito positivo sobre o clareamento.
S. Liang et al. 2012 ⁽¹²⁾	"In vitro" (dente humano)	Halógena (380 – 780 nm)	35% de peróxido de hidrogênio	Não utilizou	A luz teve um efeito positivo sobre o clareamento.
P. R. Pleffken et al. 2012 ⁽⁹⁵⁾	"In vitro" (dente bovino)	Laser de diodo (660 nm)	35% de peróxido de hidrogênio (verde)	Não utilizou	A luz teve um efeito positivo sobre o clareamento.
D. A. N. L. Lima et al. 2009 ⁽⁹⁷⁾	"In vitro" (dente humano)	Halógena (350 – 500nm); LED/ Laser de diodo (450-500 nm); Laser de argônio (488nm); lâmpada de arco de plasma (440-500nm)	35% de peróxido de hidrogênio e 37% de peróxido de carbamida	Não utilizou	Apenas a lâmpada halógena teve efeito positivo sobre o clareamento.
J. C. Ontiveros et al. 2009 ⁽¹⁵⁾	"In vivo"	Lâmpada de iodeto de arco curto (350-600 nm)	25% de peróxido de hidrogênio	Gluconato ferroso	A luz teve um efeito positivo sobre o clareamento.

Y. Suyama et al. 2009 (86)	“In vitro” (solução de azul de metileno)	Halógena e LED azul (comprimentos de onda não informados)	3,5% de peróxido de hidrogênio	TiO ₂	As lâmpadas tiveram um efeito positivo sobre a remoção da cor.
F. C. Marson et al. 2008 (96)	“In vivo”	Halógena (400-500 nm); LED (450-500 nm); LED/Laser (470 nm)	35% de peróxido de hidrogênio	Não utilizou	O uso das lâmpadas não melhorou o resultado do clareamento.
K. Luk et al. 2004 (98)	“In vitro” (dentes humanos)	Halógena (400-500 nm); Infravermelho (2000-4000 nm); Laser de argônio (488 nm); Laser de dióxido de carbono (10600 nm)	35% de peróxido de hidrogênio ou 10 % de peróxido de carbamida	Beta caroteno no gel contendo 35% de peróxido de hidrogênio	Luz pode ou não ajudar, depende da lâmpada e do gel utilizado.
M. Tavares et al. 2003 (31)	“In vitro” (dentes humanos)	Lâmpada de gás de plasma de arco curto (400-505)	15% de peróxido de hidrogênio	Não utilizou	A luz teve um efeito positivo sobre o clareamento.

Em parte, a diferença entre os estudos se deve às várias fontes de luz, bem como as diferentes fórmulas dos clareadores (88), uma vez que as substâncias presentes nas fórmulas dos géis clareadores são diversas e podem ou não absorver energia eletromagnética das diversas fontes de luz disponíveis.

Seguindo este raciocínio, os fabricantes têm incorporado em seus clareadores diferentes compostos para atuarem como catalisadores. O beta caroteno, um corante vermelho alaranjado é um exemplo. Devido ao seu espectro de absorção estar entre 400 e 500 nm, ele é compatível com a maioria das fontes de luz disponíveis no mercado odontológico, ou seja, capaz de absorver e transferir a energia eletromagnética absorvida da fonte luminosa para o peróxido de hidrogênio, otimizando assim a reação de clareamento (11, 79, 82, 88, 98).

Além das diferentes fontes de luz, recentes estudos na odontologia têm utilizado íons metálicos como Ferro (Fe), Cobre (Cu), Cromo (Cr) e o Manganês (Mn).

Estes agem como catalisadores, promovendo a dissociação do peróxido de hidrogênio em radicais livres como os radicais hidroxila (3, 5, 74, 99). Dentre os vários compostos metálicos, o ferro vem sendo amplamente usado como catalizador, principalmente na engenharia química. Sua reação com o H_2O_2 é conhecida como reação de Fenton (100, 101), está, além de muito conhecida, é comprovadamente eficiente (102, 103).

A reação de Fenton é muito utilizada, principalmente na limpeza de efluentes industriais, compondo uma área de estudo que conta com diversos tratamentos químicos, conhecidos como os processos oxidativos avançados (POAs) (16, 18, 104).

2.6 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS.

Os processos oxidativos avançados (POAs) promovem, através do emprego de diferentes oxidantes, como o H_2O_2 e o Ozônio (O_3), a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (105-108) como, por exemplo, o radical hidroperoxila ($\text{HO}^\bullet_2$), o radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e principalmente o radical hidroxila ($\text{HO}^\bullet$). Este último, um agente com elevado poder oxidante, extremamente reativo e de reduzida seletividade, capaz de oxidar uma grande diversidade de compostos orgânicos, a exemplo dos corantes alimentares (105, 108).

Assim como no clareamento dental, a eficiência dos diferentes POAs está fortemente ligada a produção dos radicais hidroxila, uma vez que estes apresentam o maior potencial de redução ($E^0 = 2,80 \text{ V}$) dentre as espécies citadas (16, 18).

Em geral, estes processos distinguem-se pelo tipo de oxidante empregado e pelos meios utilizados para a sua ativação, como catalisadores e efeitos fotoinduzidos (109). Os principais tipos de POAs estão citados na tabela 2.2. Nestes, os processos que contém catalisadores sólidos, são chamados de heterogêneos, enquanto os outros são denominados homogêneos.

Tabela 2.2 - Principais processos oxidativos avançados com e sem irradiação

	Sistemas homogêneos	Sistemas heterogêneos
Com irradiação	O ₃ /UV O ₃ /H ₂ O ₂ /UV H ₂ O ₂ /UV Foto-Fenton	TiO ₂ /UV TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV
Sem irradiação	O ₃ /H ₂ O ₂ Reação de Fenton	

2.6.1 Processos Heterogêneos

Os processos heterogêneos são caracterizados pela presença de semicondutores sólidos, como, por exemplo, o dióxido de titânio (TiO₂) ^(17, 110). Estes semicondutores possuem duas regiões energéticas em seu conjunto de átomos. A primeira possui um nível de energia mais baixo chamada de banda de valência, e uma segunda, com energia mais alta, onde os elétrons possuem livre movimento, a banda de condução. A diferença entre essas duas bandas é denominada *band-gap* ⁽¹⁸⁾.

Ao absorver radiação eletromagnética com energia maior ou igual ao *band-gap*, ocorre a promoção de elétrons da banda de valência para a banda de condução, gerando assim um par elétron/lacuna (e⁻/h⁺) como demonstrado na reação 8 ⁽¹⁶⁾.

Esse par migra para a superfície do semicondutor, podendo sofrer recombinação externa ou participar de reações de oxirredução de espécies adsorvidas a superfície como a água (H₂O) e íon hidroxila (OH⁻), produzindo os radicais hidroxila (reação 9 e 10) ⁽¹⁶⁾.

Além disso, o oxigênio (O_2) pode aprisionar elétrons da banda de condução dando origem ao íon radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) (reação 11) ⁽¹⁰⁴⁾, desencadeando uma série de reações que levam a formação final de peróxido de hidrogênio, sendo este capaz de melhorar ainda mais a taxa de fotodegradação, pela formação de mais radicais hidroxila, de acordo com as reações 12 e 13 ^(17, 104).

O mercado odontológico atual conta com apenas um produto que utiliza esta tecnologia (Pyrenes, Mitsubishi Gas Chemical Company). Alguns estudos têm demonstrado efeitos benéficos do uso de TiO_2 para o clareamento dental ^(5, 6, 86). Suyama e colaboradores ⁽⁸⁶⁾, avaliaram, *in vitro*, a degradação de uma solução do corante azul de metileno frente a utilização isolada ou em conjunto de H_2O_2 e TiO_2 , com aplicação de diversas fontes de luz, para simular dessa forma um clareamento dental. Os autores observaram que a mistura de H_2O_2 e TiO_2 fotocatalisada, apresentou resultados melhores em relação à perda de cor da solução quando comparado ao uso de H_2O_2 e TiO_2 isolados.

Outras reações também podem favorecer o clareamento dental pela produção de radicais hidroxila, como, por exemplo, os processos homogêneos que contêm apenas fases líquidas nos seus sistemas de reações.

2.6.2 Processos Homogêneos

Os processos homogêneos utilizam o ozônio (O₃) ou peróxido de hidrogênio para a geração dos radicais hidroxila sem a presença de catalisadores sólidos no sistema de reação ^(16, 18, 104).

2.6.2.1 Ozonização

A degradação de compostos orgânicos através do O₃ pode ocorrer de forma direta em uma reação entre o próprio O₃ e o composto orgânico a ser oxidado, ou de forma indireta, pela produção de radicais HO[•] a partir da decomposição do ozônio, de acordo com as reações 14 e 15 ^(18, 111). Nelas, o ozônio, ao reagir com íons hidroxila provenientes do meio, gera os radicais hidroperoxila. Estes interagem com outras moléculas de ozônio, dando origem aos radicais hidroxilas, capazes de reagirem com os compostos orgânicos de 10⁶ a 10¹² vezes mais rápido que o ozônio sozinho ⁽¹¹²⁾.

Na presença de radiação ultravioleta e água, pode ocorrer a fotólise do ozônio com a produção de peróxido de hidrogênio (reações 16), este, também sofre fotólise devido a irradiação, liberando mais dois radicais hidroxila (reação 3) ⁽¹¹¹⁾.

Recentemente um estudo em odontologia, utilizando dentes humanos recém extraídos, demonstrou a superioridade de um tratamento clareador utilizando o ozônio juntamente com peróxido de hidrogênio a 38% em comparação a aplicação de apenas

peróxido de hidrogênio a 38% ⁽¹¹³⁾. Em contrapartida, outra pesquisa não obteve os mesmos resultados ⁽¹¹⁴⁾.

Já em relação a utilização do peróxido de hidrogênio, a produção de radicais hidroxila pode ocorrer por fotólise direta do mesmo através da irradiação UV como demonstrado na reação 3 ou pela sua reação com íons ferrosos de acordo com a reação de Fenton (reação 17) ^(103, 106, 115).

2.6.2.2 Reações de Fenton

Descoberta por Henry John Horstman Fenton há mais de um século (1894) ⁽¹⁰⁰⁾ e descrita em 1934 por Fritz Haber e Joseph Weiss ^(101, 116), a geração de radicais hidroxila, pela decomposição de H₂O₂, catalisada por íons ferrosos (Fe²⁺) em meio ácido, ocorre de acordo com a reação 17 ^(102, 115, 117).

Na reação de Fenton, íons ferrosos que se encontram em solução aquosa na forma de aquo-complexos, são oxidados pelo peróxido de hidrogênio, dando origem a íons férricos (Fe³⁺), além da formação de um íon hidroxila e um radical hidroxila^a. Esta é uma forma simples de produção de HO[•], uma vez que não é necessário o uso de nenhum equipamento especial ⁽¹⁶⁾.

Em valores de pH próximos de 2,7- 2,8 também pode ocorrer a redução do Fe³⁺ a Fe²⁺ pela decomposição do H₂O₂ catalisada por Fe³⁺ (reação 18 e 19). Entretanto esta redução ocorre de maneira mais lenta do que a oxidação do Fe²⁺, o que favorece o predomínio do Fe³⁺ no sistema, diminuindo sua efetividade na produção de radicais hidroxila ^(16, 106, 117).

^a Radical livre refere-se a um átomo ou molécula altamente reativo, pois apresentam elétrons desemparelhados na sua última camada eletrônica.

Além disso, a radiação eletromagnética na região UV/Visível é capaz de catalisar a formação de radicais hidroxila (reação 20), pela redução fotoquímica do Fe^{3+} a Fe^{2+} ⁽¹¹⁷⁾. Esta reação é chamada de foto-Fenton, sendo que uma vez reduzido a Fe^{2+} , este pode novamente reagir com outra molécula de H_2O_2 como demonstrado na reação 11, tornando cíclicas as reações 11 e 14 até que todo o H_2O_2 seja totalmente consumido ^(16, 115, 117).

Atualmente existe apenas um produto que utiliza este tipo de tecnologia para o clareamento dental. Desenvolvido pela Discus Dental e hoje comercializado pela Philips, o kit de clareamento ZOOM! conta com um gel contendo 25% de peróxido de hidrogênio, gluconato ferroso como catalisador, além de uma lâmpada LED (450 nm) como fonte de luz.

Este tipo de tecnologia é promissora, mostrando resultados favoráveis em diversos estudos ^(4, 15, 72, 85).

Lagori e colaboradores ⁽⁴⁾ estudaram, *in vitro*, os efeitos do peróxido de hidrogênio e das reações de Fenton e foto-Fenton sobre a degradação de soluções do corante Rodamina B, simulando o clareamento dental. Os autores observaram uma melhora significativa na eficiência da degradação do corante frente ao processo de Fenton em comparação a utilização de somente o H_2O_2 . Além disso, a adição de uma fonte de luz ao processo (reação de foto-Fenton), mostrou melhor desempenho em relação aos outros grupos.

Porém ainda restam dúvidas quanto aos tipos de catalisadores que devem ser utilizados (gluconato ferroso, citrato férrico, sulfato férrico; etc.) bem como sua concentração no gel clareador para que o mesmo seja o mais eficiente possível, utilizando o mínimo de peróxido de hidrogênio para o clareamento dental.

Para responder a estas questões referentes ao POAs, frequentemente são encontrados na literatura de engenharia química relatos sobre o uso de uma metodologia de pesquisa denominada metodologia de superfície de resposta. Esta é uma técnica de otimização baseada em planejamentos fatoriais, utilizando parâmetros

estatísticos para definir as combinações ideais de reagentes, modelando os diversos processos químicos.

2.7 MÉTODOLOGIAS DE ESTUDO

Tradicionalmente, quando se busca melhorar a performance de um sistema ou processo que sofra influência de diversas variáveis (fatores), como, por exemplo, o processo clareador, fixa-se um dos fatores em um certo nível e varia-se o outro até encontrar em qual valor estes fatores apresentam o rendimento máximo. Porém neste tipo de abordagem é ignorada a possibilidade de influência mútua entre eles, de maneira que o valor ótimo de uma variável pode depender do nível da outra, tornando impossível descrever completamente os efeitos das variáveis sobre a resposta ⁽¹¹⁸⁾. Além disso, o número de experimentos para se conseguir respostas são grandes, o que implica em um maior custo de materiais e, principalmente, tempo ⁽¹¹⁹⁾.

Dessa maneira, a melhor abordagem quando se tem muitos fatores é variar todos os fatores ao mesmo tempo, utilizando técnicas de estatística multivariada, como, por exemplo, a metodologia de superfície de resposta, muito utilizada no estudos dos POAs ⁽¹¹⁹⁾.

A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi desenvolvida por Box e colaboradores em 1987 ⁽¹²⁰⁾, sendo esta, uma coleção de técnicas matemáticas e estatísticas baseadas no ajuste de funções polinomiais aos dados experimentais observados (planejamento experimental fatorial), demonstrando, através de previsões estatísticas, o comportamento da resposta frente aos diversos fatores envolvidos ^(118, 119, 121, 122).

A MSR busca a otimização de processos, sendo importante no planejamento, desenvolvimento e formulação de novos produtos, bem como na melhora de produtos e projetos já existentes ⁽¹²²⁾.

Em odontologia não existem relatos sobre o uso desse tipo de metodologia para a otimização do clareamento dental. Os estudos, em sua maioria, são comparações diretas, *in vivo* ou *in vitro*, dos resultados obtidos pelo uso de diferentes sistemas de clareamento disponíveis no mercado ^(6, 13, 44, 85, 96-98). Estas comparações podem ser

feitas de maneira visual/subjetiva com o auxílio de escalas de cor, ou eletrônica/objetiva, através do uso de um aparelho digital ^(33, 61).

O método visual consiste na utilização de escalas de cor, como, por exemplo, a escala Vitapan Classic e Vita Bleached (Vita Zahnfabrik, Alemanha) para a comparação visual entre a cor, antes e após o clareamento dental. Este método possui limitações devido ao pequeno espaço de cor nas escalas utilizadas, além de requerer treinamento do operador, bem como a padronização da condição de luz ambiente ^(88, 123).

Para o método objetivo, vários aparelhos eletrônicos de alta precisão como, por exemplo, colorímetros e espectrofotômetros são utilizados. Estes equipamentos, a partir de medidas da refletância e transmitância, convertem a cor do dente em valores numéricos, além de posicioná-lo num espaço tridimensional universal de acordo com o sistema CIE lab. Este sistema representa um espaço tridimensional de cor, designados por 3 eixos L^* , a^* e b^* (figura 2.4).

Figura 2.4 – Desenho esquemático do espaço de cor tridimensional CIE Lab (<http://goo.gl/igLxcU>)

As medidas de L^* medem a luminosidade do objeto, variando de 0 a 100. O zero representa a escuridão total (preto) e o 100 a total reflexão difusa (branco). A medida de a^* representa a cor no eixo vermelho-verde, onde valores positivos de a^* representam a cor vermelha e valores negativos a cor verde. Já o b^* representa a cor no eixo amarelo-azul, onde os valores positivos de b^* representam a cor amarela e valores negativos o azul ⁽⁴⁰⁾.

Assim em um clareamento dental espera-se um aumento nos valores de L^* e uma diminuição nos valores de a^* e b^* .

Como vantagem da utilização do sistema CIE Lab tem-se que as diferenças de cor podem ser expressas por unidades numéricas a partir do cálculo de ΔE , e podem

dessa maneira ser relacionadas com a percepção visual e com os resultados clínicos obtidos ⁽⁴⁰⁾.

Porém, ressalvas quanto a reprodutibilidade das medições deve ser feitas, uma vez que o local de contato ou a angulação do aparelho com o dente podem interferir na análise. Para contornar isso, pesquisadores utilizam guias individualizados para o alinhamento da medição, permitindo uma maior reprodutibilidade no posicionamento do aparelho ⁽⁸⁸⁾.

Devido ao grande número de fatores inerentes a estrutura dental, que pode influenciar no clareamento dental como, por exemplo, a difusão química do agente clareador e as propriedades ópticas dos dentes, mais recentemente tem sido proposta novas metodologias para o estudo do clareamento sem a utilização de dentes.

Nestes estudos a forma de ação dos diversos processos de clareamento é avaliada por meio de absorção óptica em soluções contendo corantes. Desta maneira, a quantidade de corante presente na solução após um tratamento clareador serve como um parâmetro para quantificar o efeito clareador dos diferentes processos ^(4, 72, 75, 86). Este tipo de abordagem é uma boa alternativa para estudos de otimização, uma vez que proporciona reprodutibilidade, rapidez e variabilidades mínimas ao processo.

2.7.1 Outras metodologias importantes

Como visto anteriormente, os radicais hidroxila ($\text{HO}^\bullet$), são fortes oxidantes e têm papel importante nos processos de clareamento dental ⁽¹²⁴⁾. Sendo a sua identificação de fundamental importância para o estudo e otimização dos processos envolvidos no clareamento.

Uma vez que estes radicais possuem um tempo de vida muito curto, a sua detecção em sistemas dinâmicos, como no caso do clareamento dental, fica dificultada ^(124, 125).

Com isso, “spin-trapings” têm sido utilizados para a detecção dos radicais $\text{HO}^\bullet$. Nesta técnica, quaisquer radicais livres que possuem um tempo de vida curto, reagem com os chamados “spin-trapings”, por exemplo, o 5,5-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide

Figura 2.6 – Espectro característico obtido por meio de EPR de dois adultos diferentes [DMPO-OH (a); DMPO-OCH₂CH₃ (b)], formados a partir da reação do spin-trap DMPO com diferentes radicais livres ⁽¹²⁵⁾

Assim, a espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica pode fornecer dados importantes como, por exemplo, a identidade, e concentração de radicais livres presentes, bem como sua estrutura, mobilidade e possíveis interações que possam ocorrer nos diferentes processos oxidativos utilizados para o clareamento dental.

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi otimizar o clareamento dental, buscando a melhor combinação entre diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, complexos de ferro e o tempo de irradiação.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolvimento de um modelo de estudo *in vitro* para avaliar o rendimento de processos de clareamento através do uso de corantes alimentares.
- Verificar a existência de radicais hidroxila nos processos oxidativos utilizados para o clareamento dental, bem como, avaliar a influência de diversos fatores para sua produção.
- Validar as fórmulas obtidas no estudo com corantes por meio do clareamento de dentes hígidos, comparando-as a formulações comerciais largamente empregadas em odontologia.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi dividido em três partes, de acordo com os objetivos propostos. Primeiro foi realizada a otimização do clareamento utilizando corantes alimentares, buscando assim a melhor combinação entre os diversos reagentes utilizados para a oxidação dos corantes, de maneira que o efeito clareador seja potencializado. Posteriormente mensurou-se a produção de radicais hidroxila nos processos clareadores por EPR e, por fim, realizou-se o clareamento otimizado, baseado nos resultados obtidos na primeira etapa em dentes humanos.

4.1 OTIMIZAÇÃO DO CLAREAMENTO UTILIZANDO CORANTES ALIMENTARES

Neste estudo *in vitro* buscou-se otimizar a da degradação de 3 corantes alimentares frente a diversos processos oxidativos, baseados na reação de foto-Fenton. Foram utilizadas diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, complexos de ferro, além da irradiação das soluções com uma lâmpada de LED azul em diversos tempos.

4.1.1 Materiais utilizados

Para a realização dos experimentos, foram utilizados os corantes alimentares e reagentes presentes na tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Corantes, complexos de ferro e oxidante utilizados no estudo

Nome/Tipo	Lote	Fabricante	Concentração	Estrutura molecular
Carmim (C) CAS 1390-65-4; CI 75470/Corante	041M1760V	Sigma-Aldrich	0,17 g/L (0,34 mM/L)
Índigo Carmim (IC) CAS 860-22-0; CI 73015/Corante	MKBJ6413V	Sigma-Aldrich	0,05 g/L (0,107 mM/L)
Verde rápido FCF (VR) CAS 2353-45-9; CI 42053/Corante	110M1251V	Sigma-Aldrich	0,013 g/L (0,016 mM/L)
Gluconato ferroso (GF) CAS 699014-53-4/Complexo de ferro	BCBF4625V	Sigma-Aldrich	As concentrações utilizadas variaram conforme planejamento experimental
Citrato férrico (CF) CAS 3522-50-7/Complexo de ferro	041M0183V	Sigma-Aldrich	As concentrações utilizadas variaram conforme planejamento experimental
Peróxido de hidrogênio/Oxidante	169219	Synth	As concentrações utilizadas variaram conforme planejamento experimental

Para irradiação das soluções, utilizou-se uma fonte de luz LED azul (Philips, ZOOM!; λ : 410-480 nm; figura 4.1). A irradiância da fonte foi medida por meio de um espectro radiômetro (Luzchem, SPR-4002), obtendo-se $2500 \text{ mWm}^{-2}\text{nm}^{-1}$.

Figura 4.1 - Irradiância espectral da fonte de LED

4.1.2 Grupos experimentais

A otimização da oxidação dos 3 corantes, seguiu um planejamento experimental composto central 2^3 (tabela 4.2). Este tipo de planejamento é um modelo quadrático e, dessa forma, fornece maior confiabilidade nos efeitos revelados, uma vez que leva em consideração os possíveis efeitos sinérgicos e antagônicos entre as variáveis ⁽¹¹⁸⁾.

Tabela 4.2 - Planejamento composto central 2^3

Ensaio	[%] de complexo de ferro	[%] de H_2O_2	Tempo de irradiação (min)
1	0	0	0
2	-1	-1	-1
3	1	-1	-1
4	-1	1	-1
5	1	1	-1
6	-1	-1	1
7	1	-1	1
8	-1	1	1
9	1	1	1
10	-1,68	0	0
11	1,68	0	0
12	0	-1,68	0
13	0	+1,68	0
14	0	0	-1,68
15	0	0	+1,68
16	0	0	0

Tal planejamento é composto por 3 partes: uma parte chamada fatorial (cúbica), de coordenadas +1 e -1. Uma parte em estrela (axial) de coordenadas +1,68 e -1,68, e o ponto central de coordenada 0 (figura 4.2).

Figura 4-2 – Esquema do planejamento composto central para 3 fatores. Os círculos cinza são a parte cúbica (+1 e -1), os círculos pretos representam a parte estrela (+1,68 e -1,68) e o círculo branco o ponto central (0)

Para a realização do planejamento composto central, inicialmente foram definidos os valores para cada uma das 3 partes, estabelecendo dessa forma os pontos cúbicos, a parte axial e o ponto central (tabela 4.3) para cada variável (concentração de H_2O_2 ; concentração dos complexos de ferro e tempo de irradiação com LED).

Tabela 4.3 - Planejamento experimental do tipo composto central 2^3

Ensaio	[%] de complexo de ferro	[%] de H_2O_2	Tempo de irradiação (min)
1	0,009%	0,9%	30
2	0,0045%	0,45%	15
3	0,0135%	0,45%	15
4	0,0045%	1,35%	15
5	0,0135%	1,35%	15
6	0,0045%	0,45%	45
7	0,0135%	0,45%	45
8	0,0045%	1,35%	45
9	0,0135%	1,35%	45
10	0,00143%	0,9%	30
11	0,0165%	0,9%	30
12	0,009%	0,14%	30
13	0,009%	1,65%	30
14	0,009%	0,9%	5
15	0,009%	0,9%	55
16	0,009%	0,9%	30

Os valores de gluconato ferroso, citrato férrico e H_2O_2 utilizados basearam-se em resultados de estudo piloto realizado previamente. Nestes ensaios, foi constatado que o sistema não estava completamente otimizado na faixa de valores explorada, variando entre 10 a 30% as concentrações de peróxido de hidrogênio utilizadas e entre 0,003 a 0,009% para os complexos de ferro. Isto evidencia que ainda é possível diminuir as concentrações de H_2O_2 , bem como, explorar valores acima de 0,009% para os complexos de ferro.

4.1.3 Caracterização dos corantes e Obtenção de curva padrão

Previamente ao início dos testes, foram obtidos, por meio de medidas de absorvância, em espectrofotômetro (Beckman Coulter, DU 800) os espectros de absorção UV-Vis de cada corante utilizado (figuras 4.3, 4.4 e 4.5).

Figura 4.3 – Distribuição espectral da absorvância (abs) do corante Carmim

Figura 4.4 - Distribuição espectral da absorvância (abs) do corante Índigo Carmim

Figura 4.5 - Distribuição espectral da absorvância (abs) do corante Verde Rápido FCF

Uma vez que a absorção de cada substância em bandas de comprimentos de onda diferentes é exclusiva de cada uma e dependente de sua estrutura molecular, definiu-se um comprimento de onda específico para cada corante onde foram feitas as análises de degradação, sendo eles: 530 nm para o corante Carmim; 610 nm para Índigo Carmim e 628 nm para o Verde Rápido. Estes pontos representam os comprimentos de onda, para o qual, cada corante apresenta sua maior absorção na região visível do espectro eletromagnético.

Posteriormente, foram preparadas amostras contendo diferentes concentrações de cada corante (5 amostras por corante). Estas passaram por análise espectrofotométrica e os valores de absorbância obtidos para cada amostra foi computado. Com isso, sabendo-se a concentração de corante que cada amostra contém, e a sua respectiva absorbância, foi possível relacionar essas duas variáveis de maneira a se obter uma curva padrão de absorbância versus concentração de corante, apresentadas nas figuras 4.6, 4.7 e 4.8.

Com essas curvas padrão é possível estimar as respectivas concentrações de corante em cada solução e dessa maneira, calcular a porcentagem de clareamento obtido, em cada ensaio.

Figura 4.6 - Curva padrão da absorbância do corante Carmim em 530 nm

Figura 4.7 - Curva padrão da absorbância do corante Índigo Carmim em 610 nm

Figura 4.8 - Curva padrão da absorbância do corante Verde Rápido em 628 nm

4.1.4 Preparo das amostras

Os 16 ensaios estipulados no planejamento experimental (tabela 4.3) foram compostos por soluções aquosas contendo um dos três corantes, os complexos de ferro (GF ou CF), peróxido de hidrogênio e irradiação LED (5; 15; 30; 45 e 55 min). O modo de preparo de cada solução está disponível no anexo A.

Todos os ensaios foram realizados em temperatura ambiente, onde 1 ml da solução preparada foi acondicionada em cubetas de quartzo, sem agitação e na ausência de luz externa (figura 4-9). Os ensaios iniciavam-se pela adição de GF ou CF e H_2O_2 à solução de corante (C, pH 12,5; IC e VR pH 4,5) e posterior irradiação com lâmpada LED. Para cada experimento foram realizadas três repetições ($n = 3$).

Figura 4.9 - Esquema da irradiação das soluções – Cubeta contendo corante (a) protegida da luz ambiente por uma caixa (b) é irradiada pela lâmpada LED (c)

Após serem irradiadas, as soluções foram levadas para análise da descoloração através de medidas de absorbância em espectrofotômetro (Beckman Coulter, DU 800), obtendo-se assim a concentração de corante na solução e consequentemente a porcentagem de clareamento para cada ensaio.

4.2 VERIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO DE RADICAIS HIDROXILA

Nesta parte do trabalho buscou-se verificar se há produção de radicais hidroxila ($\text{HO}^\bullet$) a partir do peróxido de hidrogênio irradiado por uma lâmpada LED ou pelo processo de foto-Fenton. Para isso, foi utilizada uma metodologia baseada no uso de “spin-trappings” auxiliada por espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), sendo possível a identificação do radical livre formado.

4.2.1 Materiais utilizados

Para a verificação da presença dos radicais hidroxila, utilizou-se o peróxido de hidrogênio na concentração de 1,35% (450 mM) e o gluconato ferroso a 0,006% (192 mM) e como fonte de irradiação foi utilizada uma lâmpada LED azul (Philips, ZOOM!; λ : 430-480 nm). Como spin-trapping, utilizou-se 22,6 mM de 5,5-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide (DMPO, Sigma Aldrich) e 394 mM de dimetilsulfoxido (DMSO, Sigma Aldrich).

Os corantes Carmim (0,34 mM), Índigo Carmim (0,107 mM) e o Verde rápido (0,016 mM), também foram avaliados para possíveis efeitos na produção de radicais livres.

4.2.2 Grupos experimentais

Foram realizados 12 testes, sendo 1 ensaio para cada grupo experimental (n = 1). Os 12 grupos experimentais são apresentados na tabela 4.4

Tabela 4.4 - delineamento dos grupos experimentais

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
H ₂ O ₂ (450 mM)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Gluconato ferroso (192 mM)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
DMPO (22,6 mM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DMSO (394mM)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LED (15 min)	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
Verde rápido (0,016 mM)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Carmim (0,34 mM)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Índigo Carmim (0,107 mM)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Temperatura elevada 40 °C (15 min)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

+ contém; - não contém.

4.2.3 Preparo das amostras

Previamente ao início dos testes, foi realizada a purificação do DMPO seguindo metodologia desenvolvida pelo Professor Doutor Daniel Rettori (professor adjunto na Universidade federal de São Paulo) descrita no anexo B.

Os testes foram realizados em temperatura ambiente, com exceção do grupo 6 onde a temperatura foi elevada a 40 °C. Dessa forma, 1 ml da solução preparada de acordo com cada grupo experimental foi acondicionada em cubetas de quartzo, sem agitação. Esta foi posteriormente irradiada ou não por uma lâmpada LED durante 15 minutos.

Nos tempos 0, 5, 10, 15, 25 e 35 minutos de reação foram colhidas amostras de 50 µL das soluções em teste. Estas foram rapidamente transferidas para pipetas de Pasteur de vidro previamente seladas na ponta inferior do capilar (dimensões do capilar: ~230 mm de comprimento; ~1,1 mm de diâmetro externo) seguindo para análise no espectrômetro (modelo JES-FR30, JEOL Co. Ltd., Tóquio, Japão; Os parâmetros de configuração do aparelho estão descritos no anexo C) para a obtenção dos espectros de EPR.

Após a obtenção dos espectros, foi calculada a quantidade de radicais produzidos a partir dos espectros obtidos. Mediu-se a distância entre os picos do primeiro sinal a aparecer (figura 4.10). Esta medida foi utilizada como um valor arbitrário referente a quantidade de radicais formados, de maneira que a distância maior entre os picos representa uma maior produção de radicais livres.

Figura 4.10 - Medida da distância pico a pico, utilizada para o quantificar a formação de radicais livres

4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO CLAREADOR OTIMIZADO EM DENTES HUMANOS

Esta parte do trabalho teve como objetivo avaliar o efeito clareador obtido em dentes humanos extraídos, utilizando as concentrações de H₂O₂ e GF ou CF obtidas a partir da otimização realizada na primeira parte do trabalho. Além destas concentrações experimentais, também foram realizados testes utilizando concentrações disponíveis atualmente no mercado odontológico para o clareamento dental de consultório.

4.3.1 Descrição da amostra

A amostra foi composta por 42 caninos inferiores obtidos juntamente ao banco de dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP). Foram selecionados dentes que não apresentassem cáries, restaurações, trincas ou defeitos na superfície e cuja tonalidade fosse igual ou superior a cor 1M2 obtidos por comparação com a escala Vita Bleached (VITA, América do Norte).

Esta parte do projeto de pesquisa foi submetido, à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FOUSP e posteriormente aprovada (anexo D).

4.3.2 Grupos experimentais

Os 42 caninos foram distribuídos aleatoriamente em um dos 6 grupos experimentais disponíveis na tabela 4.5 (n = 7).

Tabela 4.5 - Composição dos grupos experimentais

Grupo 1	H ₂ O ₂ a 30% por 45 minutos.
Grupo 2	H ₂ O ₂ a 25% + 0,003% de GF + irradiação LED por 45 minutos.
Grupo 3	H ₂ O ₂ a 10% + 0,016% de GF + irradiação LED por 45 minutos.
Grupo 4	H ₂ O ₂ a 10% + 0,016% de CF + irradiação LED por 45 minutos.
Grupo 5	H ₂ O ₂ a 0,01% + 0,009% de GF + irradiação LED por 45 minutos.
Grupo 6	H ₂ O ₂ a 0,01% + 0,009% de CF + irradiação LED por 45 minutos.

4.3.3 Preparo das amostras

Previamente ao clareamento dental, foram realizados procedimentos para o preparo dos mesmos, como representado na figura 4.11:

1° - Cada dente teve sua raiz pintada de preto com esmalte de unha, de maneira que somente a coroa ficou exposta a ação da solução clareadora.

2° - Os dentes de cada grupo experimental foram afixados em barras de silicone polimerizados por condensação.

3° - Cada conjunto de dentes afixado em silicone foi posicionado em uma plastificadora a vácuo onde foi confeccionada uma moldeira a partir de uma placa de EVA de 1 mm.

4° - Na região vestibular das moldeiras, foram feitas perfurações cujo diâmetro é idêntico ao diâmetro da ponta do espectrofotômetro utilizado para a medição de cor. Desta forma, foi possível padronizar o local para a medição da cor de cada elemento dental.

Figura 4.11 – Desenho esquemático da sequência de preparo dos dentes. a – dente extraído; b – dente extraído com a raiz pintada com esmalte de unha; c – dentes afixados em barras de silicone; d – dentes posicionados na barra de silicone com o guia de referência para medição da cor

Os dentes então, foram imersos em saliva artificial (anexo D) e após 7 dias foram feitas as tomadas de cor subjetiva e objetiva, pré-tratamento.

A análise subjetiva foi realizada com o auxílio da escala de cor Vita Bleached (VITA, América do Norte). Neste tipo de análise os dentes foram comparados com cada uma das cores disponíveis na escala e aquela que mais se assemelhasse a cor do elemento foi anotada como a cor dental.

Para cada cor da escala, foi estipulado um valor de 1 a 15, onde, 0M1 representou a cor mais clara na escala, com valor = 1, já as outras cores receberam consequentemente valores maiores (tabela 4.6). Isto foi feito de maneira a facilitar a comparação do efeito clareador, bem como a análise estatística posterior.

Tabela 4.6 - Valores atribuídos para cada uma das cores da escala de cor Vita Bleached

Vita Bleached	
Cor	Número
0M1	1
0.5M1	2
1M1	3
1M1.5	4
1M2	5
1.5M2	6
2M2	7
2.5M2	8
3M2	9
3.5M2	10
4M2	11
4.5M2	12
5M2	13
5M2.5	14
5M2	15

Além da análise subjetiva, também foi realizada uma avaliação objetiva utilizando-se o espectrofotômetro digital Vita Easyshade. Neste tipo de análise foi possível a obtenção dos parâmetros L. a. b., nos permitindo calcular o ΔE (equação 1) utilizado para comparação do efeito clareador e análise estatística.

Equação 1 – Equação utilizada para o cálculo do ΔE

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

Após aferir a cor inicial de cada dente, seguiu-se para o clareamento dental. Nele, cada elemento dental foi imerso em uma solução clareadora e ligou-se a lâmpada LED (figura 4.12) quando necessário, conforme os grupos experimentais definidos anteriormente (tabela 4.5). A cada 15 minutos de tratamento a solução clareadora foi trocada, completando um total de 45 minutos de tratamento.

Figura 4.12 – Desenho esquemático da sequência do tratamento clareador. a – dentes posicionados em tubos de ensaio; b – aplicação da solução clareadora + ativação da lâmpada LED; c – aplicação da solução clareadora

Após este período, os tratamentos foram encerrados e cada dente foi lavado com água destilada e reposicionados nos moldes de silicone para a tomada de cor final, conforme descrito para a tomada de cor pré-tratamento. Todos os valores foram anotados e seguiram para análise estatística.

5 RESULTADOS

Os resultados são apresentados em três partes, seguindo a divisão proposta anteriormente para o trabalho. Primeiro, apresentam-se os resultados obtidos a partir da otimização do clareamento utilizando corantes alimentares. Posteriormente, a identificação de radicais hidroxila nos processos clareadores e, por fim, os resultados da aplicação das fórmulas experimentais em dentes humanos.

5.1 OTIMIZAÇÃO DO CLAREAMENTO UTILIZANDO CORANTES ALIMENTARES

A otimização do clareamento é apresentada individualmente de acordo com o corante alimentar utilizado.

5.1.1 Verde Rápido

Nas faixas de valores avaliadas para o corante Verde Rápido, a porcentagem de remoção de cor nos diferentes grupos se mostrou dependente da condição experimental (figura 5.1). Os dados foram analisados com base em um modelo de superfície de resposta utilizando o software Statgraphics 5.1 Plus. Os grupos controle apresentaram efeitos baixos em relação a remoção de cor, sendo assim, seus resultados estão apresentados no anexo F.

Figura 5.1 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Verde Rápido para cada grupo experimental, na presença de gluconato ferroso ou citrato férrico

É possível verificar que a maioria dos grupos experimentais apresentou alta taxa de remoção de cor, variando entre 80 e 95%. Além disso, com exceção dos experimentos 4, 10 e 14, ambos os complexos de ferro apresentaram eficiência semelhante na remoção do corante.

5.1.1.1 Diagrama de Pareto e superfície de resposta na presença de gluconato ferroso

A figura 5.2 apresenta o diagrama de Pareto. Este evidencia a sensibilidade das variáveis estudadas (concentração de H_2O_2 ; complexo de ferro; e tempo de irradiação), sobre a resposta obtida (remoção do corante). Dessa forma, foi possível

identificar quais as variáveis ou interações entre elas que mais influenciaram para a descoloração.

Figura 5.2 – Diagrama de Pareto – os parâmetros que ultrapassam a linha vertical azul, possuem efeito significativo, positivo ou negativo, sobre a remoção do corante, em um nível de 95% de confiança ($p < 0,5$)

A variável que apresentou a maior influência significativa foi o tempo de irradiação, seguido pela concentração de gluconato ferroso. Seus efeitos positivos estão associados a um aumento na remoção do corante, ou seja, quanto maior o tempo de irradiação e a concentração de gluconato ferroso utilizada, maior será a descoloração obtida.

Já a variável concentração de peróxido de hidrogênio possui um efeito negativo na remoção do corante, de maneira que, quanto maior a concentração de H₂O₂, menor será a descoloração.

A influência das interações entre as variáveis foi analisada através da superfície de resposta. A figura 5.3 representa a interação AC (concentração de gluconato X tempo de irradiação), cujo efeito é negativo sobre e significativo sobre a remoção do corante.

Dessa forma, para uma baixa concentração de gluconato ferroso (0,0045%), com o aumento do tempo de irradiação, a remoção de cor melhora consideravelmente, variando de 71% em 15 minutos de irradiação, para 88% em 45 minutos. Já para a maior concentração de GF (0,0145%), com o aumento do tempo de irradiação, o efeito da descoloração não é tão expressivo, porém este já se inicia com remoções altas, variando de 88% em 15 minutos de irradiação para um máximo de aproximadamente 95% em 35 minutos, decaindo posteriormente (figura 5.3).

Figura 5.3 – Gráfico da superfície de resposta da porcentagem de corante removido (Verde Rápido) quando da interação entre a concentração de gluconato ferroso *versus* tempo de irradiação

Já a figura 5.4 representa a interação AB (concentração de gluconato ferroso X concentração de H₂O₂), cujo efeito é positivo e significativo sobre a remoção do corante.

Figura 5.4 - Gráfico da superfície de resposta da porcentagem de corante removido (Verde Rápido) quando da interação entre a concentração de gluconato ferroso *versus* concentração de H₂O₂

O aumento da concentração de gluconato ferroso, bem como a diminuição da concentração de H_2O_2 utilizada, promovem uma maior porcentagem na remoção do corante. De maneira que, em valores de 0,0045% de GF a descoloração é de cerca de 81%, utilizando 1,45% de H_2O_2 e de 89% com 0,45% de H_2O_2 . Já em maiores concentrações de GF, independentemente da concentração de H_2O_2 , a porcentagem de remoção do corante é de aproximadamente 94%.

A figura 5.5 representa a interação BC (tempo de irradiação X concentração de H_2O_2), cujo efeito é positivo e significativo sobre a remoção do corante.

Figura 5.5 - Gráfico da superfície de resposta da porcentagem de corante removido (Verde Rápido) quando da interação entre a concentração de H_2O_2 versus tempo de irradiação

Nesta interação, o aumento do tempo de irradiação sempre promove maior remoção do corante, sendo próxima de 96% em aproximadamente 40 minutos, independentemente da concentração de H_2O_2 . Já em menores tempos de irradiação, 15 minutos, a utilização de maiores concentrações de H_2O_2 (1,45%) é necessária.

A partir destes resultados, é possível estimar o valor otimizado das variáveis para a maior remoção do corante Verde Rápido, sendo as concentrações ideais: 0,14% de H_2O_2 + 0,009% de gluconato ferroso, irradiados com o LED por 35 minutos.

A figura 5.6 ilustra os efeitos principais de cada variável em relação a porcentagem de corante removido. Observou-se que o tempo de irradiação, bem como a concentração de gluconato ferroso chegaram a um limite (0,009% de GF e 35 minutos

de irradiação). Porém os efeitos do H_2O_2 aumentam conforme a concentração utilizada é diminuída, sendo que seu limite não foi observado.

Assim, explorou-se valores abaixo de 0,14% de H_2O_2 (0,11%; 0,08%; 0,05%; 0,02%; 0,01% e 0,001%) e foi observado que a maior remoção do corante ocorreu utilizando-se 0,01% de H_2O_2 .

Figura 5.6 – Gráfico da porcentagem de corante removido em relação à concentração de gluconato ferroso, concentração de H_2O_2 e tempo de irradiação

Após analisar os resultados, foi possível estimar que o valor otimizado para a remoção de cerca de 99% do corante Verde Rápido, é de 0,01% de H_2O_2 + 0,009% de gluconato ferroso, irradiados com o LED por 35 minutos.

5.1.1.2 Diagrama de Pareto e superfície de resposta na presença de citrato férrico

O diagrama de Pareto, representado na figura 5.7, demonstra que a variável tempo de irradiação, apresentou a maior influência significativa e positiva sobre a remoção do corante. Além disso, a concentração de citrato férrico também apresentou um efeito positivo e significativo. Já a variável concentração de H_2O_2 , não exerceu influência significativa no resultado da descoloração.

Figura 5.7 - Diagrama de Pareto – os parâmetros que ultrapassam a linha vertical azul, possuem efeito significativo, positivo ou negativo, sobre a remoção do corante, em um nível de 95% de confiança ($p < 0,05$)

Assim como para o gluconato ferroso, a influência das interações entre as variáveis foi analisada através de superfície de resposta, sendo que a interação AC (concentração de citrato férrico X tempo de irradiação) foi a única cujo efeito foi estatisticamente significativo.

Para uma baixa concentração de citrato férrico (0,0045%), com o aumento do tempo de irradiação, a remoção de cor aumentou consideravelmente, variando de 83% em 15 minutos de irradiação, para aproximadamente 93% em 45 minutos. Já para a maior concentração de CF (0,0145%), com o aumento do tempo de irradiação, o efeito da descoloração não é tão expressivo. Porém este já se inicia com remoções altas, variando de 90% em 15 minutos de irradiação para um máximo de 95% em aproximadamente em 34 minutos, decaindo posteriormente (figura 5.8).

Figura 5.8 - Gráfico da superfície de resposta da porcentagem de corante removido (Verde Rápido) quando da interação entre a concentração de citrato férrico *versus* tempo de irradiação

Dessa forma, o valor otimizado para a maior remoção do corante Verde Rápido, utilizando citrato férrico é de 0,14% de H₂O₂ + 0,0084% de gluconato ferroso, irradiados com o LED por 34 minutos.

Na figura 5.9, tem-se os efeitos principais de cada variável em relação a porcentagem de corante removido. Assim, como na utilização de gluconato ferroso, observou-se que o tempo de irradiação, bem como a concentração de citrato férrico utilizados chegaram a um limite (0,0084% de CF e 34 minutos de irradiação) e os efeitos do H₂O₂ não, de maneira que estes aumentam conforme a concentração de H₂O₂ é diminuída.

Assim, explorou-se valores abaixo de 0,14% de H₂O₂ (0,11%; 0,08%; 0,05%; 0,02%; 0,01% e 0,001%) e foi observado que a maior remoção do corante ocorreu utilizando-se 0,01% de H₂O₂.

Figura 5.9 - Gráfico da concentração do corante removido em relação à concentração de citrato férrico, concentração de H_2O_2 e tempo de irradiação

O valor otimizado para a remoção de cerca de 98% do corante Verde Rápido, utilizando CF é de 0,01% de H_2O_2 + 0,0084% de citrato férrico, irradiados com o LED por 34 minutos.

5.1.2 Carmim

Nas faixas de valores avaliadas para o corante Carmim, a porcentagem de remoção de cor nos diferentes grupos se mostrou dependente da condição experimental (figura 5.10). Com isso, os dados foram analisados com base em um modelo de superfície de resposta utilizando o software Statgraphics 5.1 Plus. Os grupos controle apresentaram efeitos baixos em relação a remoção de cor. Sendo assim, seus resultados estão apresentados no anexo G.

Figura 5.10 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Carmim para cada grupo experimental

Ao contrário do corante Verde Rápido, o corante Carmim foi mais difícil de ser removido. Constata-se que dos 16 ensaios apenas 4 promoveram remoção do corante próximo de 90%.

5.1.2.1 Diagrama de Pareto e superfície de resposta na presença de gluconato ferroso

O diagrama de Pareto (figura 5.11), demonstra que a variável tempo de irradiação, apresentou a maior influência significativa e positiva sobre a remoção do

corante. A concentração de gluconato ferroso também apresentou um efeito positivo e significativo, assim como a variável concentração de H_2O_2 .

Figura 5.11 - Diagrama de Pareto – os parâmetros que ultrapassam a linha vertical azul, possuem efeito significativo, positivo ou negativo, sobre a remoção do corante, em um nível de 95% de confiança ($p < 0,5$)

A interação AC (concentração de gluconato ferroso X tempo de irradiação; figura 5.12) foi a única cujo efeito foi significativo, sendo esta, analisada através da superfície de resposta.

O aumento do tempo de irradiação sempre melhora a remoção do corante, sendo está próxima de 94% em 45 minutos de irradiação, independentemente da concentração de gluconato ferroso utilizada. Já em menores tempos de irradiação (15 minutos), a utilização de maiores concentrações de GF (1,45%) aumentam a descoloração em cerca de 10%.

Figura 5.12 - Gráfico da superfície de resposta da porcentagem de corante removido (Carmim) quando da interação entre a concentração de gluconato ferroso *versus* tempo de irradiação

Assim, o valor otimizado para a maior remoção do corante Carmim, utilizando gluconato ferroso é de 0,84% de H_2O_2 + 0,0165% de gluconato ferroso, irradiados com o LED por 45 minutos.

Na figura 5.13, tem-se os efeitos principais de cada variável em relação a porcentagem de corante removido. Embora o tempo de irradiação tenha alcançado um ponto ótimo de 45 minutos, a concentração de GF, bem como a de H_2O_2 podem ser melhor exploradas.

Figura 5.13 - Gráfico da concentração do corante removido em relação à concentração de gluconato ferroso, concentração de H_2O_2 e tempo de irradiação

Com isso, foram testados valores abaixo de 0,14% e acima de 1,65% de H_2O_2 (0,01%; 2%, 3%; 5%; 7% e 10%) e foi observado que a maior remoção de Carmim ocorre utilizando-se 10% de H_2O_2 .

Dessa forma, o valor otimizado para a remoção de aproximadamente 96% do corante Carmim, utilizando GF é de 10% de H_2O_2 + 0,0165% de gluconato ferroso, irradiados com o LED por 45 minutos.

5.1.2.2 Diagrama de Pareto e superfície de resposta na presença de citrato férrico

O diagrama de Pareto (figura 5.14) demonstra que a variável tempo de irradiação apresentou a maior influência significativa e positiva sobre a remoção do corante Carmim. Por outro lado, nas condições estudadas, as concentrações de citrato férrico e de H_2O_2 , bem como as interações entre as variáveis, não tiveram efeito significativo sobre a resposta e, portanto, não foram realizadas análises por meio de superfície de resposta.

Figura 5.14 - Diagrama de Pareto – os parâmetros que ultrapassam a linha vertical azul, possuem efeito significativo, positivo ou negativo, sobre a remoção do corante, em um nível de 95% de confiança ($p < 0,5$)

Assim, o valor otimizado para a maior remoção do corante Carmim, utilizando citrato férrico é de 0,14% de H_2O_2 + 0,0165% de citrato férrico, irradiados com o LED por 50 minutos.

Como realizado no grupo anterior, também aqui foram explorados outros valores de concentração de H_2O_2 (0,01%; 2%, 3%; 5%; 7% e 10%) e foi observado que a maior remoção de Carmim ocorre utilizando-se 10% de H_2O_2 .

Com isso, o valor otimizado para a maior remoção de aproximadamente 94% do corante Carmim, utilizando citrato férrico é de 10% de H_2O_2 + 0,0165% de CF, irradiados com o LED por 50 minutos.

5.1.3 Índigo Carmim

Nas faixas de valores avaliadas para o corante Índigo Carmim, a porcentagem de remoção de cor nos diferentes grupos não foi dependente da condição experimental (figura 5.15), de maneira que, independentemente do ensaio realizado, a resposta obtida foi maior que 97% de descoloração. Assim, não foram realizadas análises por meio de superfície de resposta uma vez que todas as condições estudadas são eficientes. Os grupos controle são apresentados no anexo H.

Figura 5.15 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Índigo Carmim para cada grupo experimental

5.2 VERIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO DE RADICAIS HIDROXILA

Para facilitar a compreensão dos resultados, estes serão apresentados em dois blocos distintos. O primeiro contém apenas grupos experimentais (tabela 5.1) onde não há presença de corantes alimentares (grupos 4; 5; 6; 7; 8 e 9), já no segundo bloco estes se fazem presentes (grupos 1; 2; 3; 10; 11 e 12).

Tabela 5.1 - delineamento dos grupos experimentais

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
H ₂ O ₂ (450 mM)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Gluconato ferroso (192 mM)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
DMPO (22,6 mM)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DMSO (394mM)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LED (15 min)	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
Verde rápido (0,016 mM)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Carmim (0,34 mM)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Índigo Carmim (0,107 mM)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Temperatura elevada 40 °C (15 min)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

+ contém; - não contém.

5.2.1 Verificação da produção de radicais hidroxila sem a presença de corantes

Para descartar uma possível influência dos corantes na produção dos radicais hidroxila, inicialmente os testes foram realizados na ausência dos mesmos. Para isso, espectros típicos do adulto DMPO/HO[•] foram obtidos em todos os grupos em que o H₂O₂ esteve presente (grupos 4; 5; 6; 7 e 9), demonstrando a produção de radicais livres nos sistemas avaliados. Estes espectros são caracterizados por conter 4 linhas cujas intensidades dos picos seguem uma razão de 1:2:2:1 (figura 5.16).

Figura 5.16 – Espectros do adulto DMPO/HO[•] obtidos pela irradiação (hν 450 nm) de H₂O₂ (450 mM) na presença de DMPO (22,6 mM). No tempo 0 o LED encontrava-se desligado

A figura 5.17, mostra a intensidade de sinal para os adultos DMPO/HO[•] formados em cada grupo experimental. Nela é possível observar que o experimento com o complexo de ferro (foto-Fenton) apresentou a maior produção de radicais livres nos primeiros 5 minutos, seguido respectivamente pelo grupo contendo H₂O₂ irradiado por LED e H₂O₂ com a temperatura elevada a 40°C. Além disso, ao desligar a lâmpada LED, a produção de radicais livres decaía rapidamente.

Já o grupo que continha apenas DMPO irradiado por LED e o grupo em que o H₂O₂ foi mantido no escuro em temperatura ambiente, praticamente não formaram sinal.

Figura 5.17 – Gráfico da intensidade de sinal formado para cada grupo experimental em função do tempo

Com isso, para confirmar se os sinais obtidos eram referentes a produção dos radicais hidroxila, foi realizado um ensaio, irradiando-se o H₂O₂ na presença de DMPO e DMSO. Este último, age como um sequestrador de radicais HO[•] e promove a formação de radicais [•]CH₃ (radical metila).

Os radicais metila, por sua vez, são aprisionados pelo DMPO, gerando o adulto DMPO/[•]CH₃, caracterizado pela presença de 6 linhas.

A figura 5.18, obtida a partir do experimento descrito acima (grupo 9), representa o espectro característico do adulto DMPO/[•]CH₃.

Isto sugere que a maioria dos adultos DMPO/HO[•] observados na ausência de DMSO são originados do aprisionamento de radicais HO[•], confirmando indiretamente, a produção de HO[•] nos sistemas analisados.

Figura 5.18 - Espectros do adulto $\text{DMPO}/\dot{\text{C}}\text{H}_3$, obtidos pela irradiação ($h\nu$ 450 nm) de H_2O_2 (450 mM) na presença de DMPO (22,6 mM) + DMSO (394 mM). No tempo 0 o LED encontrava-se desligado

5.2.2 Influência dos corantes

A figuras 5.19, representa os espectros obtidos a partir da irradiação com LED dos corantes Verde Rápido, Carmim e Índigo Carmim (grupos 10; 11 e 12). Nela pode-se observar que somente o corante Índigo Carmim, sofreu influência da luz, de maneira a exibir sinal em EPR (figura 5.19c).

Figura 5.19 – Espectros de EPR obtidos pela irradiação (450 nm) dos corantes Verde Rápido (a), Carmim (b) e Índigo Carmim (c), nos tempos 0 e 30 minutos

Já para os grupos 1, 2 e 3, foi observado a formação espectros típicos do adulto DMPO/ $\text{HO}^\bullet$, demonstrando a produção de radicais livres nos sistemas contendo H_2O_2 e corantes, irradiados por LED (figura 5.20).

Figura 5.20 - Espectros do adulto DMPO/HO[•] obtidos pela irradiação (h ν 450 nm) de H₂O₂ (450 mM) + DMPO (22,6 mM), na presença dos corantes (a) Verde Rápido (0,016 mM); (b) Carmim (0,34 mM); (c) Índigo Carmim (0,107 mM). No tempo 0 o LED encontrava-se desligado

5.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO CLAREADOR OTIMIZADO EM DENTES HUMANOS

Nesta parte do trabalho foram testados 6 grupos (tabela 5.2), onde os grupos 3, 4, 5 e 6 representam as fórmulas obtidas na fase de otimização (fórmulas experimentais). Já os grupos 1 e 2 representam a composição de géis clareadores existentes no mercado odontológico (fórmulas comerciais).

Tabela 5.2 - Composição dos grupos experimentais

Grupo 1	H ₂ O ₂ a 30% por 45 minutos.
Grupo 2	H ₂ O ₂ a 25% + 0,003% de GF + irradiação LED por 45 minutos.
Grupo 3	H ₂ O ₂ a 10% + 0,016% de GF + irradiação LED por 45 minutos.
Grupo 4	H ₂ O ₂ a 10% + 0,016% de CF + irradiação LED por 45 minutos.
Grupo 5	H ₂ O ₂ a 0,01% + 0,009% de GF + irradiação LED por 45 minutos.
Grupo 6	H ₂ O ₂ a 0,01% + 0,009% de CF + irradiação LED por 45 minutos.

Os resultados da avaliação subjetiva e objetiva de cor, após o clareamento dental, foram testados a partir de análise de variância (ANOVA; $p < 0,05$), através do programa Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., Fulsa, EUA). Para a comparação entre os diferentes grupos, utilizou-se contrastes pelo teste de Tukey.

5.3.1 Avaliação subjetiva

A tabela 5.3, apresenta as médias e os desvios padrão, referentes a diferença nos valores obtidos com a escala de cor Vita Bleached, antes e após o tratamento clareador.

Tabela 5.3 – Média e desvio-padrão dos valores obtidos a partir da escala Vita Bleached, referentes a diferença entre a cor inicial e após o tratamento clareador

Grupo	Média	Desvio padrão
1	- 1,00	0,00
2	- 2,80	0,44
3	- 3,80	0,44
4	- 4,40	0,89
5	- 1,00	0,00
6	- 0,80	0,44

A partir da análise de variância (ANOVA), foi possível determinar que os grupos 3 (H_2O_2 a 10% + 0,016% de GF + irradiação LED por 45 minutos) e 4 (H_2O_2 a 10% + 0,016% de CF + irradiação LED por 45 minutos) apresentaram o maior efeito clareador dentre as diferentes formulações avaliadas (figura 5.21), sendo estes estatisticamente semelhantes, capazes de clarear os dentes em cerca de 4 tons na escala de cor Vita Bleached. O grupo 2 (H_2O_2 a 25% + 0,003% de GF + irradiação LED por 45 minutos) apresentou-se como a segunda melhor formulação, sendo capaz de clarear aproximadamente 3 tons na escala. Já os grupos 1, 5 e 6 promoveram menor clareamento (1 tom), sendo estes estatisticamente semelhantes entre si.

Assim, a ordem decrescente de efeito clareador apresentado entre os grupos analisados foi: Grupos 3 e 4 > Grupo 2 > Grupos 1, 5 e 6.

Figura 5.21 – Gráfico de médias dos valores obtidos pela escala Vita Bleached para cada grupo experimental. Letras iguais indicam semelhança estatística (Tukey)

5.3.2 Avaliação Objetiva

A tabela 5.4 apresenta as médias e os desvios padrão referentes aos valores de ΔE , calculados a partir das medidas de L^*a^*b , obtidos com o espectrofotômetro digital Vita Easyshade.

Tabela 5.4 - Média e desvio-padrão dos valores de ΔE obtidos a partir do espectrofotômetro digital Vita Easyshade

Grupo	Média ΔE	Desvio padrão
1	3,36	0,65
2	5,19	1,40
3	5,18	0,53
4	6,37	0,96
5	2,16	0,40
6	2,12	0,27

Os grupos 2 (H_2O_2 a 25% + 0,003% de GF + irradiação LED por 45 minutos), 3 (H_2O_2 a 10% + 0,016% de GF + irradiação LED por 45 minutos) e 4 (H_2O_2 a 10% + 0,016% de CF + irradiação LED por 45 minutos) apresentaram o maior efeito clareador dentre as diferentes formulações estudadas (figura 5.22), sendo estes estatisticamente semelhantes entre si, apresentando valores médios de ΔE acima de 5 pontos.

Já os grupos 1, 5 e 6 foram estatisticamente semelhantes entre si e promoveram menor clareamento dental, onde os valores médios de ΔE ficaram entre 2 e 3 pontos.

Figura 5.22 – Gráfico de médias de Delta E para cada grupo experimental. Letras iguais indicam semelhança estatística (Tukey)

6 DISCUSSÃO

Atualmente, o processo clareador em odontologia restringe-se basicamente à utilização de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Este começou a ser utilizado em 1910 ⁽²⁾ e desde então o que encontra-se no mercado é a replicação de fórmulas já utilizadas.

Dessa forma, existe ainda espaço para melhorias no processo clareador, sendo que o uso de fonte luminosas é uma das alternativas exploradas. Porém, há uma falta de consenso na literatura odontológica em relação a eficácia das fontes de luz utilizadas para o clareamento dental ^(6, 9, 11, 12, 14, 96). A divergência de resultados entre os estudos pode ser atribuída a vários fatores como, por exemplo, o delineamento do experimental do estudo, o tipo de fonte de luz utilizada, bem como aos géis clareadores, que possuem formulações diversas, onde o mesmo princípio ativo varia na sua concentração. Além disso, e mais recentemente, a adição de catalisadores como complexos de ferro ou titânio ^(3, 6) também podem influenciar no resultado final do clareamento.

O clareamento dental é um conjunto complexo de processos físicos e químicos que acontecem concomitantemente. Em um primeiro momento, o princípio ativo presente no gel deve penetrar na estrutura dental de maneira a encontrar os pigmentos internalizados no dente. Posteriormente, o princípio ativo deve ser capaz de produzir radicais livres através de sua decomposição, promovendo o clareamento.

Além disso, quando são utilizadas fontes luminosas, visando potencializar o processo, estas devem ser capazes de transmitir a luz por toda estrutura dental, de maneira que essa penetre no dente até encontrar os pigmentos e o peróxido de hidrogênio lá presentes.

Dessa forma, para evitar as variáveis de difícil controle como, por exemplo, a complexidade de difusão química e transmissão de luz através da estrutura dental, bem como a interação de componentes do clareador com a mesma, optou-se, na primeira e segunda fase do presente estudo pela realização de um estudo *in vitro*, avaliando a degradação de corantes alimentares na presença de peróxido de hidrogênio em solução.

Este tipo de metodologia, vem sendo mais recentemente utilizado por alguns autores em estudos sobre a eficiência do clareamento ^(4, 59, 72). A grande vantagem desta abordagem é permitir a ação direta do princípio ativo, no presente caso o

peróxido de hidrogênio, sobre um ou mais corantes, estando ambos em solução. Além disso, também é possível quantificar a real influência de fatores coadjuvantes na oxidação dos corantes como a presença de catalizadores e/ou luz.

Assim, é possível realizar um grande número de experimentos em laboratório e obter formulações comprovadamente eficientes. Somente a partir destas fórmulas experimentais se partiria para estudos em dentes humanos.

Embora esta metodologia, que de agora em diante será denominada corante/oxidante, não seja original, as pesquisas encontradas na literatura utilizam corantes que normalmente não estão presentes em alimentos e bebidas como, por exemplo, o corante Rodamina B, muito utilizado em aplicações de biotecnologia como a citometria de fluxo e em ensaios de imunoabsorção enzimática ⁽¹²⁹⁻¹³¹⁾.

Racionalmente, faz sentido utilizar corantes alimentares para os testes oxidante/corante. Atualmente há mais de 90 corantes utilizados em alimentos ⁽¹³²⁾. Este grande leque de opções traz a dúvida: qual (is) corante (s) escolher para estudar clareamento?

Infelizmente, nem todos os corantes utilizados em um país podem ser usados em outros. Isto torna a escolha do corante ainda mais complexa.

No presente estudo foram selecionados 3 corantes alimentares (Carmim, Índigo Carmim e Verde Rápido), cujo uso é permitido no mundo todo, sendo largamente empregado pela indústria alimentícia ^(132, 133). Desta forma, seria possível a replicação desta metodologia em qualquer país utilizando estas mesmas substâncias.

Estes corantes serviram como padrão para quantificar a sua descoloração quando submetidos a diferentes processos oxidativos. Após um planejamento experimental, buscou-se a melhora de todo o processo clareador, ou seja, variando a concentração de H₂O₂, complexos de ferro e tempo de irradiação, foi possível obter encontrar a melhor formulação para a degradação de cada corante.

Esta abordagem permitiu diminuir o número de ensaios realizados, pois todas as variáveis foram exploradas em conjunto, também foi possível eliminar e isolar variáveis, além de facilitar uma possível reprodução deste estudo por outros pesquisadores.

Quanto aos resultados obtidos, foi observada diferença na degradação dos corantes quando da utilização de somente peróxido de hidrogênio, comparado ao uso deste catalisado pelos complexos de ferro (reação de Fenton), sendo esta superior,

dependendo da condição experimental (figuras F.1 vs F.2 – anexo F; figuras G.1 vs G.2 – anexo G; figuras H.1 vs H.2 – anexo H).

Além disso, a luz LED foi capaz de ampliar consideravelmente o efeito clareador. Dessa forma, independentemente do corante utilizado, o potencial clareador da reação de foto-Fenton foi superior às demais, seguindo em ordem decrescente pelo H_2O_2 irradiado com LED, posteriormente pela reação de Fenton e por último pela utilização de somente peróxido de hidrogênio, esta apresentando os menores resultados quanto a remoção de cor. Outros autores também demonstraram a superioridade do efeito clareador obtido com a reação de foto-Fenton ^(4, 59, 72).

Foi verificado na segunda parte deste trabalho que existe grande produção de radicais $\text{HO}^\bullet$ tanto na reação de foto-Fenton, como na irradiação do H_2O_2 com a lâmpada LED. Além disso, estes dois processos oxidativos apresentaram os melhores resultados clareadores, confirmando assim a teoria de que os radicais $\text{HO}^\bullet$ são os responsáveis pelo clareamento dental ^(68, 74).

Ao analisar os resultados obtidos para cada um dos corantes, pode-se notar que a intensidade da resposta é diferente entre os 3.

O corante Índigo Carmim, foi o menos recalcitrante, ou seja, o que menos resistiu ao processo clareador, de maneira que, em qualquer condição de oxidação nos grupos teste (reação de foto-Fenton), foram obtidos clareamentos próximos de 99% (figura 5.15). Em contrapartida, os corantes Verde Rápido e Carmim não tiveram o mesmo comportamento, uma vez que diferentes condições experimentais promoveram diversas intensidades de resposta.

Estas diferenças permitiram traçar uma superfície de resposta, relacionando o efeito clareador às variáveis envolvidas no processo e, dessa forma, determinar uma formula ótima, envolvendo a concentração ideal de H_2O_2 , complexo de ferro, bem como o tempo de irradiação, para o clareamento máximo de cada corante.

Para o corante Verde Rápido, os complexos de ferro, gluconato ferroso e citrato férrico, promoveram porcentagens de clareamento semelhantes nos grupos teste (figura 5.1). Devido a essa semelhança, o valor ideal de concentração para os dois complexos de ferro foi igual (0,009%), de maneira que concentrações abaixo ou acima desse valor afetaram negativamente no clareamento.

O tempo ideal de irradiação também foi obtido. Já para a variável concentração de H_2O_2 , observou-se uma tendência em melhora no processo clareador quando eram

utilizados valores baixos de concentração de H_2O_2 (figuras 5.6 e 5.9). Dessa forma, foram fixadas a concentração dos complexos de ferro e o tempo de irradiação nos seus respectivos valores ideais, 0,009% e 35 minutos respectivamente, variando-se apenas a concentração de peróxido de hidrogênio em valores abaixo dos estipulados no planejamento experimental não explorados anteriormente.

Assim, foi possível explorar todas as variáveis envolvidas, de maneira a se obter o máximo de clareamento para o corante Verde Rápido, sendo o valor otimizado: 0,01% de H_2O_2 + 0,009% de complexo de ferro, irradiados com o LED por 35 minutos.

Para o corante Carmim, seu clareamento se mostrou fortemente ligado ao tempo de irradiação (figuras 5.11 e 5.14). Este corante foi o único a sofrer fotólise direta pela fonte de LED. Segundo Nigel Young e colaboradores ⁽⁷²⁾, isto ocorre porque a fonte de luz azul emite energia eletromagnética suficiente para a quebra das duplas ligações presentes no corante, sendo esta absorvida diretamente por pigmentos amarelados, ou avermelhados, como no caso do Carmim.

Já as variáveis concentração de H_2O_2 e de complexos de ferro não tiveram influência no resultado final (figura 5.13). Assim, constata-se que estas variáveis ainda podem ser exploradas até que seus efeitos se façam presentes. Dessa forma, foram fixadas a concentração dos complexos de ferro e o tempo de irradiação nos seus respectivos valores ideais, 0,016% e 45 minutos, variando-se apenas a concentração de peróxido de hidrogênio em valores abaixo e acima dos estipulados no planejamento experimental, não explorados anteriormente.

Com isso, a formulação otimizada para o clareamento do corante Carmim é de: 10% de H_2O_2 + 0,016% de complexo de ferro, irradiados com LED por 45 minutos.

Além destes resultados e independentemente do corante utilizado, foi observado o aumento significativo no potencial clareador do grupo controle contendo apenas peróxido de hidrogênio irradiado pela lâmpada LED (figura F.3 – anexo F; figura G.3 – anexo G; figura H.3 – anexo H). O mecanismo mais simples pelo qual isso pode ocorrer é através da clivagem direta do peróxido de hidrogênio em radicais hidroxila, pela ação da lâmpada LED. Vale lembrar que, embora a luz emitida pelo LED possua energia suficiente para a quebrar o H_2O_2 , o mesmo não absorve significativamente a luz visível, de maneira que este tipo de reação seria inviável (figura 2.3) ^(90, 94), e talvez os corantes estejam participando como catalisadores no processo.

Com isso em mente, foram realizados experimentos em equipamento de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) para a detecção dos radicais formados pela irradiação com o LED azul sobre o peróxido de hidrogênio e corantes.

Inicialmente, para descartar uma possível influência dos corantes nos processos de formação dos radicais $\text{HO}^\bullet$, os ensaios foram feitos na ausência dos corantes. Dessa forma, primeiro realizou-se a irradiação do H_2O_2 com o LED, sendo obtidos sinais na análise de EPR, comprovando a formação de radicais livres (figura 5.16).

Chama a atenção a formação de radicais hidroxila pela irradiação do peróxido de hidrogênio. Esta só deveria ocorrer em comprimentos de onda abaixo 300 nm (figura 2.3, região do ultravioleta no espectro eletromagnético). Questionou-se então um possível efeito do aumento da temperatura promovido pelo LED na formação destes radicais. Com isso, elevou-se, na ausência de luz, a temperatura da solução contendo peróxido de hidrogênio à mesma temperatura promovida pelo LED (40°C). Neste ensaio também se observou a formação de radicais livres, porém em menor intensidade do que no ensaio onde o H_2O_2 foi irradiado com o LED.

Foram realizados também testes na ausência de luz e temperatura, não sendo observado a formação de sinais em EPR. Pode-se afirmar então que a formação de radicais livres na ausência de complexos de ferro se deva a presença da irradiação LED, bem como por um pequeno efeito térmico.

Os sinais obtidos em EPR, foram posteriormente identificados como os radicais hidroxila e confirmado pelo teste contendo DMSO. Este composto, ao reagir com os radicais $\text{HO}^\bullet$, formam radicais metila, que por sua vez são aprisionados pelo DMPO, gerando o aduto $\text{DMPO}/^\bullet\text{CH}_3$ (figura 6.1). Este aduto só é formado na presença de DMSO e radicais $\text{HO}^\bullet$ sendo dessa maneira uma forma indireta de identificar os radicais hidroxila.

Figura 6.1 – Esquema representando as reações para formação do adulto $\text{DMPO}/^{\bullet}\text{CH}_3$

Kashima e colaboradores, em 2003 ⁽⁹³⁾, também demonstraram a produção de radicais hidroxila através da irradiação do peróxido de hidrogênio por meio de diferentes fontes de luz, emitindo radiação entre 400 e 632 nm. Os autores não justificaram tal produção.

Três hipóteses podem explicar a formação dos radicais $\text{HO}^{\bullet}$ no presente estudo:

1 – Possível presença de ferro na vidraria utilizada para a realização dos ensaios, contaminando os sistemas, e dessa forma a produção dos radicais hidroxila ocorreria pela reação de foto-Fenton.

2 - Ocorrência da absorção de dois fótons simultaneamente ⁽¹³⁴⁾. Este fenômeno foi descrito pela primeira vez em 1931 por M. Göppert-Mayer ⁽¹³⁵⁾. Nele, a energia de 450 nm emitida pelo LED, atinge, simultaneamente, a molécula de peróxido de hidrogênio, ou seja, se dois fótons chegarem ao mesmo tempo na molécula de H_2O_2 , estes dois se somam, resultando na energia equivalente a um fóton de 240 nm. Assim, seria possível promover a fotólise do H_2O_2 , seguida da formação de radicais $\text{HO}^{\bullet}$. Esta hipótese é possível devido à alta potência da fonte de luz utilizada no presente estudo.

3 – Possível emissão de radiação eletromagnética na região do infravermelho pela lâmpada LED. Esta radiação, pode ser absorvida pelo H_2O_2 , levando-o a um estado vibracional excitado ⁽¹³⁶⁾, facilitando a quebra homolítica da sua ligação química mais fraca (ligação peroxo), resultando na formação de dois radicais hidroxila.

Dentre os 3 corantes estudados, o Índigo Carmim foi o único que apresentou sinal após a irradiação na ausência de H_2O_2 . Este resultado está relacionado na literatura como uma possível produção de oxigênio singlete pelo Índigo Carmim irradiado ⁽¹³⁷⁾. Isto ocorre através da excitação do corante ao seu estado triplete. Durante a volta ao seu estado normal, singlete (figura 2.2), o corante pode promover a formação de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), através de “spin-orbit coupling” com o oxigênio triplete ($^3\text{O}_2$), sendo esta a forma molecular comum do oxigênio ⁽⁶⁰⁾.

Como os outros dois corantes não apresentaram sinal em EPR, e o ruído referente ao corante Índigo Carmim é atribuído a formação de oxigênio singlete, a produção de radicais hidroxila pelo H_2O_2 se deve a três fatores independentes entre si: presença de ferro na reação, aumento da temperatura e irradiação com a fonte de LED.

A partir dos resultados obtidos com os experimentos da parte um do presente trabalho, as formulações ideais para o clareamento dos corantes Carmim e Verde Rápido foram selecionadas e testadas em dentes humanos extraídos. Duas formulas amplamente utilizadas na odontologia serviram como grupos controle, sendo estas comparadas quanto a eficiência no clareamento. A primeira fórmula controle (grupo 1) continha peróxido de hidrogênio em alta concentração (30%), a segunda fórmula (grupo 2) utiliza a tecnologia foto-Fenton. Nesta, o peróxido de hidrogênio se encontra em uma concentração de 25% e o complexo de ferro utilizado para a reação é o gluconato ferroso.

Estas concentrações para os grupos controle (1 e 2), foram selecionadas devido a uma grande quantidade de estudos em que estão presentes, de modo que a eficiência destas formulações já foi verificada pela literatura ^(4, 9, 14, 15, 33, 34, 85).

É fundamental testar fórmulas experimentais sobre a estrutura dental, onde variáveis como, por exemplo, permeabilidade de esmalte, idade do dente, corantes presentes dentro da estrutura do dente e presença de calcificações passam a ser consideradas nos experimentos, partindo assim para um modelo mais complexo.

Para a avaliação dos resultados do clareamento, o método mais comumente utilizado é o visual, através da utilização de escalas de cor. Porém este método

apresenta limitações, uma vez que a condição de luz externa, experiência e fadiga visual do avaliador podem influenciar na variabilidade de comparação, tornando este método subjetivo ⁽¹³⁸⁾. Neste estudo foi utilizado além da escala de cor Vita Bleached, um espectrofotômetro digital (Vita Easyshade). Este permite uma análise objetiva da cor, sendo possível o cálculo entre as diferenças pré e pós tratamento ⁽¹³⁹⁾.

Normalmente, estes dois métodos de avaliação são utilizados em conjunto de forma que diferenças não perceptíveis pela avaliação subjetiva podem ser percebidas na análise objetiva. Ontiveros e colaboradores ⁽¹⁵⁾, ao avaliarem o resultado clareador aplicando ou não luz suplementar, notaram diferenças entre os dois grupos através de análise objetiva, o mesmo não ocorreu através de análise visual.

No presente estudo, a utilização de somente 30% peróxido de hidrogênio (grupo 1) ou a formulação ideal para a descoloração do corante Verde Rápido (0,01% de H_2O_2 + 0,009% de complexo de ferro mais irradiação LED – grupos 5 e 6), apresentaram os piores resultados para o clareamento dos dentes nas duas formas de avaliação, sendo estas estatisticamente semelhantes entre si.

Já o grupo experimental 2, representando a fórmula comercial que utiliza a reação de foto-Fenton (25% de H_2O_2 + 0,003% de gluconato ferroso + irradiação LED), assim como os grupos 3 e 4 (10% de H_2O_2 + 0,016% de complexo de ferro + irradiação LED), referentes a formulação experimental ideal para o clareamento do corante Carmim, apresentaram os melhores resultados. Sendo que na avaliação objetiva os 3 grupos apresentaram-se estatisticamente semelhantes, já na avaliação subjetiva os grupos 3 e 4 foram estatisticamente semelhantes entre si e superiores ao grupo 2 (formulação comercial). Com isso, pode-se afirmar que a formulação experimental dos grupos 3 e 4 é mais vantajosa que a formulação comercial simulada no grupo 2 uma vez que, estas utilizam uma menor concentração de H_2O_2 e ainda assim apresentam resultados semelhantes. Clareadores com alta concentração de H_2O_2 têm sido questionados pela comunidade científica devido a possibilidade de promoverem danos a estrutura dental ⁽¹⁴⁰⁾

Em ambas as avaliações, notou-se uma tendência de melhora do clareamento ao utilizar o citrato férrico como complexo de ferro para a reação de foto-Fenton (grupo 4). Outros estudos devem ser realizados para explorar esta tendência.

Com estes resultados foi possível melhorar o clareamento dental utilizando a formulação ideal para o corante Carmim. Isso demonstra uma correlação maior deste

corante aos resultados obtidos clinicamente, e talvez este seja o mais indicado para estudos *in vitro* para otimização do clareamento dental.

Gentil, F.H.U em 2015 ⁽¹⁴¹⁾, avaliou a eficiência e estabilidade de cor dentro de um período de 365, de diferentes produtos utilizados para o clareamento de consultório. O autor observou que o clareador que utiliza a reação de foto-Fenton obteve maior efeito clareador do que o clareador composto por apenas 38% de H₂O₂.

Vale ressaltar que outros autores ^(5, 123, 142, 143) também avaliaram a eficiência de produtos clareadores na odontologia, porém as formulações experimentais propostas neste estudo nunca foram abordadas.

Assim, a metodologia utilizada se mostrou promissora. Além disso, os resultados obtidos *in vitro* com a otimização do clareamento foram superiores às formulações existentes no mercado, ficando evidente a necessidade de continuação deste estudo até a obtenção final de um gel e a realização de trabalhos *in vivo*.

7 CONCLUSÃO

Após a otimização do clareamento utilizando corantes alimentares, da verificação da presença de radicais hidroxila e da aplicação das fórmulas experimentais sobre estrutura dental hígida, pode se concluir que:

- A resposta ao processo oxidativo estudado foi fortemente dependente do corante utilizado, de maneira que estes apresentaram diferenças quanto a descoloração. O corante Índigo Carmim foi o menos recalcitrante. Já a descoloração do Carmim foi influenciada principalmente pela irradiação LED. Para o corante Verde Rápido, todas as variáveis atuaram de maneira significativa para sua descoloração.
- Dentre as diferentes fórmulas oxidantes, a reação de foto-Fenton foi a mais efetiva para a remoção de cor para todos os corantes.
- Os corantes não influenciaram na produção de radicais hidroxila pelo H_2O_2 , de modo que esta foi relacionada a três fatores independentes entre si: presença de ferro na reação, aumento da temperatura e irradiação com a fonte de LED.
- A melhor fórmula experimental de clareamento aplicado a estrutura dental foi 10% de H_2O_2 + 0,016% de complexo de ferro mais irradiação LED por 45 minutos. Embora nessa formulação os dois complexos de ferro tenham se apresentado estatisticamente semelhantes, o citrato férrico mostrou tendência a melhorar o resultado.
- O clareamento dos dentes usando o peróxido de hidrogênio à 30% foi menor quando comparado ao obtido com às fórmulas foto-Fenton comercial e a experimental com 10% de peróxido de hidrogênio.
- A formulação experimental utilizando a reação de foto-Fenton com 10% de peróxido de hidrogênio foi tão boa quanto à comercial utilizando 25% de H_2O_2 .
- As fórmulas foto-Fenton com baixa concentração de H_2O_2 (0,001%) promoveram resultados de clareamento menor em relação às fórmulas com concentração de peróxido igual ou acima de 10%.
- Os grupos experimentais que apresentaram o melhor resultado clareador na estrutura dental foram os que utilizaram a formulação ideal para o clareamento

do corante Carmim. Dessa forma sugere-se que este corante apresente correlação aos pigmentos presentes na estrutura dental hígida.

- A metodologia dos corantes é promissora, pois foi possível explorar de maneira eficiente formulações clareadoras, otimizando-as para posterior aplicação em dentes humanos.

REFERÊNCIAS^b

1. Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects-a review. *Quintessence Int.* 2008;39(8):645-59.
2. G F. The bleaching of discolored teeth with H₂O₂. *Dent Cosmos* 1911 53:246-7.
3. Rocha Gomes Torres C, Guimaraes CA, Ribeiro ZE, Borges AB. Influence of Different Types and Concentrations of Chemical Catalysts on Dental Bleaching Efficiency. *J Contemp Dent Pract.* 2015;16(11):893-902.
4. Lagori G, Rocca J, Brulat N, Merigo E, Vescovi P, Fornaini C. Comparison of two different laser wavelengths' dental bleaching results by photo-Fenton reaction: in vitro study. *Lasers Med Sci.* 2015;30(3):1001-6.
5. Martin J, Vildosola P, Bersezio C, Herrera A, Bortolatto J, Saad JR, et al. Effectiveness of 6% hydrogen peroxide concentration for tooth bleaching-A double-blind, randomized clinical trial. *J Dent.* 2015;43(8):965-72.
6. Bortolatto JF, Pretel H, Floros MC, Luizzi AC, Dantas AA, Fernandez E, et al. Low Concentration H₂O₂/TiO₂ in Office Bleaching: A Randomized Clinical Trial. *J Dent Res.* 2014;93(7 Suppl):66s-71s.
7. Sulieman M. An overview of bleaching techniques: 3. In-surgery or power bleaching. *Dent Update.* 2005;32(2):101-4, 7-8.
8. Sulieman M, Addy M, MacDonald E, Rees JS. The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening: an in vitro study. *J Dent.* 2004;32(4):295-9.
9. Lagori G, Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Fornaini C. The bleaching efficiency of KTP and diode 810 nm lasers on teeth stained with different substances: An in vitro study. *Laser Ther.* 2014;23(1):21-30.
10. Kwon SR, Oyoyo U, Li Y. Effect of light activation on tooth whitening efficacy and hydrogen peroxide penetration: An in vitro study. *J Dent.* 2013;41, Supplement 3:e39-e45.
11. Hahn P, Schondelmaier N, Wolkewitz M, Altenburger MJ, Polydorou O. Efficacy of tooth bleaching with and without light activation and its effect on the pulp temperature: an in vitro study. *Odontology.* 2013;101(1):67-74.
12. Liang S, Sa Y, Sun L, Ma X, Wang Z, Xing W, et al. Effect of halogen light irradiation on hydrogen peroxide bleaching: an in vitro study. *Aust Dent J.* 2012;57(3):277-83.

^b De acordo com o Estilo Vancouver.

13. Joiner A, Thakker G. In vitro evaluation of a novel 6% hydrogen peroxide tooth whitening product. *J Dent.* 2004;32:19-25.
14. Nutter BJ, Sharif MO, Smith AB, Brunton PA. A clinical study comparing the efficacy of light activated in-surgery whitening versus in-surgery whitening without light activation. *J Dent.* 2013;41 Suppl 5:e3-7.
15. Ontiveros JC, Paravina RD. Color change of vital teeth exposed to bleaching performed with and without supplementary light. *J Dent.* 2009;37(11):840-7.
16. Andreozzi R, Caprio V, Insola A, Marotta R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catalysis Today.* 1999;53(1):51-9.
17. Oppenländer T. Photochemical Purification of Water and Air: Advanced Oxidation Processes (AOPs) - Principles, Reaction Mechanisms, Reactor Concepts: Wiley; 2003.
18. Ribeiro AR, Nunes OC, Pereira MF, Silva AM. An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. *Environ Int.* 2015;75:33-51.
19. Skoog DA, West DM, Holler FJ. Fundamentals of analytical chemistry: Saunders College Pub.; 1996.
20. Mendham J, Afonso JC. Vogel: análise química quantitativa: Livros Tecnicos e Científicos; 2002.
21. Kwon SR, Wertz PW. Review of the Mechanism of Tooth Whitening. *J Esthet Restor Dent.* 2015.
22. Baroudi K, Hassan NA. The effect of light-activation sources on tooth bleaching. *Niger Med J.* 2014;55(5):363-8.
23. Kishi A, Otsuki M, Sadr A, Ikeda M, Tagami J. Effect of light units on tooth bleaching with visible-light activating titanium dioxide photocatalyst. *Dent Mater J.* 2011;30(5):723-9.
24. WW D. Ninth Annual Meeting of American Society of Dental Surgeons. Article X *Am J Dent Sci.* 1850;1:57-61.
25. M'Quillen JH. Bleaching discolored teeth. *Dent Cosmos.* 1867;8:457-65.
26. Sulieman M. An overview of bleaching techniques: I. History, chemistry, safety and legal aspects. *Dent Update.* 2004;31(10):608-10, 12-4, 16.
27. Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. *Quintessence Int.* 1992;23(7):471-88.

28. Alqahtani MQ. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *Sau Dent J*. 2014;26(2):33-46.
29. Kihn PW. Vital tooth whitening. *Dent Clin North Am*. 2007;51(2):319-31, viii.
30. Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int*. 1989;20(3):173-6.
31. Tavares M, Stultz J, Newman M, Smith V, Kent R, Carpino E, et al. Light augments tooth whitening with peroxide. *J Am Dent Assoc*. 2003;134(2):167-75.
32. Heymann HO. Tooth whitening: facts and fallacies. *Br Dent J*. 2005;198(8):514.
33. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent*. 2006;34(7):412-9.
34. Sulieman MA. An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Periodontol 2000*. 2008;48:148-69.
35. Sulieman M. An overview of bleaching techniques: 2. Night Guard Vital Bleaching and non-vital bleaching. *Dent Update*. 2005;32(1):39-40, 2-4, 6.
36. Carey CM. Tooth whitening: what we now know. *J Evid Based Dent Pract*. 2014;14 Suppl:70-6.
37. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: Review of adverse effects and safety issues. *Br Dent J*. 2006;200(7):371-6.
38. Jordan RE, Boksman L. Conservative vital bleaching treatment of discolored dentition. *Compend Contin Educ Dent*. 1984;5(10):803-5, 7.
39. Bridgeman I. The nature of light an its interaction with matter. *Colour physics for industry*. 1987:1-34.
40. Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. *J Dent*. 2004;32 Suppl 1:3-12.
41. Joiner A. A silica toothpaste containing blue covarine: a new technological breakthrough in whitening. *Int Dent J*. 2009;59(5):284-8.
42. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J*. 2001;190(6):309-16.
43. Joiner A, Muller D, Eloffsson UM, Malmsten M, Arnebrant T. Adsorption from black tea and red wine onto in vitro salivary pellicles studied by ellipsometry. *Eur J Oral Sci*. 2003;111(5):417-22.

44. Sulieman M, Addy M, Rees JS. Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching. *J Dent.* 2003;31(6):415-22.
45. Feliz-Matos L, Hernandez LM, Abreu N. Dental Bleaching Techniques; Hydrogen-carbamide Peroxides and Light Sources for Activation, an Update. Mini Review Article. *Open Dent J.* 2014;8:264-8.
46. Azer SS, Hague AL, Johnston WM. Effect of pH on tooth discoloration from food colorant in vitro. *J Dent.* 2010;38 Suppl 2:e106-9.
47. Azer SS, Hague AL, Johnston WM. Effect of bleaching on tooth discolouration from food colourant in vitro. *J Dent.* 2011;39, Supplement 3:e52-e6.
48. Seale NS, Thrash WJ. Systematic assessment of color removal following vital bleaching of intrinsically stained teeth. *J Dent Res.* 1985;64(3):457-61.
49. Battersby PD, Battersby SJ. Measurements and modelling of the influence of dentine colour and enamel on tooth colour. *J Dent.* 2015;43(3):373-81.
50. ten Bosch JJ, Coops JC. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. *J Dent Res.* 1995;74(1):374-80.
51. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study in vitro. *J Dent.* 2005;33(1):33-40.
52. Camargo SEA, Valera MC, Camargo CHR, Gasparoto Mancini MN, Menezes MM. Penetration of 38% Hydrogen Peroxide into the Pulp Chamber in Bovine and Human Teeth Submitted to Office Bleach Technique. *J Endodont.* 2007;33(9):1074-7.
53. Ubaldini AL, Baesso ML, Medina Neto A, Sato F, Bento AC, Pascotto RC. Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. *J Dent Res.* 2013;92(7):661-5.
54. Zeronian SH, Inglesby MK. Bleaching of cellulose by hydrogen peroxide. *Cellulose.* 1995;2(4):265-72.
55. Eimar H, Siciliano R, Abdallah MN, Nader SA, Amin WM, Martinez PP, et al. Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure. *J Dent.* 2012;40 Suppl 2:e25-33.
56. Atkins PW, Jones L. *Princípios de Química - 5.Ed.: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente*: Bookman; 2009.
57. Atkins PW, Jones L. *Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente*: Bookman; 1999.
58. Mattos ILd, Shiraishi KA, Braz AD, Fernandes JR. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. *Química Nov.* 2003;26:373-80.

59. Lee BS, Huang SH, Chiang YC, Chien YS, Mou CY, Lin CP. Development of in vitro tooth staining model and usage of catalysts to elevate the effectiveness of tooth bleaching. *Dent Mater.* 2008;24(1):57-66.
60. De Moor RJG, Verheyen J, Diachuk A, Verheyen P, Meire MA, De Coster PJ, et al. Insight in the Chemistry of Laser-Activated Dental Bleaching. *Scient. World J.* 2015;2015:650492.
61. Braun A, Jepsen S, Krause F. Spectrophotometric and visual evaluation of vital tooth bleaching employing different carbamide peroxide concentrations. *Dent Mater.* 2007;23(2):165-9.
62. Sulieman M, MacDonald E, Rees JS, Newcombe RG, Addy M. Tooth bleaching by different concentrations of carbamide peroxide and hydrogen peroxide whitening strips: an in vitro study. *J Esthet Restor Dent.* 2006;18(2):93-100; discussion 1.
63. Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Concentrations of and application protocols for hydrogen peroxide bleaching gels: effects on pulp cell viability and whitening efficacy. *J Dent.* 2014;42(2):185-98.
64. Torres CR, Souza CS, Borges AB, Huhtala MF, Caneppele TM. Influence of concentration and activation on hydrogen peroxide diffusion through dental tissues in vitro. *Scient World J.* 2013;2013:193241.
65. Pinheiro HB. Influência de cinco géis clareadores e de um gel remineralizante sobre a ultra-estrutura e microdureza do esmalte e da dentina de dentes humanos. [Dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2009.
66. Pinheiro HB. Influência de materiais bioativos sobre a dureza, ultraestrutura e conteúdo mineral de dentes clareados: estudo in situ. [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012.
67. Chen J-H, Xu J-W, Shing C-X. Decomposition rate of hydrogen peroxide bleaching agents under various chemical and physical conditions. *Prost Dent J.* 1993;69(1):46-8.
68. Abbot J, Brown DG. Kinetics of Iron-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide in alkaline solution. *Int Chemic Kinect J.* 1990;22(9):963-74.
69. Sa Y, Chen D, Liu Y, Wen W, Xu M, Jiang T, et al. Effects of two in-office bleaching agents with different pH values on enamel surface structure and color: an in situ vs. in vitro study. *J Dent.* 2012;40 Suppl 1:e26-34.
70. Xu B, Li Q, Wang Y. Effects of pH values of hydrogen peroxide bleaching agents on enamel surface properties. *Oper Dent.* 2011;36(5):554-62.
71. Pinheiro HB, Lopes B, Klautau EB, Cardoso J, Silva BR, Cardoso PEC. Influence of bioactive materials used on the dentin surface whitened with carbamide peroxide 16%. *Mat Reser.* 2010;13:273-8.

72. Young N, Fairley P, Mohan V, Jumeaux C. A study of hydrogen peroxide chemistry and photochemistry in tea stain solution with relevance to clinical tooth whitening. *J Dent*. 2012;40 Suppl 2:e11-6.
73. Frysh H, Bowles WH, Baker F, Rivera-Hidalgo F, Guillen G. Effect of pH on Hydrogen Peroxide Bleaching Agents. *Esthet and Rest Dent J*. 1995;7(3):130-3.
74. Torres CRG, Wiegand A, Sener B, Attin T. Influence of chemical activation of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on its penetration and efficacy—In vitro study. *J Dent*. 2010;38(10):838-46.
75. Torres CR, Crastechini E, Feitosa FA, Pucci CR, Borges AB. Influence of pH on the effectiveness of hydrogen peroxide whitening. *Oper Dent*. 2014;39(6):E261-8.
76. Corrêa IC. Análise do grau de conversão de uma resina experimental fotopolimerizável: um estudo espectrométrico em função de diferentes fotoiniciadores e fontes de luz. Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia São Paulo. 2003:151.
77. McCluney R. Introduction to radiometry and photometry Boston: Artech House; 2014.
78. Klán P, Wirz J. Photochemistry of Organic Compounds: From Concepts to Practice: Wiley; 2009.
79. Foote CS. Mechanisms of Photosensitized Oxidation. *Science*. 1968;162(3857):963-70.
80. Kopecky J. Organic photochemistry: a visual approach. Inc. BVp, editor1991. 285 p.
81. Wardle B. Principles and Applications of Photochemistry: Wiley; 2009.
82. Laustriat G. Molecular mechanisms of photosensitization. *Biochimie*. 1986;68(6):771-8.
83. Florez F. L. E AMF, Campos E. A., Oliveira Junior O. B., Bagnato V. S. and Panhoca V. H. In-office dental bleaching efficacy assessment in function of the light exposure regime by digital colorimetric reflectance spectroscopy. *J Dent and Oral Hygiene*. 2011;3(8):99-105.
84. Fornaini C, Lagori G, Merigo E, Meleti M, Manfredi M, Guidotti R, et al. Analysis of shade, temperature and hydrogen peroxide concentration during dental bleaching: in vitro study with the KTP and diode lasers. *Lasers Med Sci*. 2013;28(1):1-6.
85. Henry RK, Bauchmoyer SM, Moore W, Rashid RG. The effect of light on tooth whitening: a split-mouth design. *Int J Dent Hyg*. 2013;11(2):151-4.

86. Suyama Y, Otsuki M, Ogisu S, Kishikawa R, Tagami J, Ikeda M, et al. Effects of light sources and visible light-activated titanium dioxide photocatalyst on bleaching. *Dent Mater J.* 2009;28(6):693-9.
87. Buchalla W, Attin T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser--a systematic review. *Dent Mater.* 2007;23(5):586-96.
88. Ontiveros JC. In-office Vital Bleaching with Adjunct Light. *Dent Clin of North Americ.* 2011;55(2):241-53.
89. Florez FLE, Lins ECCC, Portero P, Lizarelli RFZ, Oliveira JOB, Bagnato VS, editors. Investigation of photo-bleaching through transmittance method in pigmented solution: understanding possible mechanisms and advantages for photo dental whitening. 2007.
90. He LB, Shao MY, Tan K, Xu X, Li JY. The effects of light on bleaching and tooth sensitivity during in-office vital bleaching: a systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2012;40(8):644-53.
91. Dahlstrom SW, Heithersay GS, Bridges TE. Hydroxyl radical activity in thermocatalytically bleached root-filled teeth. *Endod Dent Traumatol.* 1997;13(3):119-25.
92. Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pat.* 1965;19(4):515-30.
93. Kashima-Tanaka M, Tsujimoto Y, Kawamoto K, Senda N, Ito K, Yamazaki M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. *J Endod.* 2003;29(2):141-3.
94. Urey HC, Dawsey LH, Rice FO. The absorption spectrum and decomposition of hydrogen peroxide by light. *Americ Chemic Society J.* 1929;51(5):1371-83.
95. Pleffken PR, Borges AB, Goncalves SE, Rocha Gomes Torres C. The effectiveness of low-intensity red laser for activating a bleaching gel and its effect in temperature of the bleaching gel and the dental pulp. *J Esthet Restor Dent.* 2012;24(2):126-32.
96. Marson FC, Sensi LG, Vieira LC, Araujo E. Clinical evaluation of in-office dental bleaching treatments with and without the use of light-activation sources. *Oper Dent.* 2008;33(1):15-22.
97. Lima DA, Aguiar FH, Liporoni PC, Munin E, Ambrosano GM, Lovadino JR. In vitro evaluation of the effectiveness of bleaching agents activated by different light sources. *J Prosthodont.* 2009;18(3):249-54.
98. Luk K, Tam L, Hubert M. Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. *Americ Dent Assoc J.* 2004;135(2):194-201.

99. Suemori T, Kato J, Nakazawa T, Akashi G, Igarashi A, Hirai Y, et al. Effects of light irradiation on bleaching by a 3.5% hydrogen peroxide solution containing titanium dioxide. *Laser Physic L*. 2008;5(5):379-83.
100. Fenton HJH. LXXIII.-Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of the Chemical Society, Transactions*. 1894;65(0):899-910.
101. Haber F, Weiss J. The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Iron Salts 1934 1934-11-15 00:00:00. 332-51 p.
102. Silva MRAd, Oliveira MCd, Nogueira RFP. Estudo da aplicação do processo foto-Fenton solar na degradação de efluentes de indústria de tintas. *Ec Química*. 2004;29:19-26.
103. Ruppert G, Bauer R, Heisler G. The photo-Fenton reaction — an effective photochemical wastewater treatment process. *Photoche Photobio J*. 1993;73(1):75-8.
104. Legrini O, Oliveros E, Braun AM. Photochemical processes for water treatment. *Chemic Rev*. 1993;93(2):671-98.
105. Wang J, Guo Y, Liu B, Jin X, Liu L, Xu R, et al. Detection and analysis of reactive oxygen species (ROS) generated by nano-sized TiO₂ powder under ultrasonic irradiation and application in sonocatalytic degradation of organic dyes. *Ultrason Sonochem*. 2011;18(1):177-83.
106. Nogueira RFP, Trovó AG, Silva MRAd, Villa RD, Oliveira MCd. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos fenton e foto-fenton. *Químico Nov*. 2007;30:400-8.
107. Maezono T, Tokumura M, Sekine M, Kawase Y. Hydroxyl radical concentration profile in photo-Fenton oxidation process: Generation and consumption of hydroxyl radicals during the discoloration of azo-dye Orange II. *Chemosphere*. 2011;82(10):1422-30.
108. Fernández-Castro P, Vallejo M, San Román MF, Ortiz I. Insight on the fundamentals of advanced oxidation processes. Role and review of the determination methods of reactive oxygen species. *Chemic Tech & Biotech J*. 2015;90(5):796-820.
109. Oliveira C, Alves A, Madeira LM. Treatment of water networks (waters and deposits) contaminated with chlorfenvinphos by oxidation with Fenton's reagent. *Chemical Engineering Journal*. 2014;241:190-9.
110. Sakai K, Kato J, Kurata H, Nakazawa T, Akashi G, Kameyama A, et al. The amounts of hydroxyl radicals generated by titanium dioxide and 3.5% hydrogen peroxide under 405-nm diode laser irradiation. *Laser Physics*. 2007;17(8):1062-6.
111. Masten SJ, Davies SHR. The use of ozonation to degrade organic contaminants in wastewaters. *Enviro Scienc & Tech*. 1994;28(4):180A-5A.

112. Morais JLD. Estudo da potencialidade de processos oxidativos avançados, isolados e integrados com processos biológicos tradicionais, para tratamento de chorume de aterro sanitário. [Tese] Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química; 2005.
113. Al-Omiri MK, Abul Hassan RS, AlZarea BK, Lynch E. Improved tooth bleaching combining ozone and hydrogen peroxide-A blinded study. *J Dent.* 2016;46:30-5.
114. Zanjani VA, Ghasemi A, Torabzadeh H, Jamali M, Razmavar S, Baghban AA. Bleaching effect of ozone on pigmented teeth. *Dent Res J (Isfahan).* 2015;12(1):20-4.
115. Pignatello JJ, Oliveros E, MacKay A. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Critical Reviews in Enviro Scienc and Tech.* 2006;36(1):1-84.
116. Kang YW, Hwang K-Y. Effects of reaction conditions on the oxidation efficiency in the Fenton process. *Water Res.* 2000;34(10):2786-90.
117. Parsons S. Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment: IWA; 2004.
118. Neto BB, Scarminio IS, Bruns RE. Como fazer experimentos: Aplicações na Ciência e na Indústria: Bookman; 2010.
119. Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escalera LA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta.* 2008;76(5):965-77.
120. Box GEP, Draper NR. Empirical model-building and response surfaces: Wiley; 1987.
121. Box GEP, Hunter JS, Hunter WG. Statistics for experimenters: design, innovation, and discovery: Wiley-Interscienc. 2005.
122. Myers RH, Montgomery DC, Anderson-Cook CM. Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments: Wiley; 2009.
123. Bernardon JK, Sartori N, Ballarin A, Perdigao J, Lopes GC, Baratieri LN. Clinical performance of vital bleaching techniques. *Oper Dent.* 2010;35(1):3-10.
124. He W, Liu Y, Wamer WG, Yin J-J. Electron spin resonance spectroscopy for the study of nanomaterial-mediated generation of reactive oxygen species. *J Food and Drug Anal.* 2014;22(1):49-63.
125. Cohn CA, Mueller S, Wimmer E, Leifer N, Greenbaum S, Strongin DR, et al. Pyrite-induced hydroxyl radical formation and its effect on nucleic acids. *Geochemical Transactions.* 2006;7:3-.

126. Makino K, Hagiwara T, Hagi A, Nishi M, Murakami A. Cautionary note for DMPO spin trapping in the presence of iron ion. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;172(3):1073-80.
127. Noda Y, Kohno M, Mori A, Packer L. Automated electron spin resonance free radical detector assays for antioxidant activity in natural extracts. *Methods Enzymol.* 1999;299:28-34.
128. Davies MJ. Detection and characterisation of radicals using electron paramagnetic resonance (EPR) spin trapping and related methods. *Methods.*
129. Barnhart MI. CHAPTER 5 - Immunochemistry A2 - Seegers, Walter H. *Blood Clotting Enzymology: Academic Press; 1967.* p. 217-77.
130. Perez R, Garcia M, Castilla-Cortazar I, Quiroga J, Delgado G, Gonzalez-Baron S, et al. Characterization of mitochondrial dysfunction in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis: the effect of insulin-like growth factor-I (IGF-I). *J of Hepat.* 2001;34:79.
131. Bramuglia GF, Cortada CM, Curras V, Höcht C, Buontempo F, Mato G, et al. Relationship between P-glycoprotein activity measured in peripheral blood mononuclear cells and indinavir bioavailability in healthy volunteers. *J Pharmac Scie.* 2009;98(1):327-36.
132. Ingredientes. A. Os Corantes Alimentícios. Editora Insumos. 2009;62.
133. MERCOSUL/GMC/RES Nº 11/06 - Regulamento técnico Mercosul sobre "lista geral harmonizada de aditivos alimentares e suas classes funcionais". 2006.
134. Terenziani F, Katan C, Badaeva E, Tretiak S, Blanchard-Desce M. Enhanced Two-Photon Absorption of Organic Chromophores: Theoretical and Experimental Assessments. *Adv Mat.* 2008;20(24):4641-78.
135. Göppert-Mayer M. Über Elementarakte mit zwei Quantensprüngen. *Annalen der Physik.* 1931;401(3):273-94.
136. Pimenta A, Frasson Scafi S, Pasquini C, Raimundo Jr I, Rohwedder J, da Conceição B.S.M. Montenegro M, et al. Determination of hydrogen peroxide by near infrared spectroscopy. *Near Infrared Spectrosc J.* 2003;11(1):49-53.
137. Gandra N, Frank AT, Le Gendre O, Sawwan N, Aebisher D, Liebman JF, et al. Possible singlet oxygen generation from the photolysis of indigo dyes in methanol, DMSO, water, and ionic liquid, 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate. *Tetrahedron.* 2006;62(46):10771-6.
138. Paul S, Peter A, Pietrobon N, Hämmerle CHF. Visual and Spectrophotometric Shade Analysis of Human Teeth. *J Dent Res.* 2002;81(8):578-82.

139. Guan YH, Lath DL, Lilley TH, Willmot DR, Marlow I, Brook AH. The measurement of tooth whiteness by image analysis and spectrophotometry: a comparison. *J Oral Rehab.* 2005;32(1):7-15.
140. Roderjan DA, Stanislawczuk R, Hebling J, Costa CAdS, Reis A, Loguercio AD. Response of Human Pulps to Different In-Office Bleaching Techniques: Preliminary Findings. *Brazil Dent J.* 2015;26:242-8.
141. Gentil FHU. Estudo clínico comparativo entre diferentes sistemas de clareamento de uso em consultório [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2015.
142. Duque CC, Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Bleaching effectiveness, hydrogen peroxide diffusion, and cytotoxicity of a chemically activated bleaching gel. *Clin Oral Investig.* 2014;18(6):1631-7.
143. Papathanasiou A, Kastali S, Perry RD, Kugel G. Clinical evaluation of a 35% hydrogen peroxide in-office whitening system. *Compend Contin Educ Dent.* 2002;23(4):335-8, 40, 43-4 passim; quiz 48.

ANEXO A

O modo de preparo da solução que compõe cada ensaio está demonstrado a seguir:

Ensaio 1:	Ensaio 2:
- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.	- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.
- 1ml de complexo de ferro a 0.027%	- 1ml de complexo de ferro a 0.0135%
- 1ml de peróxido de hidrogênio a 2.7%	- 1ml de peróxido de hidrogênio a 1.35%
- 30 min de exposição	- 15 min de exposição
Ensaio 3:	Ensaio 4:
- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.	- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.
- 1ml de complexo de ferro a 0.0405%	- 1ml de complexo de ferro a 0.0135%
- 1ml de peróxido de hidrogênio a 1.35%	- 1ml de peróxido de hidrogênio a 4.05%
- 15 min de exposição	- 15 min de exposição
Ensaio 5:	Ensaio 6:
- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.	- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.
- 1ml de complexo de ferro a 0.0405%	- 1ml de complexo de ferro a 0.0135%
- 1ml de peróxido de hidrogênio a 4.05%	- 1ml de peróxido de hidrogênio a 1.35%
- 15 min de exposição	- 45 min de exposição
Ensaio 7:	Ensaio 8:
- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.	- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.
- 1ml de complexo de ferro a 0.0405%	- 1ml de complexo de ferro a 0.0135%
- 1ml de peróxido de hidrogênio a 1.35%	- 1ml de peróxido de hidrogênio a 4.05%
- 45 min de exposição	- 45 min de exposição
Ensaio 9:	Ensaio 10:
- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.	- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.
- 1ml de complexo de ferro a 0.0405%	- 1ml de complexo de ferro a 0.00429%
- 1ml de peróxido de hidrogênio a 4.05%	- 1ml de peróxido de hidrogênio a 2.7%
- 45 min de exposição	- 30 min de exposição
Ensaio 11:	Ensaio 12:
- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.	- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.
- 1ml de complexo de ferro a 0.0495%	- 1ml de complexo de ferro a 0.027%
- 1ml de peróxido de hidrogênio a 2.7%	- 1ml de peróxido de hidrogênio a 0.429%
- 30 min de exposição	- 30 min de exposição

Ensaio 13:	Ensaio 14:
- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.	- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.
- 1ml de complexo de ferro a 0.027%	- 1ml de complexo de ferro a 0.027%
- 1ml de peróxido de hidrogênio a 4.95%	- 1ml de peróxido de hidrogênio a 2.7%
- 30 min de exposição	- 5 min de exposição
Ensaio 15:	Ensaio 16:
- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima final.	- 1ml de corante na [%] 3 vezes acima da final.
- 1ml de complexo de ferro a 0.027%	- 1ml de complexo de ferro a 0.027%
- 1ml de peróxido de hidrogênio a 2.7%	- 1ml de peróxido de hidrogênio a 2.7%
- 55 min de exposição	- 30 min de exposição

ANEXO B

Procedimento para purificação do DMPO:

1 – Retirou-se do freezer (-20 °C) a ampola de DMPO na forma de pasta e aguardou-se até que o composto passasse para o estado líquido. Foi realizada a homogeneização e transferência do líquido para 1 eppendorf de maneira a facilitar a manipulação.

2 – Para cada 0,5 mL de DMPO, foram adicionados 2,5 mL de uma solução contendo 0,1mM de ácido dietilenotriamina-pentacético (DTPA). A solução de DTPA deve foi preparada utilizando água desionizada (18 MΩ cm).

3 – Transferiu-se 3 mL para um tubo de ensaio plástico contendo 0,15 g de carvão ativo e este foi levado para vortexear por 3 ou 4 vezes por aproximadamente 7 segundos por vez e posteriormente foi centrifugado por 15 minutos a aproximadamente 3500 RPM. Estes passos foram repetidos por mais 2 vezes.

4 – A solução restante foi filtrada através de um filtro para seringa com poros de 0,22 µm ou 0,45 µm de uso em sistemas aquosos, homogeneizada e transferida para eppendorfs com alíquotas de 250 µL. Estes foram guardados no freezer (-20 °C) para uso posterior.

A concentração de DMPO nessa solução foi de aproximadamente 1,6 M.

ANEXO C

Espectros de EPR foram obtidos utilizando um espectrômetro de banda-X (9-10 GHz) da marca JEOL (modelo JES-FR30, JEOL Co. Ltd., Tóquio, Japão) equipado com uma cavidade cilíndrica de 43,5 mm de altura operando no modo TE_{011} . Os parâmetros instrumentais para a obtenção dos espectros foram: (i) frequência de micro-ondas = 9,4 GHz; (ii) atenuação de micro-ondas = 9 dB; (iii) potência de micro-ondas = 4 mW; (iv) campo magnético central = 3370 G; (v) tempo de varredura = 1 min; (vi) frequência de modulação do campo magnético = 100 kHz; (vii) amplitude de modulação do campo magnético = 3,2 G; (viii) ganho de amplificação = 790; (ix) constante de tempo do detector sensível à fase (PSD - Phase Sensitive Detector) = 300 ms; (x) número de espectros acumulados = 1.

ANEXO D

Parecer consubstanciado emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DE PROCESSOS DO TIPO FOTO FENTON NO CLAREAMENTO DENTAL

Pesquisador: Bruno Antunes Lopes

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 54453216.7.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.585.000

Apresentação do Projeto:

Segundo pesquisadores: "Este estudo experimental in vitro tem como objetivo quantificar o clareamento dental de caninos inferiores fornecido pelo banco de dentes da Faculdade de Odontologia da USP, utilizando diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, associadas ou não a fonte de luz LED e a complexos ferrosos. "

Objetivo da Pesquisa:

Segundo os pesquisadores:

"Hipótese: Embora existam inúmeros sistemas de clareamento dental para uso em consultório, a maioria apresenta, como princípio ativo, o peróxido de hidrogênio em altas concentrações (25 a 38%), sendo que algumas marcas comerciais preconizam o uso de uma fonte de luz LED para potencializar o resultado^{1; 2; 3; 4}. A partir do estudo prévio "Optimization of dental whitening by the photo-fenton process", que avaliou o clareamento de corantes alimentares, desenvolveu-se uma nova fórmula de clareador baseada no processo foto-Fenton. Nesta, o peróxido de hidrogênio, em baixa concentração (1 a 5%), é associado a complexos ferrosos, sendo a reação catalisada por luz LED. Os resultados mostraram-se bastante promissores e superiores aos obtidos com fórmulas já utilizadas em Odontologia. A continuação natural do estudo citado acima seria testar esta nova fórmula em dentes extraídos e comparar os resultados a clareadores já

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
 UF: SP Município: SÃO PAULO
 Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.505.000

comercializados em Odontologia. Espera-se encontrar diferentes graus de clareamento das estruturas dentais dependendo da: 1- Concentração do peróxido de hidrogênio; 2- Presença de complexo ferroso; 3- Associação à fonte de luz LED.

Objetivo Primário: Este estudo tem como objetivo quantificar o clareamento dental de caninos inferiores extraídos, utilizando diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, associadas ou não a fonte de luz LED e a complexos ferrosos. "

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

São citados pelos pesquisadores:

***Riscos:** Não tem risco direto, pois os dentes são doados pelo banco de dentes da FOUSP.

Benefícios: Desenvolvimento de novas tecnologias para o clareamento dental."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão utilizados 108 caninos inferiores fornecido pelo Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da USP. Estes dentes serão divididos em vários grupos testes. Ao final da pesquisa, os dentes serão devolvidos ao Banco de Dentes da FOUSP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta:

Carta de autorização para doação dos dentes do Banco de Dentes da FOUSP e Coordenador do Bloco da FOUSP;

Folha de rosto;

Projeto anexado.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram feitas todas as recomendações sugeridas.

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.505.000

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_682900.pdf	24/05/2016 11:03:37		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	24/05/2016 11:02:26	Bruno Antunes Lopes	Aceito
Outros	Alteracoes_feitas_apos_parecer_2.docx	24/05/2016 10:44:36	Bruno Antunes Lopes	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	23/03/2016 10:23:54	Bruno Antunes Lopes	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biolanco	Autorizacao_banco_de_dentes.jpg	18/03/2016 17:41:02	Bruno Antunes Lopes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 10 de Junho de 2016

Assinado por:

Marta Gabriela Haye Blazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: ceplo@usp.br

ANEXO E

A saliva artificial foi composta por: (i) 3,4g de fosfato de potássio monobásico; (ii) 3,41g de fosfato de sódio bibásico anidro; (iii) 15,02g de bicarbonato de potássio; (iv) 5,84g de cloreto de sódio; (v) 0,3g de cloreto de magnésio; (vi) 2,21g de cloreto de cálcio; e (vii) 4,8g de ácido cítrico, diluídos em 1 litro de água destilada.

ANEXO F

GRUPOS CONTROLE – VERDE RÁPIDO

A porcentagem de remoção de cor para os grupos controle do corante Verde Rápido está demonstrada a seguir.

A reação de Fenton foi menos eficiente em comparação a reação de foto-Fenton. Dependendo da condição experimental, o gluconato ferroso, foi mais eficaz do que o citrato férrico (figura F.1).

Figura F.1 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Verde Rápido, com a utilização de H_2O_2 + complexos de ferro (reação de Fenton)

A utilização de somente H_2O_2 , não foi efetiva para a remoção de cor, apresentando aproximadamente 10% de remoção de cor (figura F.2).

Figura F.2 – Gráfico da porcentagem de remoção do corante Verde Rápido, utilizando apenas H_2O_2

Já a irradiação LED, mostrou-se capaz de melhorar o clareamento quando associada ao H_2O_2 (figura F.3).

Figura F.3 – Gráfico da porcentagem de remoção do corante Verde Rápido, utilizando H_2O_2 + irradiação LED

O corante Verde Rápido foi estável durante todo tempo utilizado nos ensaios (55 minutos), não apresentando perda de cor durante esse período, mesmo na presença de irradiação LED (figuras F.4 e F.5).

Figura F.4 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Verde Rápido, sem a utilização de H_2O_2 , complexos de ferro ou irradiação LED

Figura F.5 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Verde Rápido, utilizando irradiação LED

A utilização de apenas gluconato ferroso ou citrato férrico para a remoção do corante foi praticamente nula (figura F.6), sendo que, ao ser irradiado pelo LED o citrato férrico foi capaz de descolorir a solução (figura F.7).

Figura F.6 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Verde Rápido, utilizando os complexos de ferro

Figura F.7 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Verde Rápido, utilizando os complexos de ferro + irradiação LED

ANEXO G

GRUPOS CONTROLE – CARMIM

A porcentagem de remoção de cor para os grupos controle do corante Carmim está demonstrada a seguir.

A reação de Fenton teve uma menor eficiência que a reação de foto-Fenton. Dependendo da condição experimental, o gluconato ferroso, foi mais eficaz do que o citrato férrico (figura G.1).

Figura G.1 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Carmim, com a utilização de H_2O_2 + complexos de ferro (reação de Fenton)

A utilização de somente H_2O_2 , não foi efetiva para a remoção de cor, apresentando no máximo 25% de remoção de cor (figura G.2).

Figura G.2 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Carmim, utilizando apenas H_2O_2

A irradiação LED, mostrou-se capaz de melhorar o clareamento quando associada ao H_2O_2 (figura G.3).

Figura G.3 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Carmim, utilizando H_2O_2 + irradiação LED

O corante Carmim foi estável durante todo tempo utilizado nos ensaios (55 minutos), não apresentando perdas consideráveis de cor durante esse período (figura G.4). Porém o mesmo, sofreu fotólise e consequentemente perda de cor na presença de irradiação LED (figura G.5).

Figura G.4 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Carmim, sem a utilização de H_2O_2 , complexos de ferro ou irradiação LED

Figura G.5 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Carmim, utilizando irradiação LED

A utilização de apenas gluconato ferroso ou citrato férrico para a remoção do corante foi praticamente nula (figura G.6), sendo que, ao serem irradiados pelo LED os dois complexos de ferro foram capazes de descolorirem as soluções (figura G.7).

Figura G.6 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Carmim, utilizando os complexos de ferro

Figura G.7 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Carmim, utilizando os complexos de ferro + irradiação LED

ANEXO H

GRUPOS CONTROLE – ÍNDIGO CARMIM

A porcentagem de remoção de cor para os grupos controle do corante Índigo Carmim está demonstrada a seguir.

A reação de Fenton, dependendo da condição experimental, teve uma menor eficiência que a reação de foto-Fenton. Além disso, o gluconato ferroso, foi mais eficaz do que o citrato férrico no processo de descoloração (figura H.1).

Figura H.1 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Índigo Carmim, com a utilização de H_2O_2 + complexos de ferro (reação de Fenton)

A utilização de somente H_2O_2 , não foi efetiva para a remoção de cor (figura H.2).

Figura H.2 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Índigo Carmim, utilizando apenas H_2O_2

A irradiação LED, mostrou-se capaz de melhorar o clareamento quando associada ao H_2O_2 (figura H.3).

Figura H.3 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Índigo Carmim, utilizando H_2O_2 + irradiação LED

O corante Índigo Carmim foi estável durante todo tempo utilizado nos ensaios (55 minutos), não apresentando perda de cor durante esse período, mesmo na presença de irradiação LED (figuras H.4 e H.5).

Figura H.4 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Índigo Carmim, sem a utilização de H_2O_2 , complexos de ferro ou irradiação LED

Figura H.5 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Índigo Carmim, utilizando irradiação LED

A utilização de apenas complexos de ferro para a remoção do corante foi praticamente nula (figura H.6), sendo que, ao serem irradiados pelo LED o citrato férrico foi capaz de descolorir as soluções em até 40% (figura H.7).

Figura H.6 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Índigo Carmim, utilizando os complexos de ferro

Figura H.7 - Gráfico da porcentagem de remoção do corante Índigo Carmim, utilizando os complexos de ferro + irradiação LED