

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

LEILIANE CONCEIÇÃO PINTO MOITA

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE TÉCNICAS DE ANÁLISE DE RUGOSIDADE
MECÂNICA E ÓPTICA EM DENTES BOVINOS SUBMETIDOS À DIFERENTES
PROCEDIMENTOS OXIDANTES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO STRICTO SENSU**

São José dos Campos, 05/2018

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

LEILIANE CONCEIÇÃO PINTO MOITA

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE TÉCNICAS DE ANÁLISE DE RUGOSIDADE
MECÂNICA E ÓPTICA EM DENTES BOVINOS SUBMETIDOS AO
CLAREAMENTO COM OZÔNIO À DIFERENTES PROCEDIMENTOS
OXIDANTES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da
Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Adriana Barrinha Fernandes Moretti

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos José de Lima

São José dos Campos, 05/2018

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

LEILIANE CONCEIÇÃO PINTO MOITA

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE TÉCNICAS DE ANÁLISE DE RUGOSIDADE MECÂNICA E ÓPTICA EM DENTES BOVINOS SUBMETIDOS AO CLAREAMENTO COM OZÔNIO À DIFERENTES PROCEDIMENTOS OXIDANTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.
Aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Adriana Barrinha Fernandes Moretti

Orientadora

Mestrado em Engenharia Biomédica

Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Carlos José de Lima (Interno)

Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Álvaro José Damião (Externo)

Instituto de Estudos Avançados

Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro (Coordenação)

Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Leandro Procópio Alves (Suplente)

Universidade Anhembi Morumbi

São José dos Campos, 05/2018

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

Leiliane Conceição Pinto Moita

Graduada com Bacharelado em Enfermagem – Faculdades Integradas do Tapajós, é pós-graduada em Urgência e Emergência, graduanda em Docência do Ensino Superior e Assistência Multidisciplinar em Oncologia. Colaboradora no Hospital PIO XII atuando como enfermeira assistente na Clínica Oncológica e Transplante de Medula Óssea, e Monitora de Estágio na Universidade Anhanguera.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca UAM com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

715a

Pinto Moita, Leiliane Conceição

Avaliação comparativa de técnicas de análise de rugosidade mecânica e óptica em dentes bovinos submetidos à diferentes procedimentos oxidantes. / Leiliane Conceição Pinto Moita, Adriana Barrinha Fernandes Moretti, Carlos José de Lima. - 2018.
39f. : il.; 30cm.

Orientador: Adriana Barrinha Fernandes Moretti.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica); co-orientador Carlos José de Lima - Universidade Anhembimorumbi, São José Dos Campos-sp, 2018.

Bibliografia: f.35-39

1. Engenharia Biomédica. 2. Ozônio. 3. Clareamento Dental. 4. Peróxido de Hidrogênio. 5. Rugosidade..

CDD 670

AGRADECIMENTOS

À Universidade Anhembi Morumbi, na pessoa do Prof. Dr. Renato Zangaro.

À CAPES, pelo apoio e incentivo financeiro na primeira etapa do programa.

A Equipe do IEAV, Prof. Dr. Álvaro José Damião, Luiz Carlos M. Lavras, Francklim José Barbosa Neto e Joely Edson Ferraz por toda ajuda e suporte na realização do experimento deste trabalho.

Aos professores Dr. Carlos José de Lima e Dr. Ricardo S. Navarro por tanto ter acrescentado nesta jornada.

Aos professores da Anhembi Morumbi que acompanharam o processo de pesquisa, e contribuíram para minha formação através das aulas. Aos que compuseram a banca de defesa e qualificação contribuindo para o conteúdo e correção. A Nídia pelo carinho e preocupação em todos os momentos desta jornada, principalmente no momento da qualificação e defesa onde sempre estive presente para apoio e encorajamento no momento de nervosismo e ansiedade.

As amigos que fiz durante o mestrado, Annajela, Anita e Thaylon. Agradeço pelo incentivo, companheirismo e conversas que muito contribuíram durante todos esses anos.

À minha orientadora, Prof. Dr^a Adriana Barrinha Fernandes, que com tanta paciência, sabedoria, carinho e incentivo me direcionou até o final deste percurso. Agradeço por acreditar e depositar sua confiança em mim, pela disposição em sempre me ajudar, pela preocupação com minha saúde e familiares, pela dedicação e paciência. Considero você um exemplo de profissional. Obrigada por tudo.

À minha amiga/irmã Nathalya que me encorajou a aceitar esse desafio, dividindo comigo o mesmo lar, pelo apoio em todos os momentos, companheiros, lealdade e amizade, certamente sem você eu não conseguiria. Aos amigos Andreia e Audiel pelo companheirismo, incentivo e momentos de muita risada, o que tornava leve momentos de dificuldade. Aos amigos de Santarém-PA, Antenor, Sandrea e Carla pela amizade, apoio e incentivo, vocês são importantes para mim.

Aos meus pais e minhas irmãs pelas orações, apoio, encorajamento e por estarem sempre presente, mesmo longe, com apoio e palavras que não me deixaram desistir e me fizeram persistir pelo meu sonho. Amo muito vocês.

A Deus, por sua bondade infinita iluminou e me conduziu por esse caminho, sempre provendo tudo para que eu chegasse até aqui. Me fez mudar, crescer e me transformar conforme a sua vontade. Obrigada pelo seu amor e Graça. És tudo para mim.

RESUMO

Introdução: A maioria dos procedimentos de clareamento químicos utilizados na prática odontológica são baseados em gel de peróxido de hidrogênio. Uma alternativa ao peróxido de hidrogênio é o gás ozônio (O_3), uma forma triatômica de oxigênio. Para avaliar as alterações causadas pelos agentes de clareamento dental, a análise mais comum utilizada é a rugosidade mecânica da superfície do dente. Além disso, no presente estudo foi realizada uma análise óptica, utilizando o microscópio interferométrico que permite uma medida precisa e confiável da base externa do objeto utilizando uma técnica de medida da superfície sem contato com material somente através de luz. Visando uma análise complementar ao estudo, foi realizada análise de dureza do dente que é um teste calculado através de microdureza. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo comparar as técnicas de análise de rugosidade sendo complementado com a análise de dureza superficial do esmalte dentário bovino in vitro após exposição a diferentes tipos de clareadores. **Materiais e métodos:** Cinquenta incisivos bovinos hígidos e adequadamente limpos foram sequencialmente selecionados, e obtidos quarenta e oito amostra de dentes de 4×4 mm na face vestibular que foram cortados com um motor de alta velocidade. Após lixamento e polimentos, as amostra foram armazenadas em água deionizadas. A medida de rugosidade da superfície da amostra utilizou instrumentos mecânico e óptico, onde estabeleceu-se um grupo de controle negativo e positivo, O_3 (duas doses) O_2 e PH35%, respectivamente. E como complemento ao estudo, foi realizado análise de dureza de todas as amostras. **Resultados:** Foram comparados os valores de R_a pré e pós clareamento nos diferentes grupos e na análise de R_aM foi observado uma diferença no perfil de distribuição dos dados, apenas no grupo ozônio menor dose, onde a dispersão dos dados é maior pós clareamento, enquanto que na análise de R_aO não apresentam dispersão dos dados, indicando que não houve variação decorrente deste procedimento. E na análise de dureza antes e após o clareamento apontou semelhança entre todos os grupos estudados em suas diferentes fases. **Conclusão:** Há diferença nas técnicas de análise de rugosidade, apontando a análise óptica (Zygo) como a mais coerente para tal determinação, ao relaciona-la à dureza do material estudado. Quanto as diferentes técnicas de clareamento, foi possível observar que de acordo com a dispersão dos dados obtidos, a utilização dos diferentes procedimentos oxidantes não houve diferença em nenhuma das técnicas ao mensurarmos a dureza do material e também não interferem na rugosidade dos dentes bovinos, de acordo com a análise óptica, porém estudos complementares devem ser realizados empregando-se a análise óptica da rugosidade.

Palavras-chave: Engenharia Biomédica. Clareamento Dental. Ozônio. Peróxido de Hidrogênio. Rugosidade.

ABSTRACT

Introduction: Most of the chemical whitening procedures used in dental practice are based on hydrogen peroxide gel. An alternative to hydrogen peroxide is ozone gas (O₃), a triatomic form of oxygen. To assess the changes caused by dental bleaching agents, the most common analysis used is the mechanical roughness of the tooth surface. In addition, in the present study an optical analysis was performed using the interferometric microscope that allows an accurate and reliable measurement of the external base of the object using a technique of measuring the surface without contact with material only through light. Aiming for a complementary analysis to the study, a hardness analysis of the tooth was performed, which is a test calculated by microhardness. **Aim:** This study aimed to compare the roughness analysis techniques and was complemented with the analysis of surface hardness of bovine dental enamel *in vitro* after exposure to different types of bleaching agents. **Materials and methods:** Fifty healthy and adequately clean bovine incisors were sequentially selected, and forty-eight sample of 4 × 4 mm teeth were obtained on the buccal surface which were cut with a high speed motor. After sanding and polishing, the samples were stored in deionized water. The roughness measurement of the sample surface used mechanical and optical instruments, where a negative and positive control group, O₃ (two doses) O₂ and PH35%, respectively, was established. And as a complement to the study, a hardness analysis of all samples was performed. **Results:** The values of Ra pre and post bleaching were compared in the different groups and in the RaM analysis a difference in the data distribution profile was observed, only in the lower dose group, where the data dispersion is higher post bleaching, whereas in the analysis of RaO do not show dispersion of the data, indicating that there was no variation resulting from this procedure. And in the analysis of hardness before and after bleaching showed similarity between all groups studied in their different phases. **Conclusion:** There is a difference in the techniques of roughness analysis, pointing the optical analysis (Zygo) as the most coherent for such determination, when related to the hardness of the studied material. Regarding the different bleaching techniques, it was possible to observe that according to the dispersion of the obtained data, the use of the different oxidizing procedures was not different in any of the techniques when measuring the hardness of the material and also did not interfere in the roughness of the bovine teeth, according to the optical analysis, but complementary studies should be carried out using optical roughness analysis.

Keywords: Biomedical Engineering. Tooth whitening. Ozone. Hydrogen peroxide. Roughness.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1. Objetivo Geral	12
1.2. Objetivos específicos	12
2. MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.1. Seleção das amostras	13
2.2. Preparação das amostras	13
2.3 Aplicação das técnicas de clareamento dental	15
2.3.1 Aplicação do Gás do Ozônio (O ₃):	15
2.3.2 Aplicação do oxigênio gasoso (O ₂)	17
2.3.3 Aplicação do peróxido de hidrogênio a 35% (PH35%)	17
2.4.1 Análise perfilométrica de rugosidade de superfície mecânica (<i>Taylor</i>)	19
2.5. Análise de Rugosidade a partir do Rugosímetro Óptico (<i>Zygo</i>)	20
2.6. Análise de Dureza.....	22
2.7 Análise de dados	23
3. RESULTADOS	24
4. DISCUSSÃO	29
5. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Aparelho com motor de alta velocidade (modelo LB-100 R Beltec) com fórceps reto acoplados a discos de diamante (KG Sorensen - 7020 R) utilizados para corte dos dentes e obtenção das amostras.	14
Figura 2 - Dentes bovinos com marcação de 4x4 mm em face vestibular preparados para corte.....	14
Figura 3 - (A) Amostras dentais armazenadas submersas em água deionizada. (B) Amostras armazenadas, distribuídas em quatro grupos.....	15
Figura 4 - Aparato desenvolvido para aplicação de O2 e O3 nos fragmentos de dentes bovinos: (A) Aplanar superfícies de esmalte, realizadas usando uma lixa de carboneto de silício, e (B) Caixa de aço inoxidável, onde amostras são expostas a O3.	16
Figura 5 - Imagem das amostras que receberam o gel de PH 35% formando uma camada de cerca de 1 mm de espessura.	18
Figura 6 – Distribuição da superfície do dente para realização das análises.....	18
Figura 7 - Técnica de perfilometria de contato da caneta com a amostra realizando a varredura para análise.....	19
Figura 8 - Rugosímetro mecânico Taylor Hobson Precision - Forma Talysurf Sistema de Medição Ultra Precisão PG 1000 R.	20
Figura 9 - Imagem de um traçado da rugosidade de superfície obtido pelo parelho Taylor (RaM)	20
Figura 10 - Rugosímetro óptico (New View 100 interferometric microscope Zygo, Middlefield,	21
Figura 11 - Máscara de PVC sobre a amostra para a leitura da rugosidade óptica.....	21
Figura 12 - Imagem de uma análise de rugosidade de superfície obtida a partir do aparelho Zygo (RaO). Análise em 3 D mostrando a profundidade da rugosidade, representado na cor azul como mais profundo e vermelho mais superficial.	22
Figura 13 - Microdurometro Vickres (Modelo FM-700 Future-Tech), realizando endentação na amostra.....	23
Figura 14 - Imagens microscópicas da superfície do dente, mostrando as endentações	23
Figura 15 - Comparação entre as fases do clareamento de acordo com os grupos para a análise de RaM.....	25
Figura 16 - Comparação entre as fases do clareamento de acordo com os grupos para a análise de RaO.....	25
Figura 17 - Comparação entre as fases do clareamento de acordo com os grupos para a análise de dureza.....	26
Figura 18 - Diferença entre as fases do clareamento (Delta) de acordo com os grupos para a análise Mecânica de rugosidade (RaM).....	27
Figura 19 - Diferença entre as fases do clareamento (Delta) de acordo com os grupos para a análise Óptica de rugosidade Óptica (RAO).....	27
Figura 20 - Diferença entre as fases do clareamento (Delta) de acordo com os grupos para a análise de dureza.....	28
Tabela 1 - Valores das análises de rugosidade mecânica em triplicata.	24
Tabela 2 - Valores das análises de rugosidade óptica.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PH35%	Peróxido de Hidrogênio 35%
Ra	Rugosidade média
RaM	Rugosidade Mecânica
RaO	Rugosidade Óptica
O₃	Ozônio
O₂	Oxigênio

1. INTRODUÇÃO

A saúde sistêmica dos dentes, além do aspecto estético, apresenta relação com sua coloração (PATIL et al. 2014). Alterações na coloração dos dentes podem ocorrer devido a fatores extrínsecos e intrínsecos (WATTS; ADDY, 2001). Manchas extrínsecas compreendem ingestão de alimentos com corantes, tabagismo excessivo, acumulação de placa dentária, alguns medicamentos e consumo de sais metálicos (NATHOO, 1997; PATIL et al. 2014). As manchas intrínsecas podem ocorrer devido a alterações na composição estrutural ou espessura de tecidos dentários duros, envolvendo trauma, perda de vitalidade, tratamento endodôntico e procedimentos restauradores, bem como fatores locais ou sistêmicos. Estas manchas podem, no entanto, ser diminuídas através de um tratamento de clareamento baseado em processos ópticos e oxidantes, no que diz respeito à radiação laser ou agentes químicos, respectivamente (TEN BOSCH; COOPS, 1995; WATTS; ADDY, 2001; WRAY; WELBURY, 2001).

A maioria dos procedimentos de clareamento químicos utilizados na prática odontológica são baseados em gel de peróxido de hidrogênio. Este agente oxidante apresenta baixo peso molecular, o que permite a sua passagem através do esmalte, alcançando a junção da dentina com o esmalte. Caracterizado por não ter estabilidade, tal agente clareador libera radicais livres que desencadeiam o processo de oxidação e ruptura da cadeia molecular do pigmento, quando em contato com o tecido. Modificando sua estrutura e, conseqüentemente, suas propriedades ópticas, há a percepção de um clareamento dental (EIMAR, et al, 2012)

No entanto, estudos atuais destacam que a concentração e o tempo de exposição do dente à ação de peróxido de hidrogênio pode promover significativa perda mineral, modificando a morfologia superficial do esmalte (AL-SALEHI, et al, 2007; POTGIETER, et al, 2014). Uma das consequências dessa característica é uma alteração resultante na rugosidade do esmalte dental, uma vez que eleva a permeabilidade do esmalte e o produto atravessa a dentina, alcançando a câmara pulpar dentária (AZER, et al, 2009). Há conseqüentemente

um aumento da sensibilidade, desencadeando nocicepção e reações inflamatórias (BONAFÉ, et al, 2014). Devido a isso, a procura por produtos com melhores resultados utilizados no clareamento, permitiu o desenvolvimento de técnicas inovadoras com o objetivo de apresentar menos efeitos colaterais, isto é, que traz maior benefício e menor risco para o paciente.

Uma alternativa ao peróxido de hidrogênio é o gás ozônio (O_3). Na natureza, o ozônio é produzido continuamente na estratosfera por radiação UV onde ocorre a divisão das moléculas de gás oxigênio (O_2), os átomos isolados combinam-se individualmente com outras moléculas de gás oxigênio para compor esse gás, uma molécula triatômica. O ozônio médico pode ser produzido com o uso de um gerador de ozônio, utilizando oxigênio medicinal (BOCCI 2009).

A intensa capacidade do ozônio para inativar microrganismos induziu o seu uso na desinfecção da água e há evidências crescentes de que ele pode ser utilizado como um agente terapêutico útil, na odontologia e na medicina (POLYDOROU, et al, 2006). Uma das vantagens do gás ozônio é a sua característica de ser extremamente oxidante, figurando como um potencial agente a ser empregado na prática de clareamento dental (NAIK, et al, 2016). Em um dos primeiros estudos, o ozônio foi utilizado para limpar os incisivos manchados com tetraciclina em estudo experimental *in vivo* em ratos cujos resultados demonstram a viabilidade deste agente (TESSIER, et al, 2010). Um processo de clareamento combinado de 38% de peróxido de hidrogênio aplicado durante 20 minutos, seguido da aplicação de ozônio gasoso por 60 segundos em dentes humanos *in vitro*, obteve resultado de clareamento mais intenso quando comparado com o uso de peróxido de hidrogênio isolada (AL-OMIRI, et al, 2016.). O autor repetiu a experiência com uma amostra maior, porém os resultados foram semelhantes ao primeiro estudo (AL-OMIRI, et al, 2016.).

Em um trabalho anterior, nosso grupo de pesquisa concluiu que o ozônio é efetivo no clareamento dental. Neste sentido, o presente estudo empregou as mesmas doses e grupos experimentais do referido trabalho com o intuito de verificar as possíveis alterações o ozônio poderia causar comparado ao peróxido de hidrogênio (SIMÕES, 2015).

A Rugosidade é um teste utilizado para avaliar o efeito do produto oxidante após a técnica de clareamento sobre o dente. É quantificada a textura superficial através de amplitudes randomizadas, utilizando a rugosidade média (Ra) (ABREU, 2015). Um rugosímetro (testador de rugosidade) fornece a informação da variação de rugosidade microscópica com o uso de uma sonda mecânica (ATTIN, 2006), onde realiza a medida da altura (o eixo z) ao longo de uma área de dimensões x e y laterais (ISAC, et al, 2015).

Para avaliar as alterações causadas pelos agentes de clareamento dental, utilizamos a análise de rugosidade mecânica da superfície do dente. Além disso, realizamos neste trabalho uma medição de rugosidade óptica, utilizando o microscópio óptico interferométrico. Este aparelho permite medida precisa e confiável da rugosidade de superfície da amostra, utilizando uma técnica de medida da superfície sem contato com material somente através de luz. (BALLESTER-PALACIOS, et al, 2013). O método é caracterizado por uma luz emitida sobre uma superfície plana que não é totalmente absorvente, sofre reflexão especular onde a luz de uma única direção de entrada é refletida em uma única direção de saída. Se os pontos adjacentes da superfície não estão na mesma altura, ocorre uma mudança de etapa local na onda plana, que é observada como a difusão da luz em direções diferentes da reflexão especular. Quando a superfície é muito áspera, a luz é uniformemente difundida em todas as direções e não representa mais a topografia da superfície. As medidas são, portanto, úteis apenas em estados de superfície de alta qualidade. O aparelho mede a distância entre uma referência interna e os pontos da superfície. (JONIOT, et al. 2006)

Visando uma análise complementar ao estudo, foi realizado medida da dureza do dente utilizando um instrumento, cujas as técnicas Knoop ou Vickers podem ser usadas. Este aparelho pode ser usado em superfície plana da amostra, onde uma ponta de diamante penetra com um peso específico a uma carga e período de tempo determinado. O valor de dureza é definido pela relação entre a carga de endentação e a área da impressão residual (CHUENARRO et al, 2009), avaliando as alterações causadas pelos tipos de clareados.

As áreas de rugosidade na superfície dentária acumulam resíduos, aumentam a descoloração por adesão de partículas, além de aumentar a incidência de cavidades, bem como placas e acumulação de bactérias (PARAVINA, et al 2004; YAP, et al, 1997). Alterações na rugosidade da superfície também têm a propriedade de apresentar baixa resistência mecânica e, como tal, menor resistência à ruptura. O efeito do ozônio na rugosidade superficial do esmalte empregando diferentes concentrações e tempo de exposição para o tratamento de clareamento dental é muito escassa na literatura (CELIBERTI, et al, 2006; ELSAYAD, 2011). No entanto, as dosagens de gás ozônio empregados são muito menores quando comparados com a abordagem proposta. Na pesquisa atual, os tipos de análise da rugosidade superficial abordam a exposição à curto e longo prazo (tempo), obtendo-se assim uma dose baixa e outra alta, respectivamente ($O_3^{\text{baixa-dose}}$ e $O_3^{\text{alta-dose}}$). Com o intuito de avaliar se as prováveis alterações foram induzidas pelo ozônio, foi utilizado um grupo controle negativo, no qual foi aplicado somente o gás oxigênio medicinal (O_2), uma vez que o gerador de ozônio fornece uma mistura gasosa ($O_3 + O_2$). Em contrapartida, o procedimento de clareamento com peróxido de hidrogênio 35% (PH35%) foi utilizado como controle positivo. A rugosidade superficial foi quantificada através de amplitudes aleatórias, utilizando a rugosidade média (Ra), bem como pela sua variabilidade (dispersão) (DA SILVA, et al, 2011).

1.1. Objetivo Geral

Comparar as técnicas de análise de rugosidade óptica e mecânica, incluindo a análise de dureza superficial Vickers do esmalte dentário bovino *in vitro* após exposição a agentes oxidantes.

1.2. Objetivos específicos

- Verificar se há diferença no parâmetro de rugosidade dos grupos estudados empregando-se a técnica de análise óptica/Zygo e mecânica/Taylor;
- Analisar se os diferentes procedimentos oxidantes (Ozônio e Peróxido de Hidrogênio 35%) alteram os parâmetros de rugosidade e dureza;
- Comparar os diferentes procedimentos oxidantes a partir da técnica de rugosidade mecânica e óptica interferométrica incluindo a análise de dureza superficial.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Seleção das amostras

Os dentes bovinos foram obtidos de um frigorífico local, satisfazendo as normas do setor. Cinquenta incisivos bovinos saudáveis e adequadamente limpos foram sequencialmente selecionados. Estas amostras foram armazenadas em água deionizada a -20 ° C até ao momento da realização do experimento. Um microscópio binocular (Zeiss Alemanha KF2 R) com lente de aumento 40x foi empregado para a avaliação de amostra e controle de processo. O critério de exclusão compreende amostras com irregularidades como fissuras, cavidades ou defeitos na estrutura das amostras. Quarenta e oito amostras remanescentes foram isoladas após análise microscópica para serem utilizadas no presente estudo.

2.2. Preparação das amostras

Os dentes bovinos foram cortados com um motor de alta velocidade (modelo LB-100 R Beltec) (Figura 1) com fórceps reto acoplados a discos de diamante (KG Sorensen - 7020 R), as amostras foram umidificadas mantendo-as resfriadas para que com o calor da rotação dos discos, não houvesse a fratura e ou formação de fissuras no esmalte. Obteve-se quarenta e oito fragmentos de 4 × 4 mm obtidos da face vestibular (Figura 2).



Figura 1 - Aparelho com motor de alta velocidade (modelo LB-100 R Beltec) com fórceps reto acoplados a discos de diamante (KG Sorensen - 7020 R) utilizados para corte dos dentes e obtenção das amostras.



Figura 2 - Dentes bovinos com marcação de 4x4 mm em face vestibular preparados para corte.

As amostras foram fixadas em substratos de resina com o uso de adesivo de cianoacrilato. A superfície do esmalte de cada amostra foi, então, tornada plana usando uma lixa de carboneto de silício de granulação 600 (Norton Abrasivos). Um segundo processo de lixamento foi realizado utilizando uma lixa de granulação de 1.200. Em ambos os processos, as amostras foram movimentadas sobre a lixa formando a geometria de ∞ durante 4 minutos.

Cuidados adicionais foram tomados para que não houvesse a exposição da dentina. As bordas das amostras foram impermeabilizadas com adesivo de cianoacrilato para garantir que apenas o esmalte de cada amostra fosse exposto

aos agentes oxidantes. As amostras foram, então, lavadas em água corrente e secas com gaze para remover resíduos devido aos grânulos derivados da lixa. As amostras foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos contendo 12 amostras. As amostras dentais foram armazenadas submersas em água deionizada até o momento da realização do experimento (Figura 3). Os grupos foram divididos em: Ozônio em dose baixa ($O_3^{\text{baixa-dose}}$), ozônio em dose alta ($O_3^{\text{alta-dose}}$), oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio a 35% (PH35%).

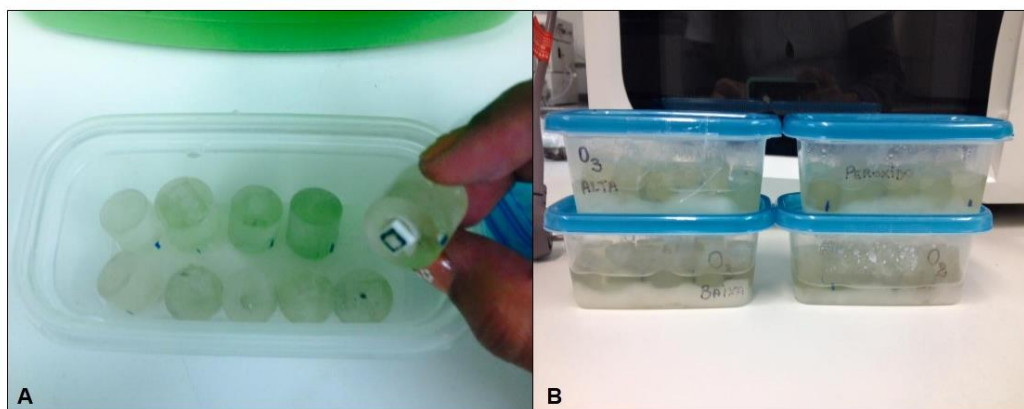


Figura 3 - (A) Amostras dentais armazenadas submersas em água deionizada. (B) Amostras armazenadas, distribuídas em quatro grupos.

2.3 Aplicação das técnicas de clareamento dental

Na análise de rugosidade e dureza foram utilizados um grupo de controle negativo com base no agente oxidante de oxigênio medicinal e um grupo de controle positivo baseado no agente oxidante a 35% de peróxido de hidrogênio. Este último é escolhido como o controle positivo porque é a técnica mais utilizada na prática de clareamento dental.

2.3.1 Aplicação do Gás do Ozônio (O_3):

Exposição de Curto e Longo Prazo ($O_3^{\text{baixa-dose}}$ e $O_3^{\text{alta-dose}}$)

A exposição das amostras ao agente O_3 foi realizada numa caixa de aço inoxidável, onde dois conectores posicionados opostamente permitiram a entrada e saída dos gases (Figura 4). As amostras foram numeradas fixadas no fundo do aparelho com uma fita de dupla face, antes de serem submetidas às

misturas de gás oxigênio e gás ozônio ($O_2 + O_3$). Um cilindro de gás de oxigênio fornece O_2 como matéria-prima para um circuito acoplado a um gerador de ozônio (*Ozone & Life, modelo O & L 1.5M R*). A ligação de gás na saída é acoplada a uma mangueira de silicone onde é submersa em um recipiente com água, a qual está ligada a um exaustor para liberar o excesso de gás. O tempo de ozonização durante 8 minutos foi realizado inicialmente para assegurar que o volume total da caixa fosse preenchido com o gás, isto é, para assegurar uma homogeneização de toda a cavidade. A partir deste momento, começa o tempo de exposição das amostras aos gases.

A concentração de O_3 foi ajustada para 62 mg / L, a diferença entre estes procedimentos reside no tempo que a amostra é exposta ao gás. Enquanto que para o procedimento de clareamento com $O_3^{\text{baixa-dose}}$, o procedimento de clareamento foi de 20 minutos, atingindo uma dosagem de 1.240 mg.min.L⁻¹, para o procedimento de clareamento com $O_3^{\text{alta-dose}}$ foi utilizado o tempo de 40 minutos, com uma dosagem de 2.480 mg.min.L⁻¹.

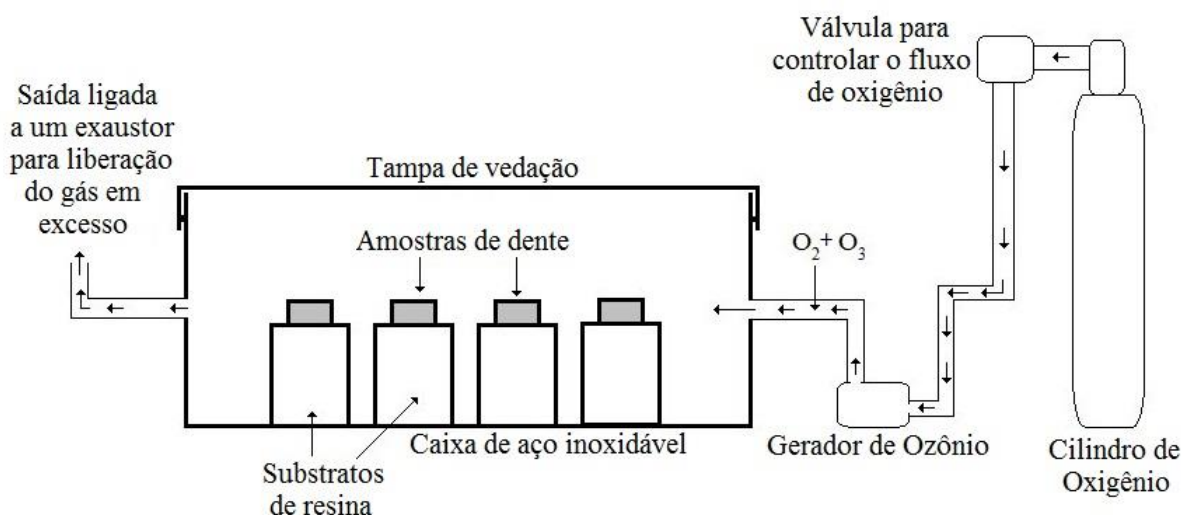


Figura 4 - Aparato desenvolvido para aplicação de O_2 e O_3 nos fragmentos de dentes bovinos: (A) Aplanar superfícies de esmalte, realizadas usando uma lixa de carboneto de silício, e (B) Caixa de aço inoxidável, onde amostras são expostas a O_3 .

2.3.2 Aplicação do oxigênio gasoso (O₂)

O procedimento de clareamento com gás oxigênio emprega o mesmo aparelho e protocolo utilizado para o clareamento por gás ozônio, exceto que o gerador de ozônio permanece desligado. A vazão de O₂ fornecida foi de 125 ml / min durante 40 minutos e é endereçado como o grupo de controle negativo.

2.3.3 Aplicação do peróxido de hidrogênio a 35% (PH35%)

Diferente de técnicas anteriores à base de gás, o procedimento de clareamento com peróxido de hidrogênio emprega uma substância em gel. Utiliza-se o gel de clareamento *Whiteness HP R (Blue Calcium)* contendo 35% de peróxido de hidrogênio. O gel foi manuseado de acordo com as instruções do fabricante e aplicado individualmente à superfície do esmalte das 12 amostras deste grupo de controle positivo com uma camada de cerca de 1 mm de espessura, durante 40 minutos e em ambiente de pouca luz (Figura 5). O gel foi agitado sobre as amostras de superfície a cada 10 minutos com a ajuda da ponta do aplicador para libertar quaisquer bolhas de oxigênio indesejadas e para renovar o contato do gel com os dentes. No final do tempo, as amostras foram lavadas com água deionizada para remoção total do produto e, em seguida, secas com gaze.

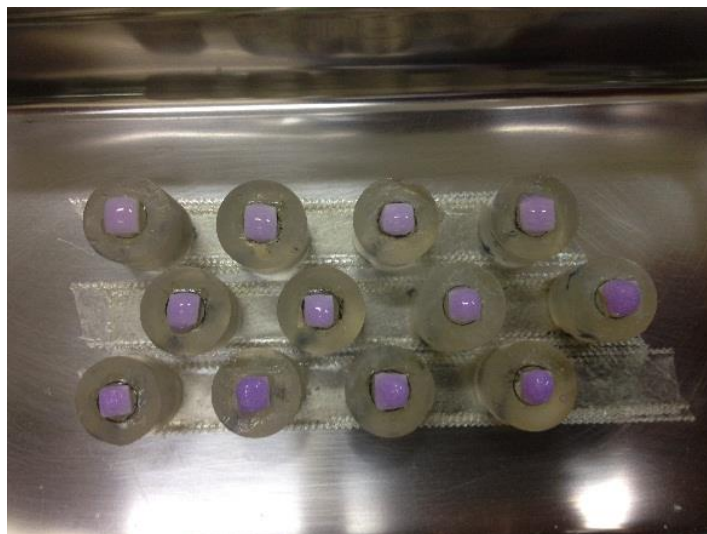


Figura 5 - Imagem das amostras que receberam o gel de PH 35% formando uma camada de cerca de 1 mm de espessura.

2.4. Análises da superfície dental

As análises de rugosidade mecânica (RaM), óptica (RaO) e Dureza, foram realizadas na superfície do dente, em ordem, de acordo com a marcação de uma seta no substrato de acrílico, para que não houvesse alteração no resultado devido as marcas que o rugosímetro mecânico e o durômetro deixam na superfície após as análises. A análise de RaM foi realizada no centro da amostra, sendo iniciada da seta em marcação no substrato de acrílico, para RaO foi utilizado a vértice a esquerda e para Dureza a vértice superior à direita do dente (Figura 6).

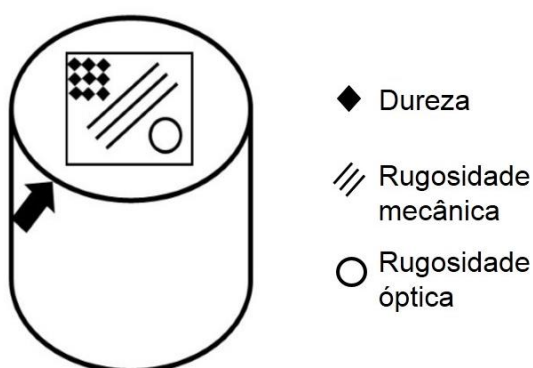


Figura 6 – Distribuição da superfície do dente para realização das análises.

2.4.1 Análise perfilométrica de rugosidade de superfície mecânica (*Taylor*)

A rugosidade superficial do esmalte dental foi medida usando a técnica de perfilometria de contato da caneta (Figura 7).

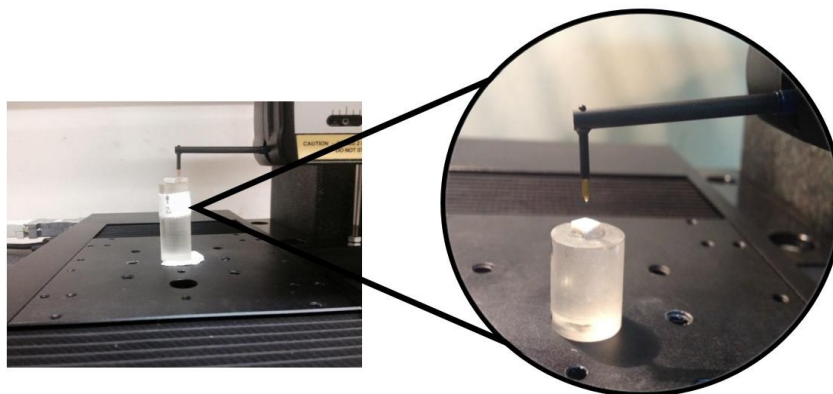


Figura 7 - Técnica de perfilometria de contato da caneta com a amostra realizando a varredura para análise.

A medida da rugosidade superficial foi realizada em três traçados distintos, com um limite de traço, de 1,5 mm e com um comprimento de amostra ou corte, de 0,25 mm. As medidas de rugosidade em cada um dos três traçados das 12 amostras, nos quatro grupos analisados de clareamento, foram realizadas antes e após a aplicação dos diferentes agentes oxidantes. Os substratos foram identificados com uma marca para realizar as medidas sempre na mesma região. O instrumento de rugosímetro mecânico *Taylor Hobson Precision - Forma Talysurf* Sistema de Medição Ultra Precisão PG 1000 R (Figura 8 e 9) foi empregado para sondar a face vestibular das quarenta e oito amostras.

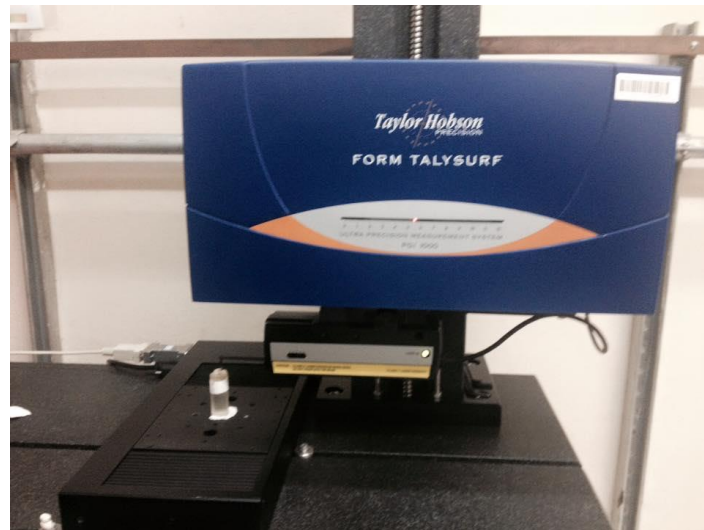


Figura 8 - Rugosímetro mecânico *Taylor Hobson Precision - Forma Talysurf* Sistema de Medição Ultra Precisão PG 1000 R.

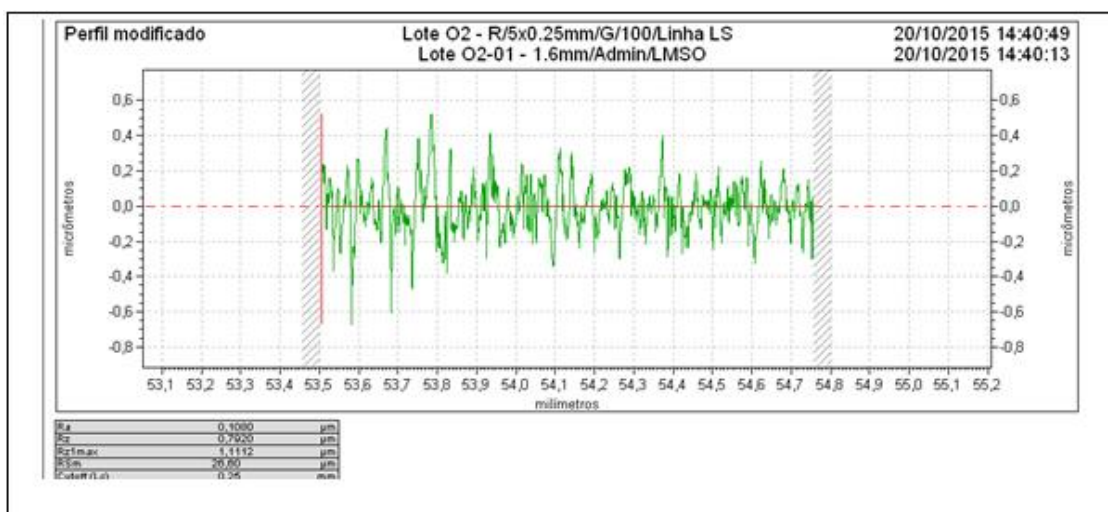


Figura 9 - Imagem de um traçado da rugosidade de superfície obtido pelo parelho Taylor (RaM)

2.5. Análise de Rugosidade a partir do Rugosímetro Óptico (Zygo)

No presente estudo foi empregado o Rugosímetro óptico (*New View 100 interferometric microscope Zygo, Middlefield, Connecticut, USA*) (Figura 10), foi realizada uma leitura da rugosidade superficial no vértice à direita da amostra.



Figura 10 - Rugosímetro óptico (New View 100 interferometric microscope Zygo, Middlefield,

A leitura foi definida através de uma máscara de PVC acoplado a amostra selecionando sempre o mesmo local a ser analisado, os substratos foram identificados com uma seta, onde deveria se alinhar com a seta também identificada no suporte (Figura 11), seguido um padrão para cada amostra, com comprimento de leitura (L) de 5mm² realizando a varredura de baixo para cima. Foram obtidos valores de Ra (rugosidade média) de cada leitura (Figura 12), as medidas de rugosidade das 48 amostras foram realizadas antes do clareamento como o grupo controle (Pré C) e pós clareamento (Pós C).

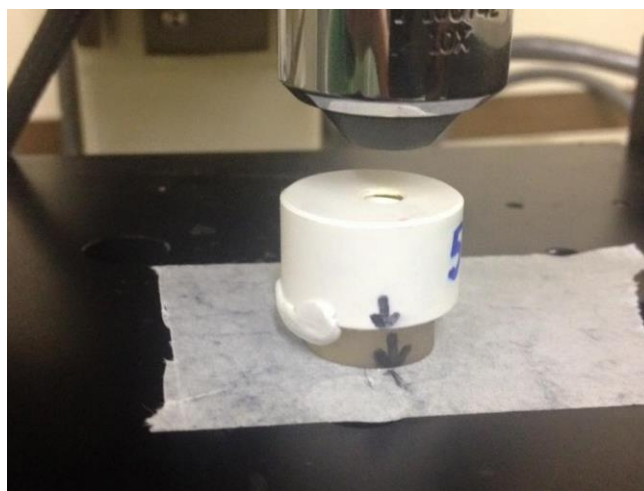


Figura 11 - Máscara de PVC sobre a amostra para a leitura da rugosidade óptica

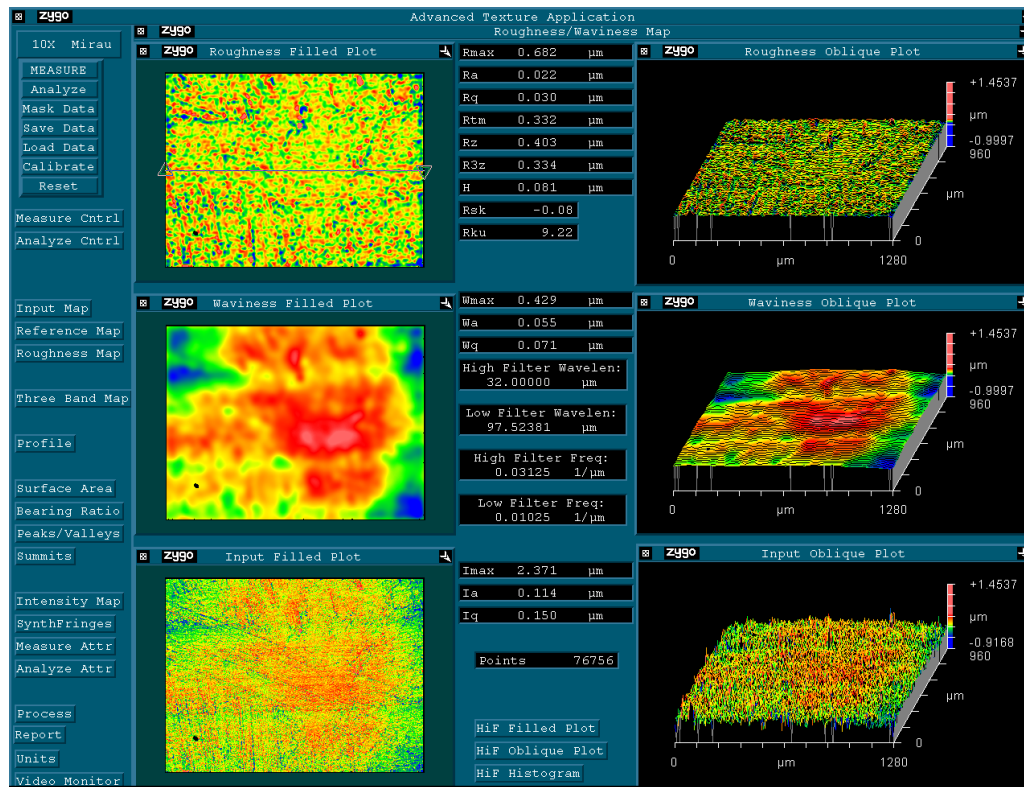


Figura 12 - Imagem de uma análise de rugosidade de superfície obtida a partir do aparelho Zygo (RaO). Análise em 3 D mostrando a profundidade da rugosidade, representado na cor azul como mais profundo e vermelho mais superficial.

2.6. Análise de Dureza

Na análise da dureza foi realizado o teste de microdureza *Vickres* (Modelo *FM-700 Future-Tech*) aplicando-se uma carga de 100g por 10s (Figura 13). Três endentações foram realizadas na região lateral (Figura 14), identificada com uma seta no substrato, com a distância de 200 μm das bordas e entre elas, em seguida realizada as medições para obtenção do resultado. As endentações foram realizadas antes e depois dos tratamentos de clareamento.

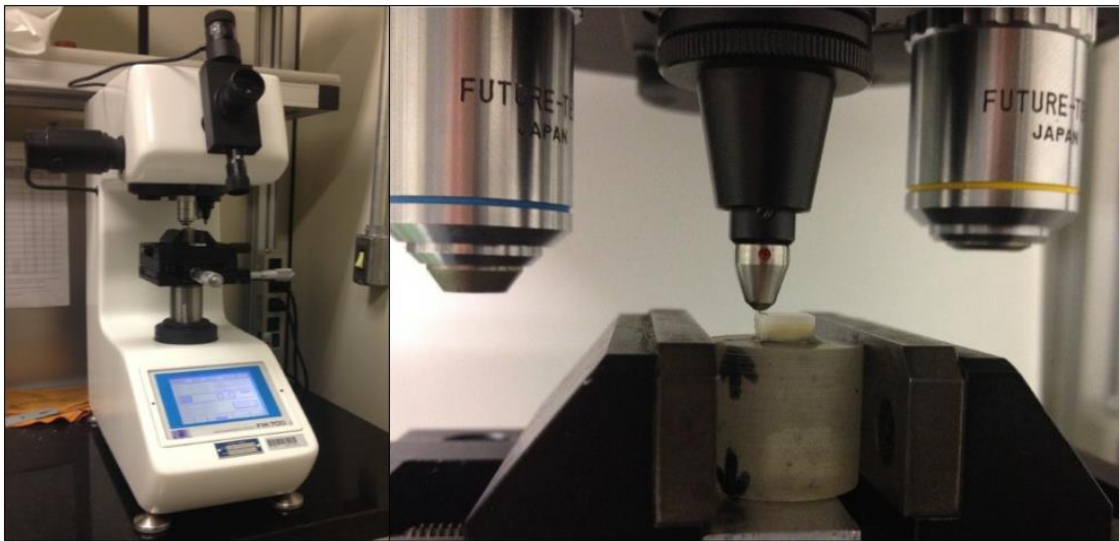


Figura 13 - Microdurometro Vickres (Modelo FM-700 Future-Tech), realizando endentação na amostra.



Figura 14 - Imagens microscópicas da superfície do dente, mostrando as endentações

2.7 Análise de dados

Utilizou-se o software Graphpad Prism para realização das análises de dados por dispersão, determinação das médias e desvio padrão.

3. RESULTADOS

Os resultados da técnica de análise mecânica e óptica, para a determinação da Rugosidade (RaM e RaO), respectivamente, de 48 amostras de dentes bovinos, pré e pós clareamento, foram realizadas em triplicata) para a técnica de RaM (Tabela 1), e simplicata para a RaO (Tabela 2). Após esta etapa, foi calculado a média e o desvio padrão das 12 amostras em cada grupo estudado.

Tabela 1 - Valores das análises de rugosidade mecânica em triplicata. Sendo 3 medidas para cada agente de clareamento dental (análise 1, 2 e 3) pré e pós clareamento.

Agentes de Clareamento Dental		$O_3^{\text{baixa-dose}}$	$O_3^{\text{alta-dose}}$	O_2	PH35%
Pré	Análise 1*	0.0688±0.0174	0.0580±0.0235	0.1012±0.0349	0.0852±0.0167
	Análise 2*	0.0606±0.0178	0.0600±0.0264	0.0962±0.0275	0.0829±0.0150
	Análise 3*	0.0609±0.0199	0.0583±0.0252	0.0933±0.0272	0.0856±0.0182
Pós	Análise 1*	0.0872±0.0471	0.0539±0.0233	0.0774±0.0297	0.0629±0.0171
	Análise 2*	0.0825±0.0419	0.0565±0.0206	0.0783±0.0253	0.0595±0.0118
	Análise 3*	0.0806±0.0398	0.0592±0.0240	0.0733±0.0196	0.0589±0.0181

*Correspondem aos valores expressos em média ± desvio padrão.

Tabela 2 - Valores das análises de rugosidade óptica em simplicata.

Agentes de Clareamento Dental		$O_3^{\text{baixa-dose}}$	$O_3^{\text{alta-dose}}$	O_2	PH35%
Pré	Análise*	0,0736±0.0239	0.0613±0.0255	0.0538±0.0181	0.0507±0.0167
Pós	Análise*	0.0490±0.0227	0.0586±0.0179	0.0548±0.0194	0.0460±0.0079

*Correspondem aos valores expressos em média ± desvio padrão.

Foram comparados os valores de Ra pré e pós clareamento nos diferentes grupos e foi observado uma diferença no perfil de distribuição dos dados, apenas no grupo $O_3^{\text{baixa-dose}}$, onde a dispersão dos dados é maior pós clareamento na análise RaM. O grupo $O_3^{\text{alta-dose}}$, assim como o grupo oxigênio e peróxido, não apresentam dispersão dos dados, indicando que não houve variação decorrente deste procedimento (Figura 15).

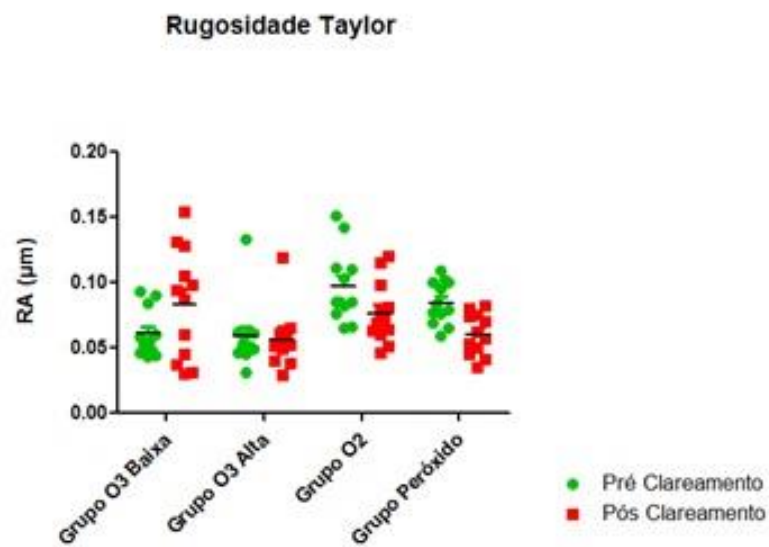


Figura 15 - Comparação entre as fases do clareamento de acordo com os grupos para a análise de RaM.

Na RaO foi observado que os dados apresentaram uma distribuição mais uniforme, pré e pós aplicação dos diferentes procedimentos, incluindo o grupo baixa dose (Figura 16).

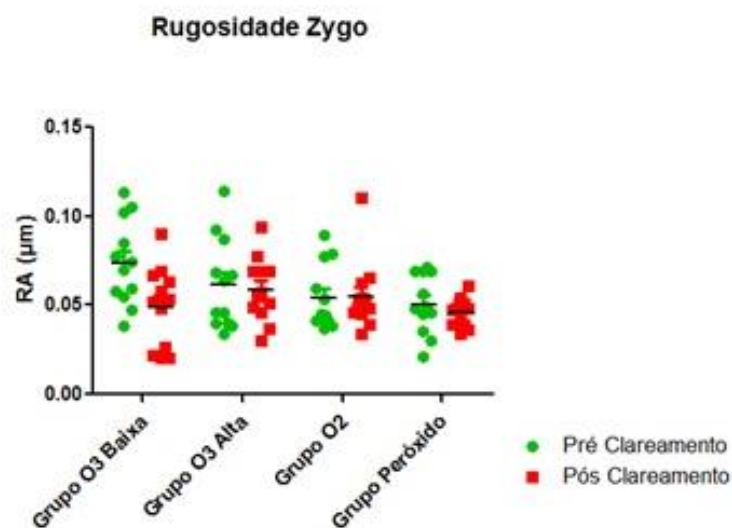


Figura 16 - Comparação entre as fases do clareamento de acordo com os grupos para a análise de RaO

A análise comparativa da dureza das amostras, antes e após a aplicação das técnicas que empregam compostos oxidantes, demonstrou que não houve alteração na dispersão dos dados em nenhum dos grupos estudados (Figura 17).

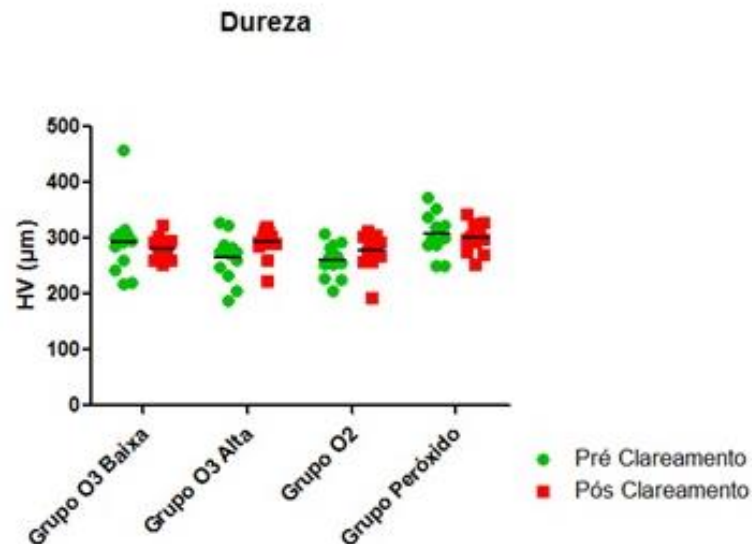


Figura 17 - Comparação entre as fases do clareamento de acordo com os grupos para a análise de dureza.

Com o intuito de verificar as alterações induzidas pelos diferentes procedimentos foi realizada uma análise baseada do delta, isto é, os valores de Ra após os procedimentos menos o Ra pré de todas as amostras avaliadas ($\Delta = Ra^{pós} - Ra^{pré}$).

Ao analisar a RaM (Taylor) observou-se que a variação da rugosidade pré e pós clareamento se manteve próxima de zero no grupo $O_3^{alta-dose}$, O_2 e PH35% e também foi identificado um aumento na rugosidade do grupo $O_3^{baixa-dose}$ (Figura 18).

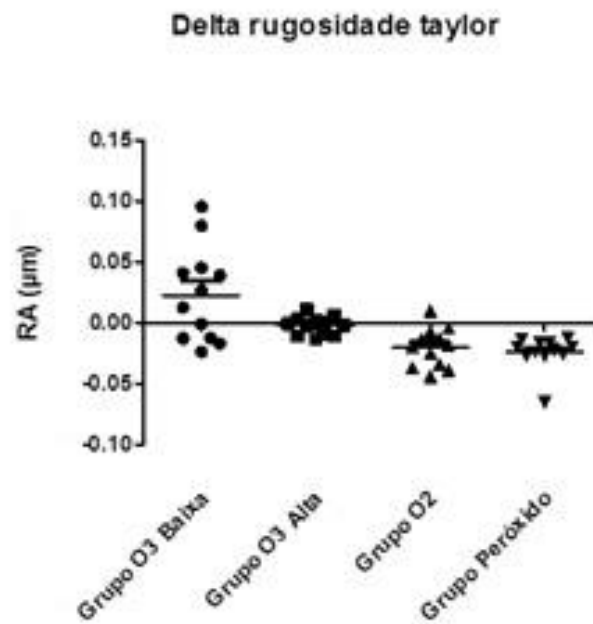


Figura 18 - Diferença entre as fases do clareamento (Delta) de acordo com os grupos para a análise Mecânica de rugosidade (RaM).

A RaO (Zygo) houve tendência de redução da rugosidade no grupo $\text{O}_3^{\text{baixa-dose}}$, os demais se mantiveram inalterados, porém não é uma alteração significativa compara com grupos (Figura 19).

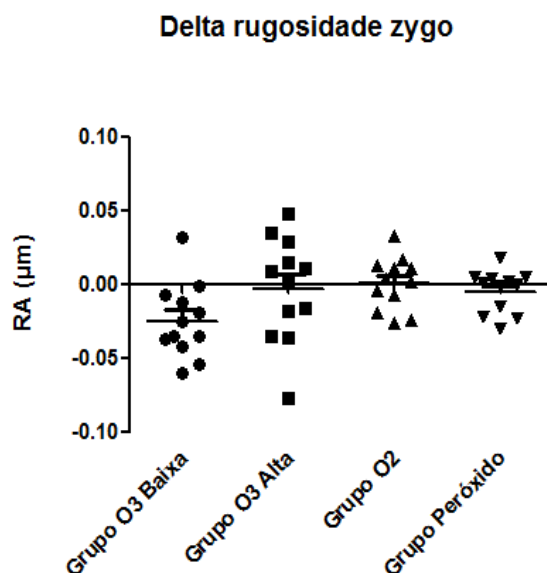


Figura 19 - Diferença entre as fases do clareamento (Delta) de acordo com os grupos para a análise Óptica de rugosidade Óptica (RAO).

A análise do delta da dureza indicou que não houve alteração significativa da microdureza (Figura 20).

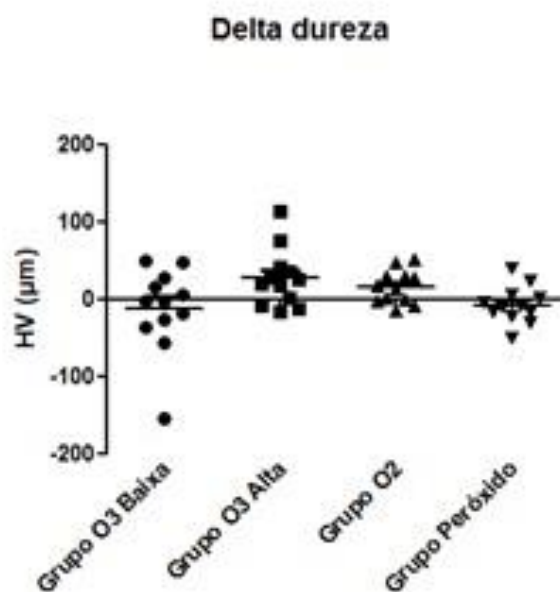


Figura 20 - Diferença entre as fases do clareamento (Delta) de acordo com os grupos para a análise de dureza.

4. DISCUSSÃO

Neste estudo utilizou-se dois métodos diferentes para análise de rugosidade das amostras dentárias: Taylor (Rugosímetro cuja análise é mecânica) e Zygo (Rugosímetro baseado na análise óptica). O princípio das técnicas empregadas é diferente, por isso iremos destacar as principais características destas. A análise mecânica possui como vantagem, por exemplo, maior aplicação na aferição de superfícies sem preparação prévia, possibilitando reutilização das amostras utilizadas (JONIOT et al., 2006). Porém, possui limitações quanto a detecção de pequenas cavidades ou superfícies com grandes curvaturas na amostra devido ao raio de arqueamento da caneta, e as desvantagens de lentidão do método além da possibilidade de causar danos ao material devido à força de aplicação da caneta sobre a superfície da amostra (CORNET; DEVILLE, 2012). Em relação análise óptica, tais desvantagens não são encontradas, pois seus feixes penetram todos os espaços e a resolução é mais fina. Como desvantagem, ao contrário da análise mecânica, é necessário realizar um polimento prévio nas amostras para evitar a ocorrência de artefatos, situação ocasionada pela difusão da luz em diversas direções. (JUNG; VOIT; KLIMEK, 2003)

Joniot et al. (2006), direcionam a análise óptica como sendo mais representativa da superfície da amostra por ilustrar uma topografia 3-D e como resultado de seu estudo, concluíram que a rugosidade mecânica tende a apresentar rugosidade causada pelo polimento da superfície do dente, ao contrário da rugosidade óptica que mostrou resultados relacionados a estrutura do material. Concordando com estes autores, nossos achados mostram maior coerência entre a análise óptica e a análise de dureza, indicando que esta possa ser a mais confiável. Neste sentido, as discussões realizadas a partir de agora serão baseadas nos resultados da RaO.

Com relação análise da rugosidade frente aos diferentes procedimentos clareadores, deve-se destacar que o esmalte é o tecido mais mineralizado, composto por 96% de material inorgânico contendo cristais de fósforo e de cálcio sob a mesma forma de hidroxiapatita, e de material orgânico que contém 1% de proteínas e 3% de água. (ANGER; SWAIN, 2006).

O principal componente dos tecidos dentários rígidos é a hidroxiapatita (HA), que consiste em cristais presentes no esmalte dentário humano e corresponde a um peso de 17,4% de fósforo e 37,1% de cálcio (SASAKI et al, 2015), com tamanho na ordem de nanômetros (nm) (HE; SWAIN, 2008; AN, et al 2012). Segundo este autor, os cristais se mantêm unidos por uma camada de proteína com cerca de 2nm, o que forma um prisma de esmalte de aproximadamente 5 micrômetros (μm) de diâmetro, encapsulado pela bainha do prisma, importante proteína na regulação das propriedades mecânicas dos tecidos dentários.

Regiões interprismáticas apresentam cristais de hidroxiapatita dispostos desorganizadamente (ANGKER; SWAIN, 2006; ZHOU; HSIUNG, 2007). Quando se refere ao esmalte, quanto menos material orgânico, mais frágil é o tecido dental (AN, et al. 2012) e apesar de ser um tecido cristalino fortemente mineralizado, possibilita a ação dos agentes clareadores, difusão de substâncias e troca iônica com o meio bucal por apresentar permeabilidade (RODRIGUES, et al, 2001; PINHEIRO, 2009).

DÄHNHARDT (2006) demonstrou que o ozônio pode ser usado na remineralização de lesões dentinária, pois, além de ser potencial de oxidação, abre canais dentinários após afetar as biomoléculas de lesões cariosas (BAYSAN; LYNCH, 2004). SAMUEL (2016). Verificou que a água ozonizada pode ser eficaz na reversão da cárie inicial, quando usada com hidroxiapatita em comparação com o uso isolado deste componente na saliva

Após analisar individualmente cada grupo e comparar seu desempenho antes e após o clareamento, foi realizada uma análise da variação total (Δ) seguida de uma análise entre grupos. Os achados desta análise indicaram uma tendência de aumento da rugosidade mecânica no $O_3^{\text{baixa-dose}}$, ao contrário da análise óptica que mostrou diminuição da rugosidade. Entretanto, a dureza se manteve estável nos dois momentos do clareamento com $O_3^{\text{baixa-dose}}$, sendo utilizado a dose de ozônio $1.240 \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$.

Elsayad (2011), com o objetivo de avaliar o efeito do ozônio em diferentes concentrações e tempos de exposição, realizando uma análise química e morfológica da superfície do esmalte, o autor utilizou 20 amostras divididas em 4 grupos, sendo que 2 receberam a mesma concentração, $90 \mu\text{g/ml}$ com tempo

de exposição de 1 e 2 minutos respectivamente, e nos outros 2 grupos a concentração de 120µg/ml com mesmo tempo de aplicação, sendo todas as amostras de dente controle se si mesma em análise pré-tratamento. Após as análises, concluiu-se que em concentração elevada e maior tempo de exposição, o ozônio não altera a composição química do esmalte. Mas, a aplicação de ozônio durante 2 min altera a morfologia da superfície do esmalte, causando graus variáveis de rugosidade.

Analizando a dispersão dos dados do nosso trabalho, não houve alteração significativa, o perfil de dispersão do dados pré e pós clareamento são parecidos na análise RaO.

Para avaliar os efeitos da molécula de ozônio sobre as propriedades físicas do esmalte e seus efeitos sobre a capacidade de selagem, Celibert et al (2006) realizaram um teste em dentes humanos onde foram divididos em dois grupos: 12 amostras do grupo controle e 12 amostras tratados com ozônio, a uma concentração de 2100ppm por 40 segundos, dose menor do que o grupo de $O_3^{baixa-dose}$ apresentada neste estudo. Ao realizar a análise de dureza, ângulo de contato, resistência ácida e microscopia eletrônica de varredura, concluiu que o uso de ozônio não causou alterações nas características físicas do esmalte quando utilizado como tratamento antes do ataque químico e selagem, podendo ser aplicado sobre o esmalte, mostrando que altas concentrações não causam alterações na superfície do esmalte, mais uma vez concordando com os nossos achados (Celibert et al., 2006).

O peróxido de hidrogênio clareia os dentes pela oxidação de sua matriz orgânica e não induz modificações significativas nos teores orgânicos e inorgânicos do esmalte dentário (Eimar, 2012). Porém, se usado de forma incorreta pode causar problemas, pois é possível que os peróxidos resultem em radicais livres de oxigênio, prejudiquem o tecido (Floyd, 1997), e ainda haja diminuição do teor de mineral do esmalte (Attia, 2015).

Eimar (2012) sugere que o peróxido de hidrogênio, elemento ativo dos clareadores dentais, é um potente agente oxidante. No entanto, quando entra em contato com os tecidos, a solução de peróxido de hidrogênio 30% em água destilada se degrada em oxigênio e água. Isso aponta para a responsabilidade do oxigênio pelo clareamento, o qual penetra nos túbulos dentários e evita as

impregnações por ação mecânica da limpeza e reação química (BARATIER, 1993).

Cadenaro et al (2010), buscando avaliar a rugosidade da superfície do esmalte, realizaram análise de 20 incisivos após clareamento com PH, concluindo que o produto não causa alteração significativa da rugosidade mesmo após aplicações repetidas e prolongadas. Esta afirmação também foi mantida por De Freitas et al (2010) após teste de rugosidade superfície de um estudo *in vitro* realizados após clareamento com peróxido de hidrogênio. Estes resultados comparado com nosso estudo são parecidos pois não identificamos alteração na análise de clareamento com PH.

Sasaki (2015), ao analisar 80 placas de esmaltes usando 3 agentes comerciais [Pola Day 7.5% (PH 75%), Day White ACP 7.5% (DW-ACP) e White Class Calcium 7.5% (WC-Calcium)], 3 experimentais (HP 7.5% + fluoreto de sódio (NaF), HP 7.5% + e hidroxiapatita (HÁ) e PH 7.5 % + NaF + HA), 1 controle positivo (com HP) e 1 grupo de controle negativo (sem HP). No geral, foi identificado que a rugosidade e porosidades aumentaram com o tempo, além de observada a deposição de estruturas cristalinas nos grupos HP + HA e HP + NaF + HÁ, sugerindo também que o agente HP + HA foi capaz de reduzir a perda de microdureza do esmalte devido ao branqueamento e também a mudança de cor atual semelhante aos produtos comerciais.

Estudo realizado por Riehl (2002) apresentou resultados semelhantes ao presente estudo com relação a utilização do peróxido de hidrogênio. Esse autor avaliou a influência de três agentes clareadores sobre a rugosidade e a dureza de dente bovino, que foram PH35%; palescence X-tra e opalescence regular a 10%. Os achados indicaram que o uso de PH35% e palescence X-tra alteram a rugosidade e a dureza das amostras. Elfallah (2015), mostrou o mesmo resultado em estudo que concluiu que a dureza pode ser reduzida, significativamente, após o tratamento usando peróxido de carbamida 16% e peróxido de hidrogênio 35% (HP), sobre as propriedades mecânicas e o teor protéico do esmalte humano de dentes recém extraídos. Enquanto que outros estudos (JOINER, et al, 2004; UNLU 2004), assim como o nosso estudo, a dureza não apresentou mudança dos seus valores para o agente clareador PH35%.

Em uma revisão de literatura, ao avaliar os efeitos de tratamentos clareadores em dentes vitalizados, Agostinho (2008) concluiu que dos 22 trabalhos que avaliaram a rugosidade da superfície, 59% afirmaram haver alterações significativas na superfície do esmalte após o clareamento dental e 41% afirmam que seus resultados não apresentam alterações significativas após clareamento. Ressaltando que estes trabalhos todos utilizaram RaM, e comparando nosso trabalho que usa a análise de dureza para confirmar a ausência de alteração na rugosidade, como pioneiros na utilização de RaO para análise dental pós clareamento, sugerindo assim que novos estudos devem ser realizados empregando-se a análise óptica da rugosidade.

5. CONCLUSÃO

Concluimos que há diferença nas técnicas de análise de rugosidade, apontando a análise óptica (Zygo) como a mais coerente para tal determinação, ao relaciona-la à dureza do material estudado além de apresentar maiores vantagens comparadas com a análise mecânica.

Quanto as diferentes técnicas de clareamento, foi possível observar que de acordo com a dispersão dos dados obtidos, a utilização dos diferentes procedimentos oxidantes não houve diferença em nenhuma na dureza do material além de não interferir na rugosidade dos dentes bovinos, de acordo com a análise óptica, porém estudos complementares devem ser realizados empregando-se a análise óptica da rugosidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. et al. Comparative Study of the Effect of Acid Etching on Enamel Surface Roughness between Pumiced and Non-pumiced Teeth. **Journal of International Oral Health**, v. 7, n. 9, p. 1-6, 2015.

AGOSTINHO, F. L. F.; GUIMARÃES, R. P.; DA SILVA, C. H. V. Alterações na microestrutura do esmalte pós-clareamento/Alterations in microstructure in enamel after bleaching. **International Journal of Dentistry**, v. 2, n. 2, p. 273-278, 2008.

AL-OMIRI, M. K. et al. Effects of combining ozone and hydrogen peroxide on tooth bleaching: A clinical study. **Journal of dentistry**, v. 53, p. 88-93, 2016.

AL-OMIRI, M. K. et al. Improved tooth bleaching combining ozone and hydrogen peroxide—A blinded study. **Journal of dentistry**, v. 46, p. 30-35, 2016.

AL-SALEHI, S. K.; WOOD, D. J.; HATTON, P. V. The effect of 24h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. **Journal of Dentistry**, v. 35, n. 11, p. 845-850, 2007.

AN, B. et al. The role of property gradients on the mechanical behavior of human enamel. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 9, p. 63-72, 2012.

ANKER, L.; SWAIN, M. V. Nanoindentation: application to dental hard tissue investigations. **Journal of materials research**, v. 21, n. 8, p. 1893-1905, 2006.

ATTIA, M. L. et al. Effects of Bleaching Agents Combined with Regular and Whitening Toothpastes on Surface Roughness and Mineral Content of Enamel. **Photomedicine and laser surgery**, v. 33, n. 7, p. 378-383, 2015.

ATTIN, T. Methods for assessment of dental erosion. In: **Dental Erosion**. Karger Publishers, 2006. p. 152-172.

AZER, S. S. et al. Effect of home bleaching systems on enamel nanohardness and elastic modulus. **Journal of dentistry**, v. 37, n. 3, p. 185-190, 2009.

BALLESTER-PALACIOS, M. L. et al. Interferometric microscopy study of the surface roughness of Portland cement under the action of different irrigants. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, v. 18, n. 5, p. e817, 2013.

BARATIERI, L. N. et al. Clareamento dental. In: **Clareamento dental**. Santos, 1993.

BAYSAN, A.; LYNCH, E. Effect of ozone on the oral microbiota and clinical severity of primary root caries. **American journal of dentistry**, v. 17, n. 1, p. 56-60, 2004.

BOCCI, V. et al. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. **Medicinal research reviews**, v. 29, n. 4, p. 646-682, 2009.

BONAFÉ, E. et al. Effectiveness of a desensitizing agent before in-office tooth bleaching in restored teeth. **Clinical oral investigations**, v. 18, n. 3, p. 839-845, 2014.

CELIBERTI, P.; PAZERA, P.; LUSSI, A. The impact of ozone treatment on enamel physical properties. **American journal of dentistry**, v. 19, n. 1, p. 67, 2006.

CHNG, H. K. et al. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentine. **Journal of Dentistry**, v. 33, n. 5, p. 363-369, 2005.

CHUENARROM, C.; BENJAKUL, P.; DAOSODSAI, P. Effect of indentation load and time on knoop and vickers microhardness tests for enamel and dentin. **Materials Research**, v. 12, n. 4, p. 473-476, 2009.

DA SILVA, M. A. B. et al. Analysis of roughness and surface hardness of a dental composite using atomic force microscopy and microhardness testing. **Microscopy and Microanalysis**, v. 17, n. 3, p. 446-451, 2011.

DÄHNHARDT, J. E. ; JÄGGI, T.; LUSSI, A.. Treating open carious lesions in anxious children with ozone. A prospective controlled clinical study. **American journal of dentistry**, v. 19, n. 5, p. 267-270, 2006.

DEVILLE, J.-P.; CORNET, A. Physique et ingénierie des surfaces. **EDP sciences**, 2012.

EIMAR, H. et al. Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure. **Journal of Dentistry**, v. 40, p. e25-e33, 2012.

ELFALLAH, H. M. et al. Effect of tooth bleaching agents on protein content and mechanical properties of dental enamel. **Acta biomaterialia**, v. 20, p. 120-128, 2015.

ELSAYAD, I. I. Chemical analysis and surface morphology of enamel following ozone application with different concentrations and exposure times. **Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 2, p. 131-136, 2011.

FLOYD, ROBERT A. The effect of peroxides and free radicals on body tissues. **The Journal of the American Dental Association**, v. 128, p. 37S-40S, 1997.

HE, L. H.; SWAIN, M. V. Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 1, n. 1, p. 18-29, 2008.

ISAC, J. et al. Effects of clinical use and sterilization on surface topography and surface roughness of three commonly used types of orthodontic archwires. **Indian Journal of Dental Research**, v. 26, n. 4, p. 378, 2015.

JONIOT, S. et al. Use of two surface analyzers to evaluate the surface roughness of four esthetic restorative materials after polishing. **Operative dentistry**, v. 31, n. 1, p. 39-46, 2006.

JOINER, A.; THAKKER, G.; COOPER, Y. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentine microhardness in vitro. **Journal of Dentistry**, v. 32, p. 27-34, 2004.

JUNG, M.; VOIT, S.; KLIMEK, J. Surface geometry of three packable and one hybrid composite after finishing. **Operative dentistry**, v. 28, n. 1, p. 53-59, 2003.

NAIK, S. V. et al. Suppl-1, M7: Ozone-A Biological Therapy in Dentistry-Reality or Myth?????. **The open dentistry journal**, v. 10, p. 196, 2016.

NATHOO, SALIM A. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. **The Journal of the American Dental Association**, v. 128, p. 6S-10S, 1997.

PARK, H.-J. et al. Changes in bovine enamel after treatment with a 30% hydrogen peroxide bleaching agent. **Dental materials journal**, v. 23, n. 4, p. 517-521, 2004.

PARAVINA, R. D. et al. Effect of finishing and polishing procedures on surface roughness, gloss and color of resin-based composites. **American Journal of Dentistry**, v. 17, n. 4, p. 262-266, 2004.

PATIL, A. G. et al. Bleaching of a non-vital anterior tooth to remove the intrinsic discoloration. **Journal of natural science, biology, and medicine**, v. 5, n. 2, p. 476, 2014.

PINHEIRO, H. B.. Influência de cinco géis clareadores e de um gel remineralizante sobre a ultra-estrutura e microdureza do esmalte e da dentina de dentes humanos. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. 2009.

POLYDOROU, O.; PELZ, K.; HAHN, P. Antibacterial effect of an ozone device and its comparison with two dentin-bonding systems. **European journal of oral sciences**, v. 114, n. 4, p. 349-353, 2006.

POTGIETER, E.; OSMAN, Y.; GROBLER, S. R. The effect of three whitening oral rinses on enamel micro-hardness. **South African Dental Journal**, v. 69, n. 4, p. 152-156, 2014.

RIEHL, H. Estudo in vitro do efeito de três diferentes agentes clareadores sobre a dureza e rugosidade do esmalte dentário bovino. 2002. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**.

RODRIGUES, J. A. et al. Effects of 10% carbamide peroxide bleaching materials on enamel microhardness. **American Journal of Dentistry**, v. 14, n. 2, p. 67-71, 2001.

SASAKI, R. T. et al. Effect of 7.5% hydrogen peroxide containing remineralizing agents on hardness, color change, roughness and micromorphology of human enamel. **American journal of dentistry**, v. 28, n. 5, 2015.

SAMUEL, S. R. et al. Effect of ozone to remineralize initial enamel caries: in situ study. **Clinical oral investigations**, p. 1-5, 2016.

SIMÕES, A. L. Utilização do gás ozônio para clareamento dental [Dissertação]. **Universidade Camilo Castelo Branco**. Instituto de Engenharia Biomédica, Campus São José dos Campos. 2015.

TEN BOSCH, J. J.; COOPS, J. C. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. **Journal of dental research**, v. 74, n. 1, p. 374-380, 1995.

TESSIER, J. et al. The use of ozone to lighten teeth. An experimental study. **Acta odontologica latinoamericana: AOL**, v. 23, n. 2, p. 84-89, 2010.

ÜNLÜ, N. et al. Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 31, n. 1, p. 57-61, 2004.

WATTS, Am; ADDY, M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. **British dental journal**, v. 190, n. 6, 2001.

WRAY, A.; WELBURY, R. Treatment of intrinsic discoloration in permanent anterior teeth in children and adolescents. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 11, n. 4, p. 309-315, 2001.

YAP, A. U. J. et al. Surface characteristics of tooth-colored restoratives polished utilizing different polishing systems. **Operative Dentistry**, v. 22, p. 260-265, 1997.

ZANJANI, V. A. et al. Bleaching effect of ozone on pigmented teeth. **Dental research journal**, v. 12, n. 1, p. 20, 2015.

ZHOU, J.; HSIUNG, L. L. Depth-dependent mechanical properties of enamel by nanoindentation. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 81, n. 1, p. 66-74, 2007.