

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Maria Beatriz Freitas D'Arce

AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO DE COR DE FRAGMENTOS DENTAIS
BOVINOS COM DIFERENTES ESPESSURAS E DIFERENTES
PROTOCOLOS DE CLAREAMENTO.

Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em Clínica Odontológica, área de concentração em Dentística.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Lovadino
Co-orientadora: Profa. Dra. Débora Alves Nunes Leite Lima

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação
Defendida pela aluna Maria Beatriz Freitas D'Arce, e orientada pelo Prof.Dr. José Roberto Lovadino.

Assinatura do Orientador

PIRACICABA-SP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
GARDÊNIA BENOSSI – CRB8/8644 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

D243a D'Arce, Maria Beatriz Freitas.
Avaliação da alteração de cor de fragmentos dentais bovinos com diferentes espessuras e diferentes protocolos de clareamento / Maria Beatriz Freitas D'Arce. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2011.

Orientador: José Roberto Lovadino.
Coorientador: Débora Alves Nunes Leite Lima.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Análise Espectral. 2. Dentes - Clareamento. I. Lovadino, José Roberto. II. Lima, Débora Alves Nunes Leite. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: Color change evaluation of bovine dental fragments with different thicknesses and different bleaching protocols

Palavras-chave em Inglês:

Spectrum analysis

Tooth bleaching

Área de concentração: Dentística

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca examinadora:

José Roberto Lovadino [Orientador]

Luís Roberto Marcondes Martins

Priscila Christiane Suzy Liporoni

Data da defesa: 21-06-2011

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 21 de Junho de 2011, considerou a candidata MARIA BEATRIZ FREITAS D'ARCE aprovada.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Mauadino", written over a horizontal line.

Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO LOVADINO

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Liporoni", written over a horizontal line.

Profa. Dra. PRISCILA CHRISTIANE SUZY LIPORONI

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Martins", written over a horizontal line.

Prof. Dr. LUIS ROBERTO MARCONDES MARTINS

DEDICATÓRIA

À Deus por sempre me proteger e iluminar o caminho desta jornada.
Agradeço a oportunidade comemorar mais esta vitória junto aos meus familiares e
amigos queridos.

Ao meu pai, Belmiro (in memorian), por todo amor e apoio que sempre
dedicou a mim. Com a certeza de que estará sempre ao meu lado, compartilhando
todos os momentos de minha vida, divido agora com você mais uma conquista.

Saudades e amor eterno!

À minha mãe, Celia, por sempre incentivar o crescimento dos seus filhos.
Agradeço todo o amor, confiança, paciência e companheirismo. Sem o seu apoio
nada disto seria possível. Eu te amo!

Aos meus irmãos José Ricardo, Regina e Beto, por todos os momentos que
passamos juntos. Obrigada pela torcida e cumplicidade de sempre...vocês são,
indiscutivelmente, os meus melhores amigos e as pessoas que mais amo neste
mundo.

Aos meus amores: Natália, Tiago e Manuela. A vida é muito melhor com
vocês por perto! Amor maior que este eu não conheço!

Aos meus cunhados Rosângela, Edilaine e Gabriel. Obrigada pelo carinho e
por trazer mais felicidade para esta família!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Roberto Lovadino, por me dar a oportunidade de ser sua aluna e de compartilhar comigo todo seu conhecimento e experiência. Agradeço pela convivência sempre agradável e pela segurança de poder contar com o senhor para meu crescimento pessoal e profissional. Obrigada pela confiança em mim depositada!

À Profa. Dra. Débora Alves Nunes Leite Lima, minha co-orientadora querida, por toda a dedicação em me ajudar neste trabalho. Agradeço todo aprendizado nestes anos de convívio, pela sua generosidade ímpar, e por me ajudar a melhorar a cada dia sempre com uma palavra de incentivo.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade de Campinas, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior e ao diretor associado Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia.

À Coordenadora Geral da Pós-Graduação da FOP/UNICAMP, Prof. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia e ao Coordenador associado Prof. Dr. Ricardo Della Coleta.

Ao Coordenador do curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da FOP/UNICAMP, Prof. Dr. Márcio de Moraes.

À secretária da Coordenadoria de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP, Érica Alessandra Pinho Sinhoreti, por toda atenção dispensada.

Ao Prof. Dr. Luis Alexandre Maffei Sartini Paulillo, por toda disponibilidade em me ajudar durante estes anos.

Ao Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar, por estar sempre disponível em ajudar e contribuir para o aprimoramento deste trabalho. Obrigada de coração!

À Prof. Dra. Giselle Maria Marchi Baron, pela ótima convivência e pelo carinho e atenção que sempre dispensou a mim.

Aos professores da Área de Dentística, Prof. Dr. Luis Roberto Marcondes Martins, Prof. Dr. Marcelo Giannini, pela convivência e por todo conhecimento transmitido na pós-graduação.

A Prof. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano, por estar sempre disponível em ajudar nas análises estatísticas.

Aos colegas de mestrado: Boniek, Carlos Eduardo, Diogo, Eduardo, Giovana, Larissa, Lívia, Lúcia, Mayra, Milena, Natália, Paulo, Priscila e Robson, agradeço a colaboração de cada um de vocês para o meu crescimento!

Aos colegas de Pós-Graduação do Doutorado: Adriano, Anderson, Bruno, Cíntia, Gisele, Giulliana, Maria, Marina, Thaiane e Thiago. Obrigada pela ótima convivência e carinho comigo!

Aos funcionários da Área de Dentística, Sr. Pedro Justino e Mônica Barnabé, pela disposição em me ajudar sempre que possível. Obrigada por tudo!

Aos meus amigos Adriano, Bruno, Cecília, Lívia, Maria e Priscila por toda a amizade e contribuição para me ajudar a realizar este trabalho. Espero poder retribuir todo este carinho!

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão do Auxílio Pesquisa (#10/50336-7), ajuda fundamental para que este trabalho fosse realizado.

À CAPES, por disponibilizar minha bolsa de mestrado.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

“Senhor, dá-me serenidade para aceitar tudo aquilo que não pode e
não deve ser mudado.
Dá-me força para mudar tudo o que pode e deve ser mudado.
Mas, acima de tudo, dá-me sabedoria para distinguir uma coisa da
outra.” (São Francisco de Assis)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a efetividade de géis clareadores de alta e baixa concentração no esmalte e dentina profunda. Foram utilizados 50 fragmentos dentais bovinos previamente manchados em solução de chá preto (6 dias) e divididos aleatoriamente em 10 grupos (n=5), de acordo a espessura do fragmento dental (2 mm e 3,5 mm) e com o agente clareador: Peróxido de Carbamida (PC) 10% (4h diárias / 21 dias); Peróxido de Hidrogênio (PH) 6% com cálcio (1:30h diária / 21 dias); PH 20% com cálcio (50 min por sessão / 3 sessões com 7 dias de intervalo); PH35% (3 x 15 min por sessão / 3 sessões com intervalo de 7 dias); PH35% com cálcio (40 min por sessão / 3 sessões com intervalo de 7 dias). As amostras foram armazenadas em saliva artificial durante as 3 semanas de tratamento. A eficácia do tratamento clareador foi avaliada através de um espectrofotômetro (Konica Minolta CM 700d, Japan) e os resultados expressos nas normas do sistema CIE Lab. As leituras de cor do esmalte e dentina foram realizadas antes do manchamento, após o manchamento e após cada semana do tratamento clareador. Para a coordenada L* foi aplicado o teste de Tukey-Kramer ($p<0,05$). Para variável ΔE foi aplicada análise de variância em esquema de parcelas subdivididas e teste de Tukey ($p<0,05$). Os resultados demonstraram que o clareamento do esmalte não dependeu da concentração do gel clareador. Para o clareamento da porção mais profunda da dentina, PH20% com cálcio e PH35% com cálcio apresentaram os menores valores de reflectância diferindo estatisticamente de PC10%.

O peróxido de hidrogênio em altas concentrações com cálcio apresentou menor eficácia no clareamento em profundidade em relação ao peróxido de carbamida 10%.

Palavras chave: Clareamento dental; peróxido de hidrogênio; peróxido de carbamida; pigmentação dental.

ABSTRACT

This study evaluated the effectiveness of low- and high-concentration bleaching agents on enamel and deep dentin. Fifty stained bovine incisors fragments were randomized and placed into 10 groups (n=5), according to the sample thicknesses (2.0 mm or 3.5 mm) and bleaching agent: 10% carbamide peroxide (CP) (4 h a day/21 days); 6% hydrogen peroxide (HP) with calcium (1:30 h a day/21 days); HP 20% with calcium (50 min a day/3 sessions with a 7-day interval); HP 35% (3 x 15 min a day/3 sessions with a 7-day interval); HP 35% with calcium (40 min a day/3 sessions with a 7-day interval). The samples were stored in artificial saliva during the experiment. The efficacy of bleaching was measured using a spectrophotometer (Konica Minolta CM 700d, Japan) and the data was expressed in CIE Lab System values. The color measurement was evaluated during the initial analysis, after artificially staining with black tea and after each of the bleaching weeks. The L* coordinate data was submitted to analysis of variance and Tukey-Kramer tests ($\alpha=0.05$) and the ΔE values data was submitted for analysis of variance in a split-plot ANOVA and Tukey's test ($\alpha=0.05$). The results demonstrated that none of the bleaching agents tested differed from the reflectance values on the enamel surface. For deep dentin, HP 20% with calcium and HP 35% with calcium showed the lowest reflectance values, which differed from CP 10%. The efficacy of bleaching the enamel surface was independent of gel concentration used. The high concentration hydrogen peroxide with calcium was less effective in deep dentin than the 10% carbamide peroxide.

Keywords: Dental bleaching, hydrogen peroxide, carbamide peroxide, dental staining

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO ÚNICO – Effectiveness of dental bleaching in depth after using different bleaching agents.	3
CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	21
APÊNDICE	23

INTRODUÇÃO

As alterações de cor dentais podem ser definidas em categorias de acordo com a localização e as razões do manchamento. Geralmente, o “manchamento extrínseco” ocorre pela deposição de pigmentos na superfície dental, tais como os causados por uso de café, chá e tabaco. Já as alterações de cor intrínsecas são definidas pela deposição de cromógenos na estrutura do esmalte ou dentina durante a formação do dente como, por exemplo, por fluorose ou contaminação por tetraciclina (Kwon, 2002). Um terceiro tipo é conhecido como “manchamento internalizado” no qual a pigmentação extrínseca penetra no interior do dente através de defeitos no esmalte (trincas) ou pela degradação de materiais restauradores como o amálgama (Lee, 2008).

A cor do dente é influenciada pela combinação entre sua cor intrínseca e pela presença de manchas extrínsecas. A reflexão e absorção da luz pelo esmalte e dentina são os responsáveis pela imagem formada do objeto para o observador, sendo as propriedades ópticas da dentina de papel determinante (Joiner, 2006). A estética do sorriso, para padrões de beleza atuais, está intimamente ligada à coloração dental. O tratamento restaurador foi apontado durante muitos anos como a única solução estética para dentes escurecidos, assim a busca por tratamentos mais conservadores sem a necessidade de desgaste da estrutura dental, fez do clareamento dental um procedimento amplamente utilizado para a resolução destes casos (Kihn, 2007).

O mecanismo de clareamento dental ainda não foi totalmente esclarecido e a teoria mais aceita é a de que o peróxido de hidrogênio difunde-se através do esmalte dental atingindo a dentina, onde reage com os cromóforos orgânicos responsáveis pela alteração de cor dental (Ontiveros, 2009). Esta reação de clivagem ou redução, deixando as moléculas de pigmento pequenas o suficiente para serem removidas da estrutura dental através da difusão, ou pelo menos promovem redução da absorção luz, dando aparência mais clara ao dente (Sulieman, 2004). O processo químico do clareamento baseia-se na ionização do peróxido de hidrogênio resultando na produção de radicais livres, os quais são mais ou menos potentes durante a reação de oxidação dos pigmentos orgânicos existentes na estrutura dental, dependendo da influência de vários fatores à reação como temperatura,

pH do meio, concentração do peróxido e tempo de ação disponível para uma melhor efetividade (Sun, 2000; Minoux & Saferty, 2008).

Os agentes clareadores à base de peróxidos estão disponíveis mais comumente em forma de géis, para o melhor controle na aplicação pelo profissional ou pelo paciente sob supervisão, e são utilizados em períodos determinados dependendo da sua concentração e da recomendação do fabricante. Estes produtos estão disponíveis com variação de 6 a 35% de peróxido de hidrogênio ou 10 a 37% de peróxido de carbamida. Heywood & Haymman (1989), desenvolveram esta técnica, amplamente utilizada até hoje, que preconiza o uso do peróxido de carbamida 10% em moldeiras customizadas, durante 6 a 8 horas por dia, por um período de 2 a 6 semanas. Os autores, em 1991, ainda confirmaram a segurança do seu protocolo frente ao clareamento com peróxido de hidrogênio de alta concentração, o chamado clareamento de consultório. Naquela época, o peróxido de hidrogênio a 30-35% já era usado há mais de 75 anos para este fim, mas tradicionalmente envolvia o uso de isolamento absoluto, condicionamento ácido do esmalte, e o uso de calor ou luz para potencializar a ação do peróxido aplicado topicamente sobre dente.

A penetração do peróxido de hidrogênio pelas estruturas do esmalte e dentina depende da concentração do produto bem como no seu tempo de permanência sobre a estrutura dental (Hanks, 1993; Camargo, 2007). Kihn (2007) afirmou que o aumento da concentração do gel permite a diminuição no tempo de aplicação do produto, uma vez que maior quantidade do princípio ativo estará presente. Porém, é questionado na literatura se o peróxido de hidrogênio em alta concentração aplicado na estrutura dental por um tempo reduzido é capaz de clarear a estrutura dental da mesma forma que o clareamento aplicado em baixa concentração e alta frequência (Nathoo *et al*, 2003). Diante disso, o objetivo deste estudo será avaliar a mudança de cor em profundidade no esmalte e dentina oposta de fragmentos dentais bovinos com diferentes espessuras, após diferentes protocolos de clareamento dental.

Capítulo Único

Effectiveness of Dental Bleaching in Depth after Using Different Bleaching Agents.

Maria Beatriz Freitas D'Arce - Department of Restorative Dentistry, Piracicaba Dental School, State University of Campinas-UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil

*Débora Alves Nunes Leite Lima – Department of Restorative Dentistry, Piracicaba Dental School, State University of Campinas-UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil

Flávio Henrique Baggio Aguiar – Department of Restorative Dentistry, Piracicaba Dental School, State University of Campinas-UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil

Carlos Eduardo dos Santos Bertoldo – Department of Restorative Dentistry, Piracicaba Dental School, State University of Campinas-UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil

Gláucia Maria Bovi Ambrosano – Department of Social Dentistry/Statistics, Piracicaba Dental School, State University of Campinas-UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil

José Roberto Lovadino – Department of Restorative Dentistry, Piracicaba Dental School, State University of Campinas-UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil

***Author to whom correspondence should be addressed. Present address:**

Débora Alves Nunes Leite Lima

Departamento de Odontologia Restauradora – Área Dentística

Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP

Av. Limeira, 901 – Areião. CEP 13414-903, Piracicaba – SP, Brasil

Tel.: +55-19-2106-5339. Fax: +55-19-2106-5200. E-mail: deboralima@fop.unicamp.br

ABSTRACT

This study evaluated the effectiveness of low- and high-concentration bleaching agents on enamel and deep dentin. Fifty stained bovine incisors fragments were randomized and placed into 10 groups (n=5), according to the sample thicknesses (2.0 mm or 3.5 mm) and bleaching agent: 10% carbamide peroxide (CP) (4 h a day/21 days); 6% hydrogen peroxide (HP) with calcium (1:30 h a day/21 days); HP 20% with calcium (50 min a day/3 sessions with a 7-day interval); HP 35% (3 x 15 min a day/3 sessions with a 7-day interval); HP 35% with calcium (40 min a day/3 sessions with a 7-day interval). The samples were stored in artificial saliva during the experiment. The efficacy of bleaching was measured using a spectrophotometer (Konica Minolta CM 700d, Japan) and the data was expressed in CIE Lab System values. The color measurement was evaluated during the initial analysis, after artificially staining with black tea and after each of the bleaching weeks. The L* coordinate data was submitted to analysis of variance and Tukey-Kramer tests ($\alpha=0.05$) and the ΔE values data was submitted for analysis of variance in a split-plot ANOVA and Tukey's test ($\alpha=0.05$). The results demonstrated that none of the bleaching agents tested differed from the reflectance values on the enamel surface. For deep dentin, HP 20% with calcium and HP 35% with calcium showed the lowest reflectance values, which differed from CP 10%. The efficacy of bleaching the enamel surface was independent of gel concentration used. The high concentration hydrogen peroxide with calcium was less effective in deep dentin than the 10% carbamide peroxide.

Keywords: Dental bleaching, hydrogen peroxide, carbamide peroxide, dental staining

INTRODUCTION

Several methods and approaches have been described in the literature for bleaching vital teeth, such as the use of different bleaching agents, concentrations, times of application and product format (Joiner, 2007). The commonly used bleaching agents are hydrogen and carbamide peroxide in several concentrations. Haywood and Heymann (1989) presented the technique of “night-guard vital bleaching,” that offers a safe and effective way of bleaching mildly discolored teeth using a soft custom tray with 10% carbamide peroxide worn by the patient at night. The use of a high concentration of bleaching agents, called “in-office” bleaching, seems to be an appropriate alternative to home bleaching applications (Buchalla & Attin, 2007) since the treatment is performed in an office with weekly sessions and then the product application time is less compared with home bleaching.

The mechanism by which teeth are whitened by oxidizing materials such as hydrogen peroxide and carbamide peroxide are not fully understood (Joiner, 2006; Kim *et al.*, 2011). The dissociation of hydrogen peroxide into free radicals may be influenced by the temperature, pH, and co-catalysts, leading to generation of different types of oxygen more or less potent than the original molecule (Sun, 2000; Minoux & Saferty, 2008). Also, the permeability of hydrogen peroxide through the structure of enamel and dentin depends of the concentration of the product as well as its exposure time on enamel surface (Hanks *et al.*, 1993).

Several studies have evaluated the different concentrations of hydrogen and carbamide peroxides on bleaching efficacy over the years (Leonard *et al.*, 1998; Matis *et al.*, 2000; Meireles *et al.*, 2008; Bizhang *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2009). According to Sueliman *et al.* (2004), there was a relationship between the number of applications and the concentration of bleaching gels and the higher concentration of hydrogen peroxide needed a lower number of applications to achieve the same efficiency of whitening. Bernardon *et al.* (2010) reported a similarity between the in-office and home bleaching techniques. A number of studies have reported the effectiveness of bleaching agents, but only a few paid direct attention to both in-office and at home approaches (Wiegand *et al.*, 2005; Dietschi *et al.*, 2006), simulating the clinical intraoral situation and assessing the color changes on the

enamel and dentin surfaces. The gel concentration increase allows a reduction in the time application of the bleaching agent, since a greater amount of active ingredient will be available (Kihn *et al.*, 2000). Therefore, in-office bleaching has many advantages compared with home treatments, such as a short agent bleaching exposition, no need to use trays, total control of the procedure performed by a dentist who does not depend on patient compliance, and others (Barghi, 1998). However, it is unclear if the hydrogen and carbamide peroxides' diffusion into dental structures allows a similar color change in deep dentin. According Garber *et al.* (1997), office treatments without association with home bleaching achieve lower color stability. Thus, the purpose of this study was to evaluate the bleaching treatment efficacy on color changes of enamel and deep dentin after bleaching with high- and low-concentration agents containing calcium or not in their composition.

MATERIALS AND METHODS

Fifty bovine incisors were stored in a thymol solution at 0.1% after collection and disinfection. These teeth were examined under a light microscope (4x) to investigate for the presence of gaps, cracks or any kind of pigmentation that would interfere with the bleaching evaluation. If some of these features were found, the tooth was discarded and replaced.

The crowns were separated from their roots through a section in the dentin-enamel junction using a double-faced diamond disc (KG Sorensen, Barueri, SP, Brazil) in a low-speed hand piece under constant water irrigation. The crowns were cut with a precision, slow-speed, water-cooled diamond saw (Imptech PC10, EquilamLab Equip., Diadema-SP, Brazil, 09960-500) to obtain blocks with an area of 25 mm² (5mm wide x 5mm long).

The enamel surface was flattened with silicon carbide (SiC) paper of #600 and #1200 grit under constant irrigation. Likewise, the dentine surface was abraded with SiC #600 and #1200 grit, achieving a block 2.0-mm thick (1 mm of enamel and 1 mm of dentin) or 3.5 mm thick (1.0 mm of enamel and 2.5 mm of dentin). Each specimen was marked with a diamond bur #1012 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brazil) on one of the sides to

standardize the sample position in the spectrophotometer (Konica Minolta CM 700d, Japan).

The initial reading (baseline) was performed using a spectrophotometer (CM-700d, Konica Minolta, Japan). The samples were positioned in a sample carrier to obtain the enamel and opposite dentin initial readings, taken in a light cabin (GTI Mini Matcher MM1e, GTI Graphic Technology Inc., Newburgh, NY, USA) to standardize the ambient light during the measurement process, and then the samples were subjected to a reading with the spectrophotometer. The test measures L^* , a^* , and b^* color space and this system are referred to as CIEL*a*b*. In the color space, L^* indicates lightness ($L^+ =$ lightness and $L^- =$ darkness), the a^* coordinate represents the red/green range ($a^+ =$ redness and $a^- =$ greenness) and the b^* coordinate represents for the yellow/blue range ($b^+ =$ yellowness and $b^- =$ blueness). The values of the coordinates a^* and b^* approach zero, indicating neutral colors (white and gray) and an increase in magnitude for more saturated or intense colors (Joiner, 2004). The $L^*a^*b^*$ system allows the numeric definition of a color as well as the difference between two colors using the following formula: $\Delta E = [(L_1 - L_0)^2 + (a_1 - a_0)^2 + (b_1 - b_0)^2]^{1/2}$ (Li, 2003). The data was read by a microcomputer using On Color QC Lite software (Konica Minolta, Japan) to generate spectral measurements as a function of wavelength for data processing and analysis.

After the baseline reading (Time 1), the dentin of each block was protected with sticky wax, and then the sample was immersed in a solution of black tea for six days at room temperature in order to stain the enamel surface (Sueliman, 2004) and adjacent dentin by diffusion. The tea solution was obtained by soaking 1.6 g of tea (black tea: Leão) in 100 ml boiling water for five minutes. The solution was changed every 24 hours for six days (Lima et al., 2008). The samples were stored in artificial saliva for 15 days to stabilize the staining and then a new color measurement was performed (Time 2). Before this reading, superficial enamel was cleaned with pumice, using a polishing rubber mounted at a contra angle to remove extrinsic stains.

For bleaching procedures, dental blocks were fixed in a device and approximately 1.0 mm of the bleaching agent was applied on the enamel surface. The gel was applied

according to the manufacturer's instructions. The bleaching procedures were performed according to the following protocols:

- **Groups 1 (2.0 mm) and 2 (3.5 mm): 10% carbamide peroxide (Whiteness Perfect – FGM, Santa Catarina, Brazil):** The bleaching agent remained in contact with the enamel surfaces for 4 h. The samples were inserted into an apparatus containing water to avoid dehydration, but without water contact with the surface containing the gel. Bleaching was performed daily for 21 days.
- **Groups 3 (2.0 mm) and 4 (3.5 mm): 6% hydrogen peroxide with calcium (White Class – FGM, Santa Catarina, Brazil):** The bleaching agent was applied in a similar manner according to groups 1 and 2; however, the gel remained on the enamel surface for 1:30 hr. A daily session of bleaching was performed for 21 days.
- **Groups 5 (2.0 mm) and 6 (3.5 mm): 20% hydrogen peroxide with calcium (Whiteness HP Blue–FGM, Santa Catarina, Brazil):** The bleaching agent was applied on the enamel surface for 50 min. Three bleaching sessions were performed and the interval between sessions was seven days.
- **Groups 7 (2.0 mm) and 8 (3.5 mm): 35% hydrogen peroxide (Whiteness HP Maxx–FGM, Santa Catarina, Brazil):** In every application, the bleaching agent was applied on the enamel surfaces for 15 min. Three gel applications were made in each session. Three bleaching sessions were performed and the interval between sessions was seven days.
- **Groups 9 (2.0 mm) and 10 (3.5 mm): 35% hydrogen peroxide with calcium (Whiteness HP Blue–FGM, Santa Catarina, Brazil):** The bleaching agent was applied on the enamel surface for 40 min. Three bleaching sessions were performed and the interval between sessions was seven days.

The entire procedure was performed in a temperature-controlled environment ($23.0 \pm 1^{\circ}\text{C}$). At the end of each bleaching session, samples were thoroughly washed in running water, dried with absorbent paper and stored in artificial saliva at a temperature of $37^{\circ}\text{C} \pm 2$. At the end of each bleaching week, there was a waiting period of 24 h for the specimens to rehydrate before spectrometer readings were taken (Times 3, 4 and 5).

After exploratory data analysis, the variable L^* was analyzed, considering repeated measures by the MIXED procedure of SAS. For the choice of the matrix of variance and covariance, Akaike information criterion was used, selecting the one with the lowest value for this parameter (Akaike, 1974). The adjusted means were obtained through the LSMEANS and the mean comparison was performed using the Tukey-Kramer test at a significance level of 5%. The variable ΔE was analyzed, considering repeated measures by the MIXED procedure of SAS and Split-plot ANOVA and Tukey's Test at a significance level of 5%.

RESULTS

• L^* Values ($L=100$ – lightness; $L=0$ – darkness)

Data shown in Graphic 1 (L^* enamel values) that the treatments were not statistically different for the enamel surface in two evaluated thickness during the bleaching process (Times 3, 4 and 5).

In Graphic 2 (L^* dentin values) for samples with a thickness of 3.5 mm, CP10% showed the highest L^* value, differing from HP20% and HP35%B in Times 4 and 5 on the dentine surface.

• Delta E (ΔE)

Table 1 refers the color variation media ($\Delta E1$) between the bleaching session (time) Black Tea Stain x First Session Bleaching. For samples 2-mm thick, the enamel surface showed a higher $\Delta E1$ for CP 10%, HP 6% and HP 35% with calcium and was statistically different from HP 20% with calcium. For 3.5-mm thick samples, CP10% and HP6% showed a higher $\Delta E1$ compared to HP 35% and HP 35% with calcium on the enamel surface.

Table 2 presents the $\Delta E2$ media for "First Bleaching Week x Second Bleaching Week." On the dentin surface, CP 10% and HP 6% had the highest $\Delta E2$, differing from the other treatments for samples with a 3.5 mm thickness.

Table 3 presents the $\Delta E3$ media of color variations between the second and third week of the bleaching process. For dentin of 3.5-mm thick samples, there was no significant difference between treatments.

For HP 35% with calcium, the 2.0-mm thick samples statistically differed from the 3.5-mm thick ones on the enamel surface, presenting a higher $\Delta E1$, and on the dentin surface, presenting a higher $\Delta E2$.

DISCUSSION

Color differences in bovine dental fragments were evaluated through reflectance measurements with the CIE Lab Color coordinate system. According to Dietschi *et al.* (2010), when the three coordinates of color dimensions are analyzed separately, L^* values, which depict the object lightness, appeared to be the most relevant parameter to make comparisons under experimental conditions.

The treatments studied did not differ for L^* values on the enamel surface. Nevertheless, the dentin surface of the 3.5 mm samples treated with HP 20% with calcium and HP 35% with calcium showed less whitening effects than the CP 10%. These findings are in agreement with Dietsch *et al.* (2006) who found that high-concentrate bleaching gels were less efficient than low-concentration ones for removing stains deposited in dentin. On the other hand, Matis *et al.* (2009) reported that the low-concentration bleaching agents used in the overnight system for six to eight hours a day had better outcomes compared with high-concentration bleaching treatments. The 10% carbamide peroxide treatment has proven its effectiveness over the years, since the technique was described by Haywood and Hayman in 1989.

According to Sun (2000), the carbamide peroxide dissociates into hydrogen peroxide and urea. Then, the urea continues to decompose into CO_2 e ammonia, considered a strong base that raises the pH environment and allows a higher perhydroxyl ($HOO\cdot$) production. This is the strongest free radical formed from hydrogen peroxide ionization and reacts with the organic pigments during the bleaching process. In addition, the CP 10% contains a lower concentration of hydrogen peroxide available to bleaching reaction compared to the others bleaching agents in the present study, therefore it needs a longer

time exposure in contact with the tooth surface to achieve a satisfactory bleaching result. According to Marshall *et al.* (2010), the carbamide peroxide presents bleaching effectiveness even after six hours using the gel in trays, so their longer half-life justifies their best performance.

According to Kwon (2002), hydrogen peroxide apparently has the power to produce microporosity on the tooth surface while degrading the organic material during bleaching. This phenomenon would occur, regardless of the gel's pH and despite these changes not being clinically perceived. They occur mainly through the use of a high-concentration bleaching agent (Gomes *et al.*, 2009). Lately, small amounts of calcium have been added to high-concentration bleaching gels, since the calcium present may decrease the speed of mineral loss reactions (Hughes *et al.*, 2000). In the present study, the dentin surface of 3.5-mm samples did not reach the initial L* values (before staining) after a bleaching treatment with HP 20% and HP 35%, both with calcium. The hypothesis suggested is that calcium gluconate in these gels may have interfered with the transitional mineral exchanges that occurred during the bleaching process, resulting in a worse action of the gels. The bleaching agents may be more calcium saturated momentarily than the enamel surface, and therefore the calcium ionic released from the gel to the substrate (Gao *et al.*, 1991) may make the transitional microporosity formation more difficult, leading to less effective bleaching in deeper portions of the tooth.

This study also evaluated ΔE , which shows the magnitude of the change and not the direction of the change in the three coordinates of the CIELab System (Turkun *et al.*, 2010). The $\Delta E1$ values (Table 1), comparing the color changes of the samples at time of “Staining x the Bleaching 1st week,” showed generally higher values in the enamel than on the dentin surface for all treatments studied. The contact of the bleaching gel directly on the superficial pigmentation may have allowed better removal of this stain on the enamel surface. As the bleaching gel remained in contact with the enamel surface, it is expected that oxidation of the pigments by peroxide on this surface is more effective at first, before bleaching the deeper dentin.

The greatest variations of $\Delta E1$ occurred on enamel surface of 3.5 mm samples when low-concentration agents CP 10% and HP 6% were used, compared with HP 35%. On the

other hand, the $\Delta E2$ ("Bleaching 1st week x Bleaching 2nd week") CP10% and HP 6% statistically differed from high-concentration bleaching agents for dentin surfaces, reversing the first condition ($\Delta E1$). These results show that the bleaching agent acts more efficiently in deep dentin after the removal of the superficial staining of the enamel. For $\Delta E3$ ("Bleaching 2nd week x Bleaching 3rd week"), the treatments did not differ, demonstrating a non-significant color change between these two sessions.

The CP 10% had the best performance on the dentin surface of the 3.5 mm thick samples and obtained the best results in comparison with gels of high concentration with calcium. These findings are in agreement to Zekonis *et al.* (2003) that compared, *in vivo*, the efficacy of low- and high-concentration bleaching agents, achieving the best results for home bleaching treatments. In the same way, Dietschi *et al.* (2010) evaluated the efficacy of various bleaching treatments on enamel and dentin of bovine dental blocks pigmented with blood. The authors reported that all products had a similar bleaching effect on the enamel surface, while for dentin the best bleaching results were found in low concentration peroxides.

Suliman *et al.* (2004) evaluated the efficacy of hydrogen peroxide gels with concentrations ranging from 5% to 35% and concluded that the higher concentration of the product would need fewer applications for a satisfactory bleaching. This statement is not in agreement with results of the present study, since the high-concentration bleaching agents needed one more session to reach their best results compared with low-concentration gels in the deepest dentin.

Also, the thickness of dentin can negatively interfere on color changes of enamel. The HP35% with calcium showed lower bleaching on enamel surface in 3.5 mm thickness samples compared to 2mm. Although the gel remains in contact with the both enamel surface for the same time, the color reflected from a larger portion of stain dentin through enamel translucency probably caused this difference. According to Joiner (2004), light scattering and absorption within enamel and dentine give rise to the intrinsic color of the teeth and since enamel is relatively translucent, the properties of dentine can play a major role in determining the overall tooth color.

Efforts have been made in order to achieve the maximum efficacy of bleaching agents in color changes of teeth in less time and with minimal side effects. This attempt to minimize the transient mineral loss of enamel by adding calcium to high-concentration bleaching agents may damage the whitening action of gel in deep dentin, thus making the color change more superficial. Perhaps this may accelerate the rebounding whitening effect. *In vivo* studies are needed to confirm these findings.

CONCLUSION

The present study demonstrated that the whitening efficacy on the enamel surface did not depend on the bleaching agents concentrations. However, the high-concentration hydrogen peroxide with calcium was less effective in deep dentin than the 10% carbamide peroxide.

REFERENCES

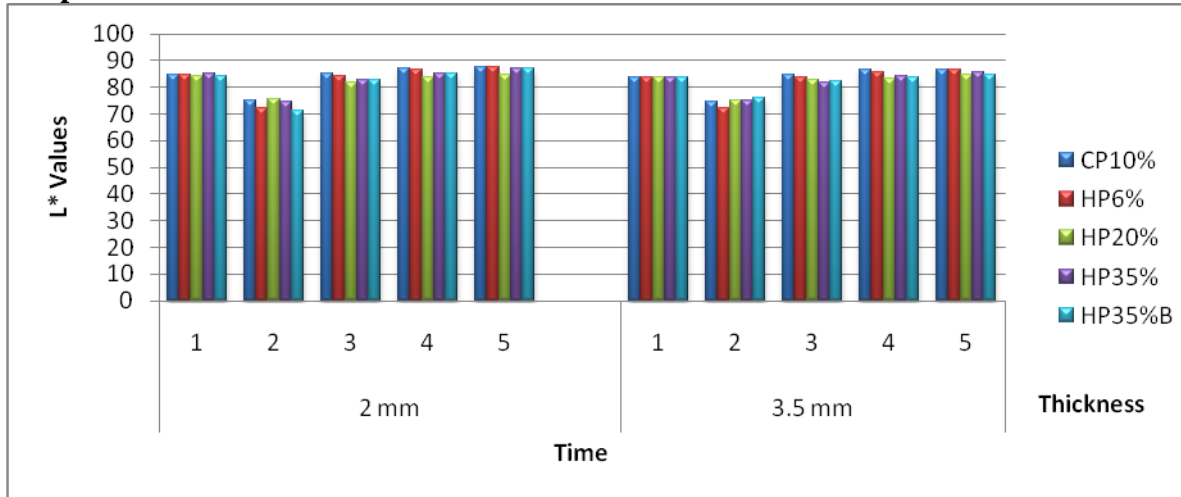
1. Joiner, A; Hopkinson, I; Deng, Y; Westland, S. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *J Dent* 2007; 35: 889-896.
2. Haywood & Haymann. Nightguard Vitla Bleaching. *Quintessence Int* 1989; 20: 173-6.
3. Buchalla, W; Attin, T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser – A systematic review. *Dent Mater* 2007; May 23(5):586-96.
4. Joiner, A. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent* 2006; 34(7):412-9. Epub 2006 Mar 29. Review.
5. Kim, YS; Kwon, HK; Kim, BL. Effect of nano-carbonate apatite to prevent re-stain after dental bleaching in vitro. *J Dent* 2011; 39(9): 636-42. Epub Jul 7.
6. Sun, G. The role of lasers in cosmetic dentistry. *Dent Clin North Am* 2000 Oct; 44(4):831-50. Review.
7. Minoux, M; Serfaty, R. Vital tooth bleaching: Biologic adverse effects—A review. *Quintessence Int* 2008; 39:645–659.
8. Hanks, CT; Fat, JC; Wataha, JC; Corcoran, JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent Res* 1993; 72(5):931-938.

9. Camargo, SEA; Valera, MC; Camargo, CHR; Mancini, MNG; Menezes, MM. J Endodontics 2007; 33(9): 1074-7.
10. Leonard, RH; Sharma, A; Haywood, VB; Use of different concentrations of carbamide peroxide for bleaching teeth: An in vitro study. Quintessence Intern 1998; 29: 503-507.
11. Matis, BA; Mousa, HM; Cochran, MA; Eckert, GJ. Clinical evaluation of bleaching agents of different concentrations. Quintessence Int 2000; 31: 303-310.
12. Meireles, SS; Heckmann, SS; Santos, IS; Della Bona, A, Demarco, A. A double blind randomized clinical-trial of at-home tooth bleaching using two carbamide peroxide concentrations: 6 month follow-up. J Dent 2008; 36: 878-884.
13. Bizhang, M; Chun, Y-HP; Damerau, K; Singh, P; Raab, WH-M; Zimmer, S. Comparative clinical study of the effectiveness of three different bleaching methods. Oper Dent 2009; 34 (6): 635-641.
14. Lima, DANL; Silva, AL; Aguiar, FHB; Liporoni, PCS; Munin, E; Ambrosano, GMB; Lovadino, JR. In vitro assessment of the effectiveness of whitening dentifrices for the removal of extrinsic tooth stains. Braz Oral Res 2008; Apr-Jun 22(2): 106-11.
15. Sueliman, M. An overview of bleaching techniques: I. History, chemistry, safety and legal aspects. Dent Update 2004; 31: 608-616.
16. Bernardon, JK; Sartori, N; Ballarin, A; Perdigão, J; Lopes, G; Baratieri, LN. Clinical Performance of Vital Bleaching Techniques. Oper Dent 2010; 35-1: 3-10.
17. Wiegand, A; Vollmer, D; Foitzik, M; Attin, R; Attin, T. Efficacy of different whitening modalities on bovine enamel and dentin. Clin Oral invest 2005; 9: 91-7.
18. Dietschi, D; Rossier, S; Krejci, I. In vitro colorimetric evaluation of the efficacy of various bleaching methods and products. Quintessence Int 2006; 37:515–526.
19. Kihn, PW; Barnes, DM; Romberg, E; Peterson, K. A clinical evaluation of 10 percent vs. 15 percent carbamide peroxide tooth whitening agents. J Am Dent Assoc 2000; 131(10): 1478-84.
20. Barghi, N. Making a clinical decision for vital tooth bleaching: at home or in office? Compend Contin Educ Dent 1998; 19(8): 831-8.

21. Garber, DA. Dentist-monitored bleaching: a discussion of combination and laser bleaching. *J Am Dent Assoc* 1997; 128 Suppl: 26S-30S.
22. Dietschi, D; Benbachir, N; Krejci, I. . In vitro colorimetric evaluation of the efficacy of home bleaching and over the counter bleaching products. *Quintessence Int* 2010; 41:505–516.
23. Matis, BA; Cochran, MA; Eckert, G. Review of the effectiveness of various tooth whitening systems. *Oper Dent* 2009; 34(2): 230-5.
24. Marshall, K; Berry, TG; Woolum, J. Tooth Whitening: Current Status. *Compend Contin Educ Dent*. 2010; 31(7): 486-92.
25. Kwon, YH; Huo, MS; Kim, SK; Kim, YJ. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel. *J Oral Rehabil* 2002; 29: 473-77.
26. Gomes, MN; Francci, C; Medeiros, IS; Salgado, NRGF; Riehl, H; Marasca, JH; Muench, A. Effect of light irradiation on tooth whitening enamel microhardness and color change. *J Esthet Restor Dent* 2009; 21:387–396.
27. Price, RBT; Sedarous, M; Hiltz, GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc* 2000; 66 (8): 421-6.
28. Hughes, JA; West, NX; Parker, DM; Van den Braak, MH; Addy, M. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro. *J Dent* 2000; 28: 147-152.
29. Gao, XJ; Elliot, JC, Anderson, P. Scanning and contact microradiographic study of the effect of degree of saturation on the rate of enamel demineralization. *J Dent Res* 1991; 70 (10): 1332-1337.
30. Turkun, M; Celic, EU; Aladag, A; Gokay, N. One year clinical evaluation of the efficacy of new day-time at-home bleaching technique. *J Esthet Restor Dent* 2010; 22:139-48.
31. Zekonis,R; Matis, B; Cochran, MA; Al Shetri, SE; Eckert, GJ; Carlson, TJ. Clinical evaluation of in office and at home bleaching treatments. *Oper Dent* 2003; 28 (2): 114-21.
32. Joiner, A. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent* 2004; 32: 3-12.

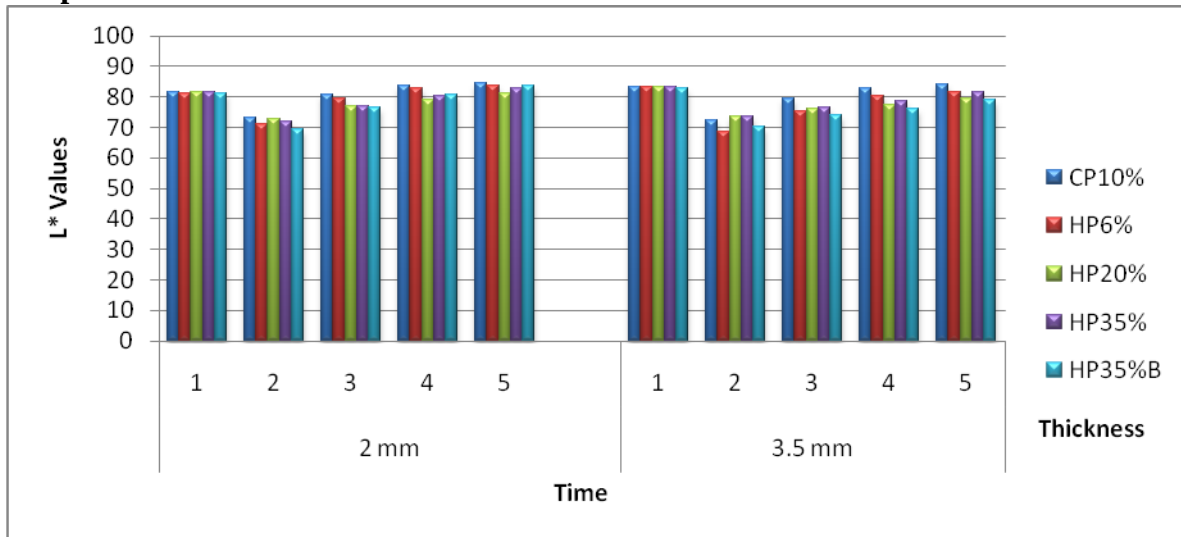
33. Sueliman, M; Addy, M; MacDonald, E; Rees, JS. The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening: an in vitro study. J Dent 2004; 32: 295-299.

Graphic 1. Enamel L* values in functions of time and thickness



Time: 1= initial; 2= staining; 3= 1st week bleaching; 4= 2nd week bleaching; 5= 3rd week bleaching

Graphic 2. Dentin L* values in functions of time and thickness



Time: 1= initial; 2= staining; 3= 1st week bleaching; 4= 2nd bleaching week; 5= 3rd week bleaching

Table 1. $\Delta E1$ (Staining x 1st Bleaching week)

Treatment	Surface	Thickness	
		2 mm	3.5mm
CP 10%	Enamel	*13.58 (1.88)Aa	*13.03 (2.44)Aa
HP 6%		*13.88 (4.62)Aa	*13.84 (3.44)Aa
HP 20%		7.64 (1.52)Ab	*9.30 (3.79)Aab
HP 35%		9.17 (3.48)Aab	7.69 (3.59)Ab
HP 35%B		*13.73 (3.70)Aa	7.37 (0.87)Bb
CP 10%	Dentin	8.36 (0.84)Aa	7.40 (1.17)Aa
HP 6%		8.95 (2.06)Aa	6.89 (1.28)Aa
HP 20%		4.93 (0.83)Aa	2.49 (0.53)Aa
HP 35%		5.72 (1.25)Aa	3.36 (1.15)Aa
HP 35%B		7.77 (1.76)Aa	4.21 (1.86)Aa

Mean values followed by different letters differ among them for the Tukey test ($p < 0.05$). Capital letters are to be read horizontally and lower cases vertically. *Differ from dentin on the same thickness and treatment ($p < 0.05$).

Table 2. $\Delta E2$ (1st Bleaching week x 2nd Bleaching week)

Treatment	Surface	Thickness	
		2 mm	3.5mm
CP 10%	Enamel	*2.20 (0.32)Aa	*1.87 (0.30)Aa
HP 6%		3.59 (1.16)Aa	*2.67 (0.35)Aa
HP 20%		2.07 (0.17)Aa	1.69 (0.26)Aa
HP 35%		3.20 (0.85)Aa	2.62 (1.16)Aa
HP 35%B		*2.77 (0.91)Aa	1.49 (0.33)Aa
CP 10%	Dentin	4.82 (0.73)Aab	4.47 (1.46)Aa
HP 6%		5.29 (0.73)Aa	5.90 (1.20)Aa
HP 20%		2.76 (0.81)Ab	1.67 (1.31)Ab
HP 35%		3.91 (1.41)Aab	1.90 (1.08)Ab
HP 35%B		5.33 (1.90)Aa	2.08 (1.03)Bb

Mean values followed by different letters differ among them for the Tukey test ($p < 0.05$). Capital letters are to be read horizontally and lower cases vertically. *Differ from dentin on the same thickness and treatment ($p < 0.05$).

Table 3. $\Delta E3$ (2nd Bleaching week x 3rd Bleaching week)

Treatment	Surface	Thickness	
		2 mm	3.5mm
CP 10%	Enamel	1.28 (0.12)Aa	*1.03 (0.25)Aa
HP 6%		1.96 (0.83)Aa	*1.17 (0.09)Aa
HP 20%		*1.31 (0.46)Aa	1.33 (0.29)Aa
HP 35%		*2.40 (0.72)Aa	*2.10 (0.76)Aa
HP 35%B		*1.95 (0.29)Aa	*1.45 (0.24)Aa
CP 10%	Dentin	2.03 (0.82)Ac	2.33 (0.70)Aa
HP 6%		2.29 (0.23)Abc	2.51 (0.45)Aa
HP 20%		2.56 (0.67)Abc	2.13 (0.69)Aa
HP 35%		3.62 (0.79)Aab	3.53 (0.91)Aa
HP 35%B		4.00 (0.79)Aa	3.41 (0.48)Aa

Mean values followed by different letters differ among them for the Tukey test ($p < 0.05$). Capital letters are to be read horizontally and lower cases vertically. *Differ from dentin on the same thickness and treatment ($p < 0.05$).

CONCLUSÃO

De acordo com as condições experimentais e com base nos resultados obtidos foi possível concluir que:

- A eficácia do clareamento na superfície de esmalte foi independente da concentração do gel clareador;
- O peróxido de hidrogênio com cálcio em altas concentrações apresentou menor eficácia de clareamento em profundidade em relação ao peróxido de carbamida a 10% quanto à luminosidade alcançada ao final do tratamento.

REFERÊNCIAS*

- Bernardon, JK; Sartori, N; Ballarin, A; Perdigão, J; Lopes, G; Baratieri, LN. Clinical Performance of Vital Bleaching Techniques. *Oper Dent* 2010; 35-1: 3-10.
- Buchalla, W; Attin, T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser – A systematic review. *Dent Mater* 2007; May 23(5):586-96.
- Camargo, SEA; Valera, MC; Camargo, CHR; Mancini, MNG; Menezes, MM. *J Endodontics* 2007; 33(9): 1074-7.
- Hanks, CT; Fat, JC; Wataha, JC; Corcoran, JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent Res* 1993; 72(5):931-938.
- Haywood & Haymann. Nightguard Vitla Bleaching. *Quintessence Int* 1989; 20: 173-6.
- Joiner, A. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent* 2006; 34(7):412-9. Epub 2006 Mar 29. Review.
- Kihn, PW. Vital tooth whitening. *Dent Clin N Am.* 2007; 51: 319-31.
- Kwon, YH; Huo, MS; Kim, SK; Kim, YJ. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel. *J Oral Rehabil.* 2002; 29: 473-77.
- Lee B, Huang S, Chiang Y, Chien Y, Mou C & Lin C. Development of in vitro tooth staining model and usage of catalysts to elevate the effectiveness of tooth bleaching. *Dent Mater* 2008; 24: 57-66.
- Nathoo, S; Stewart, B; Petrone, ME; Chaknis, P; Zhang, YP; Volpe, AR. Comparative clinical investigation of the tooth whitening efficacy of two whitening gels. *J Clin Dent.* 2003;14(3):64-9.
- Ontiveros, JC; Paravina, RD. Color change of vital teeth exposed to bleaching performed with and without light. *J Dent* 2009 Nov; 37(11):840-7. Epub 2009 Jun 30.
- Sueliman, M. An overview of bleaching techniques: I. History, chemistry, safety and legal aspects. *Dent Update* 2004; 31: 608-616.

***De acordo com a norma utilizada na FOP/UNICAMP, baseada no modelo Vancouver.**

Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Sun, G. The role of lasers in cosmetic dentistry. *Dent Clin North Am.* 2000 Oct; 44(4):831-50. Review.

METODOLOGIA ILUSTRADA

O fator em estudo foi avaliação do clareamento na superfície de fragmentos dentais bovinos (esmalte e dentina subjacente) com espessuras de 2 mm e 3,5 mm (2 níveis) após diferentes tratamentos com gel clareador (5 níveis) em diferentes tempos (5 níveis).

A variável de resposta foi a alteração de cor obtida em 50 unidades experimentais, num delineamento inteiramente ao acaso.

Foram utilizados 5 agentes clareadores: peróxido de carbamida 10 % (Whiteness Perfect 10 % - FGM), peróxido de hidrogênio 6% (White Class – FGM), peróxido de hidrogênio 20% (Whiteness HP Blue – FGM), peróxido de hidrogênio 35 % (Whiteness HP Maxx - FGM) e peróxido de hidrogênio 35 % (Whiteness HP Blue – FGM) (Figura 1).



Figura 1. Agentes clareadores

As amostras foram divididas em 10 grupos (n=5), de acordo com o agente clareador e a espessura do fragmento dental (Tabela 1).

Tabela 1: Grupos de estudo

GRUPOS	AGENTE CLAREADOR	ESPESSURA
Grupo 1	Peróxido de Carbamida a 10% Whiteness Perfect	2mm
Grupo 2	Peróxido de Carbamida a 10% Whiteness Perfect	3,5mm
Grupo 3	Peróxido de Hidrogênio a 6% White Class	2mm
Grupo 4	Peróxido de Hidrogênio a 6% White Class	3,5mm
Grupo 5	Peróxido de Hidrogênio a 20% Whiteness HP Blue	2mm
Grupo 6	Peróxido de Hidrogênio a 20% Whiteness HP Blue	3,5mm
Grupo 7	Peróxido de Hidrogênio a 35% Whiteness HP Maxx	2mm
Grupo 8	Peróxido de Hidrogênio a 35% Whiteness HP Maxx	3,5mm
Grupo 9	Peróxido de Hidrogênio a 35% Whiteness HP Blue	2mm
Grupo 10	Peróxido de Hidrogênio a 35% Whiteness HP Blue	3,5mm

1.PREPARO DOS ESPÉCIMES

Foram utilizados 50 incisivos bovinos, armazenados em soro fisiológico. Após a coleta e desinfecção (timol 0,1%), os dentes foram submetidos à raspagem manual com cureta periodontal para remoção de debris orgânicos e depois examinados sob lupa com aumento de quatro vezes para verificar eventual presença de trincas ou algum manchamento, que eventualmente poderiam influenciar nos resultados deste estudo. Em seguida, esses dentes foram armazenados, em água destilada sob refrigeração, até o momento da sua utilização.

Após a seleção dos dentes, a coroa do dente foi separada da raiz, através do uso de disco dupla face (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) montado em peça de mão, sob constante refrigeração com água (Figura 2). Os blocos foram obtidos através de um disco diamantado acoplado em uma cortadeira de precisão. Foram realizados dois cortes, nos sentidos méso-distal e cérvico-incisal, obtendo-se assim 1 bloco de cada dente (Figura 3). Assim, foram obtidos blocos das superfícies vestibulares dos dentes com 5 mm de comprimento e 5 mm de largura.

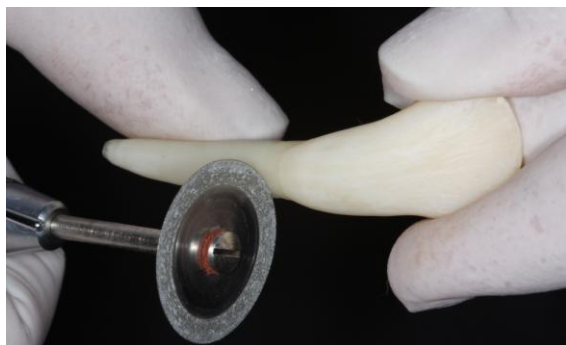


Figura 2. Separação da coroa dental

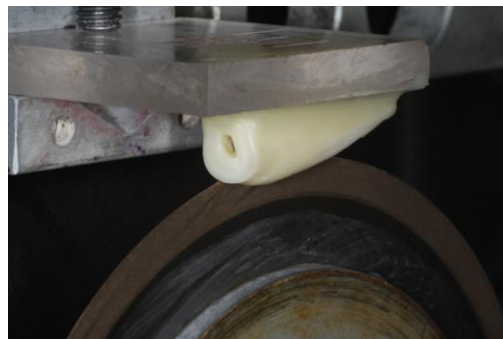


Figura 3. Cortadeira de precisão

Após esta secção, o esmalte de cada bloco foi planificado com lixa de granulação #600 e #1200 em politriz com constante irrigação com água, até atingir a espessura de 1 mm. Da mesma forma, a superfície de dentina também foi abrasionada, obtendo-se a espessura padronizada de 2 mm (1 mm de esmalte e 1 mm de dentina) e 3,5 mm (1 mm de esmalte e 2,5 mm de dentina) conforme os grupos de estudo (Figura 4). Cada espécime recebeu uma marcação com broca esférica nº 1012 ou 1014 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil), dependendo da espessura da amostra, em uma das faces laterais com a finalidade de padronizar o posicionamento da amostra durante a leitura com o espectrofotômetro (Figura 5).



Figura 4. Planificação do esmalte e dentina



Figura 5. Amostras de 3,5mm e 2mm

2.ANÁLISE INICIAL DA COR

Previamente ao manchamento, as amostras foram posicionadas em um porta amostra para obtenção da leitura inicial do esmalte e dentina subjacente. Para isso, foi utilizado o espectrofotômetro Konica Minolta CM 700d (Japão), em ambiente de luz

padronizado pela Cabine GTI MiniMatcher MM 1e (GTI Graphic Technology Inc., Newburgh, NY, USA). O aparelho foi previamente calibrado de acordo com as instruções do fabricante antes da leitura de cor.

Para realização da leitura, as amostras foram acondicionadas no porta amostra (Figura 6) e o conjunto levado ao interior da cabine de luz (Figura 7) para medição da cor da superfície de esmalte e de dentina através do espectrofotômetro (Figura 8). Os valores obtidos eram quantificados nas 3 coordenadas do Sistema CIELab (L, a, b) as quais definem numericamente a cor de um objeto dentro de um espaço tridimensional de cores através de software específico (On Color, Konica Minolta, Japão).

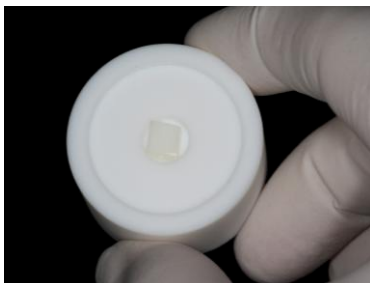


Figura 6. Porta amostra



Figura 7. Cabine de luz



Figura 8. Espectrofotômetro

3.PROTOCOLO DE MANCHAMENTO DENTAL

A porção dentinária dos fragmentos dentais foi isolada com cera pegajosa (Figura 9) e as amostras foram imersas em uma solução de chá preto, a qual foi trocada a cada 24 h, por 6 dias. A solução de chá foi produzida misturando 1,6g de chá preto (Leão Junior S.A., Curitiba, PR, Brasil) em 100 ml de água destilada fervida, por 5 min, sendo filtrada ou coada. Após o tempo de imersão na solução, as amostras foram armazenadas em saliva artificial por 2 semanas para estabilização da cor. A saliva foi trocada diariamente. Antes de ser realizada a leitura pelo espectrofotômetro, a borra de chá preto formada (Figura 10) sobre o esmalte foi removida através do uso de uma taça de borracha com uma mistura de pedra pomes e água (proporção 2:1), em baixa rotação por 30 segundos por um único operador (Figura 11).



Figura 9. Dentina isolada com cera pegajosa



Figura 10. Amostras pigmentadas



Figura 11. Remoção da borra de chá da superfície de esmalte

4. ANÁLISE DE COR APÓS O MANCHAMENTO

Após o manchamento, foi realizada uma nova leitura da cor do esmalte vestibular e dentina subjacente, como descrito anteriormente.

5. PROTOCOLO DE CLAREAMENTO DENTAL

Grupo 1 (2mm) e Grupo 2 (3,5mm):

As amostras foram submetidas ao tratamento clareador com peróxido de carbamida a 10% (Whiteness Perfect - FGM). O gel foi aplicado na superfície de esmalte da amostra e permaneceu em contato com o mesmo por 4h, de acordo com as recomendações do fabricante. As amostras foram inseridas em um aparato contendo água para não sofrerem desidratação, porém sem contato com a superfície que contém o gel (Figuras 12 e 13), e o conjunto foi levado à estufa ($37^{\circ}\text{C} \pm 2$) para simular as condições de umidade da

cavidade bucal. Após cada aplicação, as amostras foram lavadas abundantemente em água corrente, secadas com papel absorvente e em seguida armazenadas em saliva artificial (Figura 14) a uma temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Foi realizada uma sessão de tratamento clareador por dia, durante 21 dias.



Figura 12 e 13. Aparato com água para simular umidade na cavidade oral



Figura 14. Amostra armazenada em saliva artificial

Grupo 3 (2mm) e Grupo 4 (3,5mm):

As amostras foram submetidas ao tratamento clareador com peróxido de hidrogênio a 6% (White Class - FGM). O gel foi aplicado na superfície de esmalte da amostra e permaneceu em contato com a mesma por 1h30min, de acordo com as recomendações do fabricante. As amostras foram inseridas em um aparato contendo água para não ocorrer desidratação, porém sem contato com a superfície que contém o gel, e o conjunto foi levado à estufa ($37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$) para simular as condições de umidade da cavidade bucal. Após cada aplicação, as amostras foram lavadas abundantemente em água corrente, secadas com papel absorvente e em seguida armazenadas em saliva

artificial a uma temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 2$. Foi realizada uma sessão de tratamento clareador por dia, durante 21 dias.

Grupo 5 (2mm) e Grupo 6 (3,5 mm):

As amostras foram submetidas a 3 sessões tratamento clareador. Cada sessão consistiu em uma aplicação de gel clareador com intervalo de 7 dias entre as mesmas. O gel utilizado foi o peróxido de hidrogênio a 20 % (Whiteness HP Blue - FGM). Nesta aplicação, o gel permaneceu em contato com o esmalte da amostra por 50 minutos. Após a aplicação, as amostras foram lavadas abundantemente em água corrente e armazenadas em saliva artificial a uma temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Grupo 7 (2mm) e Grupo 8 (3,5mm):

As amostras foram submetidas ao tratamento clareador com peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP Maxx - FGM). Foram realizadas 3 sessões de tratamento com intervalo de 7 dias entre cada sessão. Cada sessão consistiu de 3 aplicações do gel. Para cada aplicação o gel permaneceu na superfície de esmalte da amostra por 15 minutos, conforme a recomendação do fabricante. Após as aplicações, as amostras foram lavadas abundantemente em água corrente e armazenadas em saliva artificial a uma temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Grupo 9 (2mm) e Grupo 10 (3,5mm):

As amostras foram submetidas a 3 sessões tratamento clareador. Cada sessão consistiu em uma aplicação de gel clareador. O gel utilizado foi o peróxido de hidrogênio a 35 % (Whiteness HP Blue - FGM). Nesta aplicação, o gel permaneceu na superfície de esmalte da amostra por 40 minutos, conforme a recomendação do fabricante. Após a aplicação, as amostras foram lavadas abundantemente em água corrente e armazenadas em saliva artificial a uma temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 2$.

6.ANÁLISE DE COR APÓS O CLAREAMENTO

Ao final das sessões de clareamento aguardava-se 24h para reidratação das amostras em saliva artificial, antes da realização da leitura de cor. Todos os grupos foram avaliados semanalmente, durante as 3 semanas de tratamento clareador.