

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Camila Conterato

**INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE
SUBSTÂNCIAS ANTIOXIDANTES NA
ALTERAÇÃO DE COR DO ESMALTE
DENTÁRIO APÓS CLAREAMENTO COM
PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO A 35%**

Passo Fundo

2024

Camila Conterato

**INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE
SUBSTÂNCIAS ANTIOXIDANTES NA
ALTERAÇÃO DE COR DO ESMALTE
DENTÁRIO APÓS CLAREAMENTO COM
PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO A 35%**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da UPF, para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Clínica Odontológica, sob orientação do prof. **Dra. Paula Benetti**

Passo Fundo

2024

Folha reservada para
Ata de aprovação da Banca Examinadora

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.
Após, faça a substituição pela Ata de aprovação fornecida pela
Secretaria para manter a correta numeração do seu trabalho.

Folha reservada para
Ficha catalográfica

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.
Após, faça a substituição pela Ficha Catalográfica fornecida pela
Secretaria para manter a correta numeração do seu trabalho

BIOGRAFIA DO AUTOR

Camila Conterato, nascida no dia 22 de janeiro de 1989, na cidade de Casca, Rio Grande do Sul, filha de Paulo Conterato e Marlene Triches Conterato. Formada em Odontologia pela Universidade de Passo Fundo (UPF) em 19 de julho de 2021. Durante o mesmo ano de formação, concluiu o curso de Reabilitação Oral com Prótese Sobre Implante pela Universidade de Passo Fundo (UPF). Especialista em Saúde Coletiva pela Instituição de Ensino Superior Dom Alberto, cidade de Santa Cruz do Sul, finalizada em 2023 e com especialização de Gestão em Estratégia da Saúde da Família em andamento pela mesma instituição. Atualmente, mestranda em Clínica Odontológica pelo Programa de Pós-graduação da Universidade de Passo Fundo (UPF) na linha de pesquisa de Biomateriais e Odontologia Reabilitadora.

OFERECIMENTOS E AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Paulo e Marlene, pela vida e infinito apoio.

A minha filha Cecília, meu amor incondicional.

Ao meu marido Luan, pelo carinho, incentivo e apoio.

A minha orientadora, Professora Dra. Paula Benetti meus sinceros agradecimentos pela confiança em mim depositada, por toda a contribuição e ensino em todos os momentos do Mestrado, meu eterno respeito.

Aos meus colegas de Mestrado, pela convivência e troca de conhecimentos durante o curso.

Ao Programa de Pós-Graduação de Odontologia e Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, professores e funcionários minha eterna gratidão.

À empresa FGM produtos Odontológicos, pelo material fornecido que foi utilizado neste estudo.

Meus sinceros agradecimentos, Obrigado!

SUMÁRIO

OFERECIMENTOS E AGRADECIMENTOS.....	6
SUMÁRIO.....	7
LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
3. PROPOSIÇÃO	36
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
5. RESULTADOS	46
6. DISCUSSÃO.....	49
7. CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS	57
ARTIGO A SER SUBMETIDO.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 . Valores médios e desvio padrão do Índice de Brancura	46
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 . Protocolo de escurecimento dos corpos de prova	39
Figura 2 . Descrição dos grupos experimentais.....	39
Figura 3 . Protocolo clareador	40
Figura 4 . Aplicação da substância antioxidante	41
Figura 5 . Superfície do esmalte.....	42
Figura 6 . Avaliação da cor.....	43
Figura 7. Diferenças do índice de brancura (ΔWID) dos grupos experimentais nos intervalos de avaliação.....	47
Figura 8 . Diferenças de cor ($\Delta E00$) dos grupos experimentais nos intervalos de avaliação	49

LISTA DE ABREVIATURAS

AT	<i>Acceptability Threshold</i>
ATX	Substância Antioxidante
CA	Casca d'Anta
CIE	<i>Comission Internationale de l'Eclairage</i>
CP	Peróxido de Carbamida
CV	Chá-Verde
EM	Erva-Mate
HP	Peróxido de Hidrogênio
min	minutos
PT	<i>Perceptibility Threshold</i>
RES	Resveratrol
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
s	segundos
WID	<i>Whiteness Index for Dentistry</i>
ΔE_{00}	Diferença de cor
ΔWID	Diferença no Índice de Clareamento

RESUMO

Objetivo: Avaliar a influência de substâncias antioxidantes (ATX) erva-mate (EM), resveratrol (RES), chá-verde (CV) e casca d'anta (CA) após o clareamento de consultório na alteração de cor do esmalte dental. Metodologia: Coroas de incisivos bovinos foram escurecidas e divididas aleatoriamente em seis grupos (n=20) para a aplicação das soluções aquosas: Ctrl_NC- controle negativo; Ctrl_C- controle clareado sem ATX; EM- clareado e com solução de erva-mate; RES- clareado e com solução resveratrol; CV- clareado e com solução chá-verde; CA- clareado e com solução de casca d'anta. O peróxido de hidrogênio a 35% foi aplicado por 45 minutos (3 aplicações de 15 minutos) na superfície do esmalte vestibular. O ATX foi usado imediatamente após o clareamento por 10 min e removido com spray de ar e água. As avaliações de cor foram feitas antes do clareamento (T0), pós-clareamento (T1) e após aplicação dos ATX (T2). Os dados foram avaliados por Kruskal-Wallis e Tukey com significância de 5%. Resultados: Não houveram diferenças no WID entre grupos dentro do mesmo período de avaliação (p=0.03). $\Delta E00$ foi semelhante em todos os tempos de avaliação. Contudo, o CV mostrou alteração de cor maior do que os demais grupos e acima do limiar de aceitabilidade

em T2-T1 ($p= 0.017$). Conclusão: A aplicação de extratos de RES, CA e EM não provocaram alterações de cor, enquanto o CV pode alterar a cor do esmalte pós clareamento dental. Relevância clínica: Este estudo sugere que antioxidantes experimentais como resveratrol, erva-mate e casca d'anta podem ser úteis para reduzir o tempo entre o clareamento e procedimentos adesivos, sem comprometer significativamente a cor alcançada após o clareamento.

Palavras-chave: Peróxido de hidrogênio, clareamento dental, antioxidante, potencial antioxidante.

ABSTRACT¹

Objective: To evaluate the influence of antioxidant substances yerba mate, resveratrol, green tea and winter's bark on tooth enamel color change after in-office bleaching. Methodology: Bovine incisor crowns were darkened and randomly divided into six groups (n=20) for the application of aqueous solutions: Ctrl_NC - negative control; Ctrl_C - bleached control without ATX; EM - bleached with yerba mate solution; RES - bleached with resveratrol solution; CV - bleached with green tea solution; CA - bleached with winter's bark solution. The 35% hydrogen peroxide solution was applied for 45 minutes (3 applications of 15 minutes) to the buccal enamel surface. ATX was used after bleaching for 10 minutes and rinsed with an air-water spray. Color evaluations were performed before bleaching (T0), after bleaching (T1), and after ATX application (T2). Data were analyzed using Kruskal-Wallis and Tukey tests with a 5% significance level. Results: No differences in WID were observed between groups within the same evaluation period ($p=0.03$). $\Delta E00$ was similar across all evaluation times. However, CV showed a greater color change than the other groups and

¹ Influence of the application of antioxidant substances on the color alteration of dental enamel after whitening with 35% hydrogen peroxide

exceeded the acceptability threshold in T2-T1 ($p=0.017$).
Conclusion: The application of RES, CA, and EM extracts did not cause color changes, while CV may alter enamel color after dental bleaching. Clinical Relevance: This study suggests that experimental antioxidants such as resveratrol, yerba mate, and winter's bark may be useful for reducing the time between bleaching and adhesive procedures without significantly compromising the color achieved after bleaching.

Keywords: Hydrogen peroxide, dental bleaching, antioxidant, antioxidant potential

1. INTRODUÇÃO

O clareamento dental é uma alternativa para o tratamento de dentes escurecidos quando comparado a outras técnicas operatórias estéticas como microabrasão, facetas e coroas (SILVA *et al.*, 2021; BARBOSA *et al.*, 2017).

No entanto, a literatura mostra que restaurações realizadas imediatamente após a conclusão do procedimento clareador podem apresentar resistência adesiva reduzida em decorrência da diminuição do grau de polimerização dos adesivos resinosos pela presença de oxigênio residual no interior da estrutura dentária (PEGORARO *et al.*, 2011; LOPES *et al.*, 2018; SCHIAVO, 2018; HALABI *et al.*, 2020). Então, um período de espera variável de uma a três semanas após o término do clareamento dental é recomendado para a realização de procedimentos restauradores adesivos (CAVALLI *et al.*, 2001; LOPES *et al.*, 2018).

Autores têm sugerido o emprego de substâncias antioxidantes (ATX) para amenizar o efeito negativo do uso de peróxidos na resistência de união dos compósitos resinosos ao substrato dental e diminuir o tempo de espera após o término do clareamento. Os antioxidantes são substâncias também conhecidas como "eliminadores de radicais livres", que inibem a oxidação (NEHA *et al.*, 2019). Presentes em variadas áreas, atualmente há um grande interesse no desenvolvimento de cosméticos com ação

antioxidante (NA *et al.*, 2019). Na indústria de alimentos são utilizados como conservantes alimentares por retardarem o aparecimento de alterações oxidativas, mantendo a qualidade e prolongando a vida útil dos alimentos (CAROCHO; FERREIRA, 2013). Na Odontologia, são sugeridos para reestabelecer a resistência de união de materiais resinosos aos tecidos dentários clareados (LOPES *et al.*, 2018; SCHIAVO, 2018).

Para o uso odontológico, a literatura cita uma variedade de compostos antioxidantes disponíveis em diferentes concentrações, como ascorbato de sódio 10% (solução e gel), proantocianidina 5%, catalase e chá verde 10%, os quais são efetivos quando utilizados no esmalte clareado previamente ao procedimento restaurador, com capacidade de diminuir a concentração do oxigênio residual, neutralizar os radicais livres remanescentes, diminuir os efeitos deletérios do clareamento e aumentar significativamente a resistência de união ao esmalte clareado (BERGER *et al.*, 2013; GOPINATH *et al.*, 2013; MANOHARAN *et al.*, 2016; BROCK *et al.*, 2024).

Bringantini (2018) comprovou o poder antioxidante do resveratrol que resultou em aumento na resistência de união entre o substrato e o compósito restaurador sem modificar a estrutura física e morfológica do esmalte. A casca d'anta (*Drimys brasiliensis* Miers (GURESKI *et al.*, 2016), a erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) (SALDANHA, 2005) e o chá verde (*Camellia Sinensis*) (BERGER

et al., 2013; BANSAL *et al.*, 2019) são substâncias naturais com comprovada atividade antioxidante e com potencial para o aumento da resistência de união entre resina e esmalte clareado (BROCK *et al.*, 2024).

Contudo, estas substâncias possuem uma coloração característica que pode interferir no resultado do clareamento ou pigmentar a estrutura dental, reduzindo a eficácia do protocolo clareador. Até o momento, há poucos relatos sobre a alteração de cor após a aplicação destes agentes antioxidantes no esmalte clareado (BRINGANTINI *et al.* 2018; MENA-SERRANO *et al.* 2023).

2. REVISÃO DE LITERATURA

O clareamento dental é um dos tratamentos mais solicitados por pacientes que buscam a melhora estética, visto que a aparência dental e dentes brancos são considerados os responsáveis pelo conceito de sorriso atraente, além de produzir resultados psicossociais positivos, aumentar a confiança o grau de satisfação em relação à autopercepção e a melhoria na qualidade de vida (NASCIMENTO *et al.*, 2018; ESTAY *et al.*, 2020; ZAUGG *et al.*, 2022). O clareamento de dentes vitais com o peróxido de carbamida (CP) ou peróxido de hidrogênio (HP) é uma alternativa viável, segura e menos invasiva para o tecido dental e usualmente realizado

quando o principal objetivo se baseia num ganho estético (MEIRELES *et al.*, 2010; ALKAHTANI *et al.*, 2020; DA SILVA *et al.*; 2023).

2.1 Etiologia da alteração de cor

Os cromógenos são formados por cadeias carbônicas macromoleculares longas e complexas, compostos de cores ou tons mais escuros que são acumulados como manchas nos dentes, sendo as colorações intrínseca e extrínseca categorizadas como os principais grupos (BERNARDON *et al.*, 2010; CAREY *et al.*, 2014; DOMINGOS *et al.*, 2020). A coloração intrínseca é resultado da mudança molecular natural na estrutura ou espessura na dentina e no esmalte que apresenta, dentre outros fatores: genética, idade (exposição da dentina amarelada devido ao desgaste dental), uso de antibióticos específicos (tetraciclina), ingestão de altos níveis de flúor (fluorose) e a congênita - sua origem pode ser relacionada à fase de formação pré-eruptiva ou pós-eruptiva dos dentes. Essas cadeias longas se alojam no interior da estrutura dental devido à permeabilidade do substrato, fazendo com que a luz seja mais absorvida do que refletida, o que torna a estrutura dental mais escura (TERRY *et al.*, 2014). A coloração extrínseca é causada por fatores ambientais ou dietas cromogênicas, visto que a manifestação destas manchas ocorre pelos pigmentos depositados na superfície do esmalte ou pela absorção dos compostos coloridos

dentro da película adquirida, como: tabagismo, corantes presentes em alimentos e bebidas (pigmentos), metais (ferro e cobre) ou antibióticos (MINOUX; SERFATY, 2008; MEIRELES *et al.*, 2010; ALONSO DE LA PENA; LOPEZ RATON, 2014). O clareamento pode ser alcançado através da remoção mecânica das manchas superficiais ou pela degradação dos cromógenos presentes (CAREY *et al.*, 2014). Assim, a efetividade do clareamento dental irá depender do tempo de ação, do tipo e concentração do peróxido e da intensidade do escurecimento dentário (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

2.2 Agentes clareadores

Agentes clareadores são peróxidos em gel sendo o HP (H_2O_2) principal componente ativo responsável pelo clareamento dental (ALKAHTANI *et al.*, 2020). O clareamento de consultório se destaca pelos benefícios imediatos após o procedimento, quando comparado ao clareamento caseiro, utiliza concentrações elevadas de HP (20% - 40%), administradas por um profissional (MENA-SERRANO *et al.*, 2023).

O efeito clareador ocorre devido à capacidade do HP de se difundir pelo esmalte e dentina, desencadeando processos oxidativos que levam ao clareamento da estrutura dentária (MENA-SERRANO *et al.*, 2023). Assim, as moléculas orgânicas pigmentadas (cromóforos) são fragmentadas pela ação dos radicais

livres em moléculas mais simples, resultando em menor quantidade de anéis aromáticos e maior quantidade de cadeias carbônicas, que se tornam neste momento mais claras (KWON E WARTZ, 2015; MANNA *et al.*, 2021).

O clareamento acontece até o ponto de saturação, onde o elemento não clareia mais, sendo este o momento de parar o tratamento, já que o agente passa a degradar a matriz orgânica do esmalte (GORACCI *et al.*, 2004; TORRES *et al.*, 2015).

Entretanto, os radicais livres veiculados pelo agente clareador (peridroxil, hidroxila e oxigênio) agem negativamente na adesividade entre sistemas adesivos e tecidos dentais (DIDIER *et al.*, 2013). Isso pode ser justificado pela presença do oxigênio residual na superfície do dente, que pode inibir a polimerização completa dos monômeros resinosos e, conseqüentemente, comprometer o processo de união efetiva estabelecido pela camada híbrida (YU *et al.*, 2015).

2.3 Características do esmalte clareado

Embora o procedimento clareador seja considerado um método não invasivo e os agentes sejam altamente eficazes no clareamento, a liberação das moléculas de oxigênio durante o procedimento pode ocasionar alterações morfológicas superficiais, diminuição da resistência e dureza superficial do esmalte, além de

modificação na adesividade do substrato (PEGORARO *et al.*, 2011; FERNANDES *et al.*, 2020).

Pinto *et al.* (2004) avaliaram os efeitos dos agentes clareadores de alta concentração de peróxido e concluíram que estes podem alterar a microdureza, rugosidade e morfologia superficial do esmalte dental. De tal modo, Pinheiro *et al.* (2011) avaliaram no microscópio eletrônico de varredura a morfologia do esmalte clareado empregando HP e CP. Os autores concluíram que os agentes clareadores de baixa e alta concentração foram capazes de provocar alterações morfológicas na superfície do esmalte dental.

Um efeito adverso da técnica de clareamento em consultório é a redução da resistência de união após os procedimentos clareadores, devido à presença de radicais livres remanescentes no substrato dental (MENA-SERRANO *et al.*, 2023). Baseado nisso, estudos apontam a necessidade do período de espera variável de 7 a 21 dias para a troca ou novas restaurações (CAVALLI *et al.*, 2001; ZANOLLA *et al.*, 2017; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2019; MENA-SERRANO *et al.*, 2023).

Cavalli *et al.* (2001) avaliaram os efeitos do clareamento e tempos de pós-tratamento na resistência de união do compósito ao esmalte. Como resultado, nas primeiras duas semanas após o clareamento a resistência de união da resina ao esmalte foi baixa e após o período de três semanas, a resistência da união retornou.

Também com o objetivo de investigar o efeito do tempo de pós-clareamento, Unlu *et al.* (2008) concluíram que a adesão imediata do compósito ao esmalte clareado com géis CP 10% e 35% HP diminui significativamente a resistência ao cisalhamento. Assim, a aplicação de resina composta na superfície clareada seja adiada pelo menos 1 semana para HP 35%.

Da mesma forma, o tempo de espera foi pesquisado por Lago e Garone-Netto (2013) onde achados sugerem que a resistência de união da resina composta ao esmalte clareado com HP 35% no período de 7 dias após o término do clareamento foi suficiente para atingir os valores adequados de resistência de união. Bem como o estudo de Topcu *et al.* (2017), que avaliou os efeitos do clareamento na resistência de união à resina composta em três intervalos de tempo (imediatamente e em 1 e 2 semanas) desde o tratamento restaurador. Concluíram que os procedimentos restauradores adesivos não puderam ser realizados imediatamente ou após 1 semana, mas sim posteriormente ao intervalo de pelo menos 2 semanas.

Ao analisar a adesão do esmalte logo após a aplicação de agentes clareadores, Halabi *et al.* (2020) obtiveram como resultado que adesão foi comprometida negativamente imediatamente após a aplicação do gel e após 1 hora da sua aplicação, entretanto, valores satisfatórios na resistência de união ao microcisalhamento foram constatados após uma semana de aplicação. Logo, a diminuição da

capacidade de adesão e as infiltrações marginais decorrentes da polimerização deficiente podem ocorrer quando restaurações de resina composta são substituídas logo após a finalização do tratamento clareador (LOPES *et al.*, 2018).

Com o propósito de possibilitar a troca imediata de restaurações e diminuir o período de espera, a utilização de substâncias antioxidantes vem sendo estudada, visto que aceleram a liberação do oxigênio remanescente e neutralizar os efeitos deletérios causados pelos radicais livres residuais (BRAZ *et al.*, 2011), permitindo a adesão do compósito ao dente semelhante ao que ocorre no esmalte não clareado (LOPES *et al.*, 2018).

2.4 Substâncias antioxidantes

Uma substância antioxidante (ATX) pode ser definida como substância capaz de inibir significativamente o processo de oxidação do substrato. No corpo humano, os antioxidantes agem para neutralizar o estresse oxidativo, removendo as ROS e radicais livres que ocorrem durante o processo de clareamento dental. Podem ser classificados como enzimáticos ou não-enzimáticos (estrutura molecular) e naturais ou sintéticos (origem). Ainda, como nem todo o peróxido e seus radicais livres reagem para promover a alteração de cor, as moléculas que resultam no peróxido residual são as responsáveis pelos efeitos deletérios. Baseado nisso, os benefícios da utilização de ATX naturais têm sido investigados *in vitro*, como um tratamento viável após clareamento e reverter

tais efeitos, como o alfa-tocoferol (Vitamina E), o extrato de semente de uva, o extrato de chá verde, o resveratrol, entre outros (CAVALLI *et al.*, 2001; CHNG *et al.*, 2005; MINOUX; SERFATY, 2008; REZENDE *et al.*, 2016; RODRÍGUEZ-BARRAGUÉ *et al.*, 2021).

Como a diminuição da adesividade da resina ao esmalte está relacionada com a presença de oxigênio residual, o uso de ATX imediatamente após o tratamento clareador e anteriormente ao procedimento restaurador pode auxiliar na melhora da resistência adesiva. Lai *et al.* (2002) realizaram o primeiro estudo utilizando um agente antioxidante para melhorar a união de um substrato dentário alterado. O ácido ascórbico a 10% foi a solução escolhida e apresentou resultados promissores, comprovando sua eficácia em aumentar a força de adesão (CAVALLI *et al.*, 2001; LAI *et al.*, 2001; LAI *et al.*, 2002). Quanto ao tempo de aplicação, alguns autores propõem o uso durante 10 min, relatando êxito na reversão dos efeitos adversos do agente clareador, ou ainda, preconizando o uso de ATX em até 1/3 do tempo de aplicação do gel de clareamento, com resultados satisfatórios (LAI *et al.*, 2002; TURKUN *et al.*, 2004).

O chá verde, que tem origem da planta *Camellia Sinensis*, é obtido a partir das folhas mais maduras, apresenta coloração caracteristicamente verde devido à inativação da polifenol oxidase através do tratamento das folhas frescas por calor (Koo e Noh,

2007). As catequinas (flavanóides) agem como antioxidantes eliminando as ROS que causam danos ao DNA, proteína e lipídeos do organismo. Estudos relatam que as catequinas do chá verde possuem propriedades antimutagênicas e anticancerígenas, podem reduzir a erosão da dentina, a inflamação periodontal, e ainda, obtiveram resultados promissores quando utilizadas como agentes antimicrobianos (MAGALHÃES *et al.*, 2009; CHAN *et al.*, 2011; MARUYAMA *et al.*, 2011).

As catequinas são componentes que originam as alterações de cor nas infusões de chá verde, que podem alterar a cor de infusões em tonalidades que migram de um verde claro para um amarelo amarronzado sob influência de fatores como luz, temperatura e pH. Dentre elas, a epigalocatequina-galato, que é incolor, mas facilmente pode sofrer oxidação levando a alterações de cor no chá verde (DAI *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2004).

Cavalli *et al.* (2005) comprovaram que o chá verde na forma de gel foi capaz de remover peróxido residual oriundo de procedimentos clareadores, permitindo que procedimentos adesivos sejam realizados imediatamente após o clareamento (CAVALLI; DE CARVALHO; GIANNINI, 2005).

Do mesmo modo, Berger *et al.* (2013) avaliaram o chá verde a 10% como antioxidante alternativo para neutralizar os efeitos deletérios do clareamento na resistência de união. Neste estudo, os autores verificaram que sua aplicação por 60 min foi capaz de

reverter os valores de resistência de união sem causar alterações adversas a estrutura dentária. Os valores de força de união no grupo tratado com chá verde foram estatisticamente semelhantes aos do grupo controle tratados com ascorbato de sódio e significativamente maiores do que os do grupo branqueado e concluíram que o tratamento com o chá verde apresentou resultados satisfatórios na manutenção da resistência de união do esmalte, podendo ser uma alternativa para uso imediatamente após o clareamento.

O efeito da aplicação do chá verde foi estudado por Ozelin *et al.* (2014) quando aplicado em tempos de 15, 30 ou 60 min após o clareamento com 10% CP. De acordo com a metodologia utilizada e os resultados obtidos, o gel de chá verde a 10% aplicado por 60 min foi capaz de reverter o efeito adverso do clareamento caseiro na resistência de união ao esmalte.

Bansal *et al.* (2019) testaram os antioxidantes proantocianidina a 5%, ascorbato de sódio a 10%, alfa tocoferol a 10% e chá verde a 10% na força de união de compósitos à base de resina ao esmalte clareado. Concluíram que o clareamento do esmalte reduziu a resistência de união ao cisalhamento, porém a aplicação de antioxidantes logo após o clareamento aumentou a resistência de união significativamente. Dentre eles, o chá verde a 10% foi o mais eficaz na reversão da força de união, sendo

apontado como uma opção para tratamento estético em dentes após clareamento.

Com objetivo de avaliar os efeitos de antioxidantes na estabilidade da cor após procedimento clareador com HP a 35%, os autores Degirmenci *et al.* (2020), utilizaram seis antioxidantes diferentes em forma de pó (proantocianidina a 5%, ascorbato de sódio a 5%, licopeno a 5%, chá verde a 5%, chá branco a 5% e α -tocoferol a 5%), dissolvidos em 100 ml de água destilada. Cada solução foi aplicada por 10 min. Os valores CIEL*a*b* dos dentes foram medidos por um espectrofotômetro e os resultados indicaram que proantocianidina, ascorbato de sódio, chá verde e chá branco são antioxidantes seguros para manter a estabilidade da cor pós clareamento.

Um estudo realizado por Rahman *et al.* (2021) avaliou a atividade antioxidante dos extratos fitoterápicos: cranberry a 6%, chá verde a 10%, aloe vera a 50% e ascorbato de sódio a 10%. Os quatro antioxidantes foram capazes de reverter a resistência de união comprometida após o clareamento, sendo o mais significativo o chá verde seguido de aloe vera, ascorbato de sódio e o cranberry.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma árvore nativa da América do Sul, com ocorrência natural no Paraguai e nos estados do sul do Brasil. A infusão de erva-mate é amplamente consumida na forma de chimarrão e tereré, como chá, obtida pela escaldada das folhas secas. É uma bebida que estimula a atividade física e mental,

possui vitaminas do complexo B, que atuam em músculos, nervos e atividade cerebral, e vitaminas C e E, que atuam como defesa antioxidante. Pode ser utilizada em forma de corante natural, proporcionando uma cor marrom-amarelada (CROGE *et.al.*, 2020). A literatura descreve que o potencial da sua atividade antioxidante se deve aos compostos fenólicos, produto do metabolismo secundário das plantas e presentes naturalmente na maioria destas. A eles são atribuídas diversas propriedades biológicas tais como anti-inflamatórias, antibióticas, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorais, antiasmáticas e antioxidantes (HECK; SCHMALCO; GONZALEZ DE MEJIA, 2008).

Saldanha (2005) avaliou a atividade antioxidante *in vitro* de extratos de erva-mate verde e tostada e do chá verde por meio de extratos (aquosos, etanólicos e etéreos) e evidenciou a existência de elevada atividade antioxidante dos extratos de erva-mate e de chá verde, indicando o potencial uso dessas ervas como alternativas antioxidantes. Isso vai ao encontro de outro estudo, no qual foram identificados altos níveis de polifenóis presente no pó de mate. Sendo assim, a erva-mate também é uma substância de interesse devido à presença desses compostos com poder antioxidante (VIEIRA *et al.*, 2008).

Nos extratos aquosos de *Ilex paraguariensis*, são encontrados níveis de polifenóis superiores aos do chá verde, comparando-se aos encontrados no vinho tinto (BERTÉ, 2011). Ao

analisar o efeito do extrato aquoso da erva-mate, Berté (2011) encontrou uma potente atividade antioxidante na bebida de *Ilex* no organismo, níveis maiores do que encontrados no ácido ascórbico (vitamina C).

Outro antioxidante de interesse na odontologia é o resveratrol, apresentado como um composto fenólico, fitoalexina, produzido naturalmente em muitas famílias de plantas como amendoim, uva e em maior teor no extrato seco das raízes de *Polygonum cuspidatum*, apresentando excelentes benefícios para a saúde e oferecendo importante ação antioxidante natural e anti-inflamatória (WANG; XU; LIU, 2008). Sua produção ocorre sob o ataque de patógenos como bactérias ou fungos, dano mecânico ou irradiação de luz ultravioleta (IGNATOWICZ; BAER-DUBOWSKA, 2001). Esse bioativo é sintetizado por plantas em duas formas isômeras: trans-resveratrol e cis-resveratrol; para fins terapêuticos é obtido de extratos de uvas francesas *Vitis vinifera* pois estas apresentam altas concentrações de compostos antioxidantes. A atividade antioxidante de compostos fenólicos, como o resveratrol, tem como mecanismo de ação o sequestro de ROS modulando enzimas envolvidas em estresse oxidativo, conseguindo absorver e neutralizar radicais livres, quelando o oxigênio e decompondo peróxidos (WANG; XU; LIU, 2008; VENTURINI *et al.*, 2010).

Na área odontológica, Atalayin *et al.* (2015) avaliaram a utilização do resveratrol associada à citotoxicidade de sistemas adesivos. Concluíram que a adição do resveratrol reduziu o estresse oxidativo, teve efeitos positivos nas células de viabilidade, na produção de ROS e nos danos ao DNA, contribuindo para a biocompatibilidade da ligação dentinária dos sistemas adesivos devido ao seu poder antioxidante.

Bringantini *et al.* (2018) avaliaram a influência do resveratrol nas propriedades físicas e mecânicas do esmalte clareado. De acordo com os resultados obtidos, o resveratrol não interferiu na microdureza, rugosidade superficial e variação de cor do esmalte; no teste de microcisalhamento comprovam o poder antioxidante do resveratrol após o clareamento dental, visto que o valor de resistência de união aumentou no grupo 24 horas, ou seja, viabiliza a segura diminuição do tempo de espera do procedimento restaurador devido à sua aplicação por 1 min imediatamente após o protocolo clareador, por cumprir seu poder antioxidante, aumentando a resistência de união entre o substrato dental e o compósito restaurador sem modificar a estrutura física e morfológica do esmalte.

A *Drimys brasiliensis* Miers (*Winteraceae*), conhecida como casca d'anta ou cataia, é uma espécie de planta nativa da floresta ombrófila mista da Mata Atlântica podendo ser encontrada no Brasil desde a Bahia até o Rio Grande do Sul. Suas sementes

apresentam coloração preta, já seus frutos apresentam coloração vermelho-escura passando para preto quando maduros (ABREU, *et al.*, 2005). Conhecida pela medicina popular por suas propriedades anti-inflamatórias no tratamento de úlceras gástricas, doenças alérgicas e do sistema respiratório, bronquite, além de apresentar propriedades inseticidas e alimentícias, sua casca é utilizada como condimento na culinária por possuir sabor apimentado (FERREIRA *et al.*, 2020). Sua atividade antioxidante pode estar relacionada à presença de compostos fenólicos como taninos e antocianidinas, presentes nos extratos de folhas, cascas e galhos (ABREU *et al.*, 2005; GURESKI, 2016).

O extrato etanólico da espécie *Drimys brasiliensis* Miers foi avaliado por Azevedo (2015) por se tratar de uma possível fonte natural de compostos bioativos com poder antioxidante. Do mesmo modo, Gureski (2016) pesquisou a atividade antioxidante de diferentes partes da *Drimys brasiliensis* Miers, onde o extrato bruto dos caules apresentou atividade antioxidante de 44,4% quando comparado ao ácido ascórbico (vitamina C). Dessa forma, autores sugerem que a casca d'anta possa ser uma possível substituição natural aos antioxidantes sintéticos utilizados nas indústrias, não somente pelo elevado índice de potencial terapêutico, mas também por ser fonte natural de compostos bioativos com poder antioxidante, visto que os antioxidantes sintéticos podem

apresentar maior toxicidade e potencial carcinogênico (GURESKI, 2016; FERREIRA *et al.*, 2020).

Recentemente, Brock *et al.* (2024) avaliaram influência de ATX resveratrol, casca d'anta, chá verde e erva-mate a 10% na resistência de união entre o esmalte recentemente clareado com peróxido de hidrogênio a 35% e a resina composta ao esmalte clareado. Os autores concluíram que ATX aplicados em esmalte clareado podem aumentar a resistência de união imediata de restaurações realizadas diretamente após o clareamento, com valores semelhantes aos observados em esmalte não clareado.

2.5 Estudo da cor na odontologia

A seleção visual de cor na odontologia através de escalas de cores é o método mais utilizado na busca da reprodução da cor de dentes naturais, sendo considerada um processo subjetivo e complexo (DELLA BONA *et al.*, 2015). Para melhorar a seleção de cor em odontologia, instrumentos foram desenvolvidos visando minimizar as variantes, diminuir inconsistências e imperfeições da avaliação visual (DELLA BONA *et al.*, 2009). Em pesquisas de cor, a utilização de instrumentos como espectrorradiômetros, espectrofotômetros e colorímetros são fundamentais nas avaliações objetivas (DELLA BONA *et al.*, 2019; MEIRELES *et al.*, 2010; DELLA BONA *et al.*, 2019). Acerca da colorimetria dos materiais odontológicos, a Comissão Internacional de Iluminação (CIE-

Comission Internationale de l'Eclairage introduziu o espaço de cor CIELAB, diferença de cor (ΔE) e padrões de iluminação utilizados na ciência da cor, assim, as cores podem ser quantificadas a partir das coordenadas de cor CIE $L^*a^*b^*$ (L^* : eixo da luminosidade; a^* : eixo vermelho-verde; b^* : eixo amarelo-azul) e as diferenças de cor (ΔE) calculadas com base nas equações preconizadas pela CIE (CIELAB e CIEDE2000). Dessa forma, quanto maior for o valor de ΔE obtido por essas métricas, maior será a percepção da diferença de cor pelo observador (CIE, 2004).

Pesquisas comparando avaliações visual e instrumental de cor, demonstram melhor correspondência para a métrica CIEDE2000 (ΔE_{00}) (PARAVINA *et al.*, 2015; PECHO *et al.*, 2016; PECHO *et al.*, 2017), por diminuir diferenças em luminosidade, saturação e matiz (L' , C' e H' , respectivamente) e correções para fatores não uniformes (SL, SC e SH), conhecidos como fatores de correção, e fatores paramétricos (KL, KC e KH) que consideram a influência da iluminação e as condições de visualização para a avaliação de um objeto. Ainda, a função de rotação (RT) para a interação entre as diferenças de saturação e matiz na região azul (LUO *et al.*, 2001; CIE, 2004). Pecho *et al.*, (2016) sugeriu em um estudo, modificar um fator paramétrico na equação padrão CIEDE2000 (1:1:1), onde $KL=1$, $KC=1$ e $KH=1$, para CIEDE2000 (2:1:1), com valor de $KL=2$, o que aproximou ainda mais os resultados instrumentais da percepção visual. Os

limiares de perceptibilidade (PT- *perceptibility threshold*) e de aceitabilidade (AT- *acceptability threshold*) foram inseridos na colorimetria para que essas quantificações possam ser comparadas a limiares pré-definidos e, conseqüentemente, relacionar-se com a avaliação visual (GHINEA *et al.*, 2010).

2.6 Avaliação da eficácia do tratamento clareador

Para verificar a eficácia clínica do tratamento clareador podem ser realizados dois tipos de análise de cor: análise subjetiva e análise objetiva. A análise subjetiva compara a cor do terço médio da face vestibular dos dentes com escalas de cor ordenadas e numeradas sequencialmente da cor mais clara para a cor mais escura (GEUS *et al.*, 2015). Dessa forma, o avaliador registra a unidade da escala de cor antes e subtrai da medida de cor após o tratamento para determinar o grau de branqueamento em Δ SGU (*Shade guide units*) (MEIRELES *et al.*, 2010; GEUS *et al.*, 2015; BERNARDON *et al.*, 2016). Na análise subjetiva, há grande influência da luminosidade do ambiente e do olho e calibração do observador, assim, é recomendado a análise da cor dos dentes com luz natural, preferencialmente à tarde, no mesmo horário ou sob condições padronizadas de luminosidade controlada, além de ser importante que a calibração e a análise sejam realizadas por mais de um avaliador, visto que a diferença de cor detectada pelo

avaliador pode ser melhor comparada com a percepção de alteração de cor do próprio paciente (BERNARDON *et al.*, 2010).

A análise objetiva da diferença de cor é realizada por meio de espectrofotômetros digitais, colorímetros e espectroradiômetros (MEIRELES *et al.*, 2010) onde os feixes de luz são incididos na superfície dentária, a sua reflexão é captada pelo equipamento que converte a informação em coordenadas de cor, permitindo o cálculo da diferença de brancura ΔWID - *Whiteness Index for Dentistry*) e de alteração de cor (ΔE^*ab - CIELAB e $\Delta E00$ - CIEDE 2000) (PECHO *et al.*, 2016; PEREZ *et al.*, 2019a). A diferença de cor CIEDE2000 está sendo utilizada em estudos recentes de comparação da diferença de cor em odontologia, sendo baseada nos conceitos de croma e matiz (PECHO *et al.*, 2016; LAGO *et al.*, 2017; DELLA BONA *et al.*, 2019) por representar melhor concordância com a avaliação subjetiva quando comparada ao ΔE^*ab (PARAVINA *et al.*, 2015; PECHO *et al.*, 2016; PEREZ *et al.*, 2019a).

Recentemente, estudos laboratoriais têm utilizado a fórmula para verificar a alteração de cor de resinas compostas quando submetidas ao tratamento clareador (LAGO *et al.*, 2017; DELLA BONA *et al.*, 2019), estabilidade de cor dos materiais resinosos após a fotoativação e imersão em bebidas corantes (DA SILVA *et al.*, 2018).

3. PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivos gerais

Avaliar o efeito da aplicação de diferentes soluções aquosas de antioxidantes na alteração de cor do esmalte após clareamento de consultório com peróxido de hidrogênio a 35%.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar as diferenças de cor (ΔE_{00}) antes e após a aplicação ATX (soluções aquosas de EM, RES, CV e CA) utilizando a métrica CIEDE2000;

Analisar o índice de brancura (WID) após o tratamento clareador e aplicação de ATX.

A hipótese nula testada é de que o uso de ATX não influencia a alteração de cor e o índice de brancura após o clareamento dental.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de realização da pesquisa

O preparo das amostras, armazenamento e aferição das coordenadas de cor foram realizados no laboratório de pesquisa do Programa de Pós-Graduação no âmbito do Curso de Odontologia da Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS. As substâncias antioxidantes foram obtidas em farmácia de manipulação (Cervi Farmácia de Manipulação, Marau, Rio Grande do Sul, Brasil).

4.2 Delineamento

Trata-se de um estudo experimental laboratorial *in vitro* que utilizou coroas de incisivos bovinos extraídos, inserindo-se na linha de pesquisa de Biomateriais e Odontologia Reabilitadora. As coordenadas de cor do esmalte vestibular da coroa dos incisivos bovinos foram obtidas após o protocolo de escurecimento (T0), após clareamento (T1) e após a aplicação das soluções antioxidantes propostas (T2).

4.3 Obtenção e padronização do esmalte bovino

Foram obtidos 120 incisivos inferiores bovinos (n= 120) de procedência de abatedouro licenciado. Os dentes foram higienizados com o auxílio de curetas periodontais, submetidos à

profilaxia com pasta de pedra-pomes e água, escova de Robinson montada em baixa rotação, lavados em água destilada e secos com gaze. Todos os dentes tiveram a abertura apical selada, com incremento de aproximadamente 2mm de resina composta (Filtek™ Z250 XT - 3M, Sumaré, São Paulo, Brasil). Para o selamento, foi realizado com condicionamento com ácido fosfórico a 37% (Condac 37% - FGM, Joinville, Santa Catarina, Brasil) por 15 s nas bordas do orifício apical, seguido de lavagem com jatos ar-água por 1 min, aplicação do sistema adesivo (Adper Single Bond-3M, Sumaré, São Paulo, Brasil) com auxílio de *microbrush* e a polimerização com fotopolimerizador LED (Radii-Cal CX- SDI, Victoria, Austrália) por 40s.

4.4 Protocolo de escurecimento dos corpos de prova

Os incisivos bovinos foram submetidos a um protocolo de escurecimento, por submersão em solução de chá preto (Leão Junior S.A.; Fazenda Rio Grande, Paraná, Brasil) produzida pela filtração de 1,5 g de chá (sachê) em 100 mL de água destilada fervente durante 5 min (Figura 1). Os corpos de prova foram armazenados nesta solução a 37°C por seis dias consecutivos, sendo a solução trocada a cada 48 horas no intuito de evitar precipitações (MOREIRA *et al.*, 2016). Os corpos de prova não foram lavados durante cada troca. Após o período de armazenamento na solução de chá preto, foi realizada a profilaxia na superfície do esmalte com escovas Robinson e solução de pedra-pomes e água para remoção

dos pigmentos superficiais. Os corpos de prova foram mantidos em água destilada à 37°C pelo período de 24 horas para eliminação dos pigmentos que não foram completamente absorvidos pela dentina.



Figura 1 . Protocolo de escurecimento dos corpos de prova: A- preparo da solução de chá preto; B- imersão dos corpos de prova na solução; C- armazenamento dos corpos de prova.

4.5 Protocolo de clareamento dos espécimes

As coroas foram divididas aleatoriamente em 6 grupos (n=20) para aplicação de clareador e antioxidante (Figura 2):

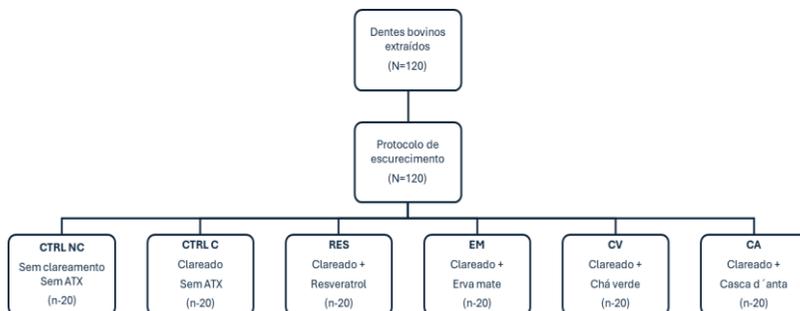


Figura 2 . Descrição dos grupos experimentais.

Para o procedimento clareador, o gel comercial contendo 35% de peróxido de hidrogênio (*Whiteness HP 35%*, FGM, Joinvile, SC, Brasil) foi aplicado sobre o esmalte em 3 vezes subsequentes de 15 min cada, conforme recomendado pelo fabricante (Figura 3). O gel clareador foi preparado por adição de 3 gotas da fase líquida contendo 35% de peróxido a 1 gota de espessante (proporção 3:1). Após cada aplicação, o agente clareador foi removido com spray de ar-água e secos com jato de ar.



Figura 3 . Protocolo clareador utilizado no estudo: A- manipulação e aspecto do agente clareador; B- aplicação do agente clareador na superfície do esmalte previamente escurecido.

4.6 Aplicação das substâncias antioxidantes

Soluções aquosas a 10% dos extratos naturais experimentais foram obtidas (Cervi Farmácia de Manipulação, Marau, Rio Grande do Sul, Brasil) e a substância designada para cada grupo experimental foi aplicada sob fricção sobre a superfície do esmalte imediatamente após o término do procedimento clareador (Figuras 4 e 5). Com auxílio de pinça e bolinha de algodão embebida na substância, foram realizadas 10 aplicações de 1 min cada, totalizando 10 min (BROCK *et al.*, 2024). Em seguida, as substâncias foram removidas da superfície do esmalte com jatos de ar-água por 30 s. As amostras dos grupos Ctrl C e Ctrl NC foram mantidas sem aplicação de ATX.



Figura 4 . Aplicação da substância antioxidante (ATX) sob fricção na superfície do esmalte clareado.

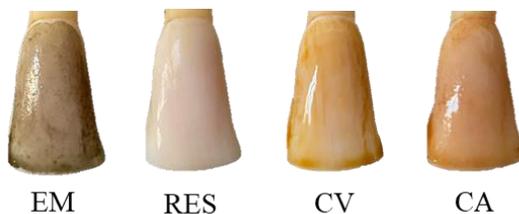


Figura 5 . Superfície do esmalte durante a aplicação de cada uma das soluções aquosas.

4.7 Análise de cor

As coordenadas de cor foram avaliadas por espectrofotômetro digital *Vita Easy Shade*TM (Vita Zahnfabrik, Bad Säckinggen, Alemanha) (Figura 6) nos diferentes tempos de avaliação: após o protocolo de escurecimento (T0), após clareamento dental (T1) e após aplicação do agente antioxidante (T2). A calibração do aparelho foi realizada previamente às avaliações conforme as orientações do fabricante.

Previamente à análise de cor, guias de silicone de adição denso (Scan Putty, Yllor Biomateriais, Pelotas, Brasil) foram confeccionadas individualmente para cada corpo de prova, com abertura circular de aproximadamente 6 mm (compatível com o diâmetro da ponta ativa do espectrofotômetro), na região do terço médio da superfície vestibular, expondo uma área padronizada de esmalte. Os corpos de prova foram secos e a ponta ativa do equipamento foi posicionada sobre a superfície vestibular através da perfuração da guia de silicone. As coordenadas de cor e a cor

conforme a escala *Vita 3D Master* foram registradas em uma tabela do Microsoft Excel. As coordenadas de cor foram utilizadas para os cálculos ΔWID e ΔE_{00} . As análises foram realizadas por um único operador treinado.



Figura 6. Avaliação da cor: A- espectrofotômetro Vita EasyShade e B – aferição das coordenadas de cor do esmalte dental através da guia de silicone individualizada.

4.8 Avaliação das diferenças de cor

As coordenadas CIELAB foram registradas em cada avaliação e as diferenças de cor para os diferentes tempos foram calculadas com a equação de diferença de cor para ΔE_{00} (CIEDE 2000) (Equação 1) (LUO *et al.*, 2001; CIE, 2004):

$$\Delta E_{00} = \left[\left(\frac{\Delta L'}{K_L S_L} \right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C} \right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H} \right)^2 + R_T \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C} \right) \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H} \right) \right]^{1/2} \quad [1]$$

Onde $\Delta L'$, $\Delta C'$ e $\Delta H'$ são as diferenças de luminosidade, saturação (*chroma*) e matiz (*hue*) em um par de amostras, e R_T é uma função de rotação que representa a interação entre as diferenças de saturação e matiz na região azul. Funções de ponderação (*weighting functions*), S_L , S_C , S_H , ajustam a diferença de cor total para variação da localização do par de diferente cor nas coordenadas L' , a' , b' e os fatores paramétricos K_L , K_C , K_H , são termos de correção para condições experimentais. Para calcular a diferença de cor CIEDE2000, serão levados em conta descontinuidades à computação média do matiz e computação da diferença do matiz (SHARMA *et al.*, 2005). No presente estudo, os fatores paramétricos $K_L=1$, $K_C=1$, e $K_H=1$ (luminosidade, croma e matiz, respectivamente) foram considerados.

Para ΔE_{00} foram considerados os limiares de perceptibilidade 50:50% (PT = 0,8 unidades) e aceitabilidade 50:50% (AT = 1,8 unidades). Os valores dos limiares de aceitabilidade (AT) para ΔE_{00} foram embasados seguindo ISO/ TR 28642:2016 (PARAVINA *et al.*, 2015). Valores de ΔE_{00} abaixo de 0,8 unidades foram considerados imperceptíveis ao olho humano. Valores entre 0,8 e 1,8 unidades foram considerados perceptíveis, porém aceitáveis clinicamente. Valores acima de 1,8 unidades foram considerados inaceitáveis clinicamente.

O ΔE pode ser utilizado para descrever qualquer diferença de cor, contudo, não indica a diferença de luminosidade, croma e

matiz, que só podem ser obtidos quando cada componente é analisado individualmente.

4.9 Índice de brancura (WID- *whiteness index for dentistry*)

Para a avaliação do WID baseado no índice de CIELAB, os valores foram obtidos após o tratamento clareador seguindo a Equação 2 (PEREZ *et al.*, 2016):

$$\text{WID} = 0,511 L^* - 2,324 a^* - 1,100 b^* \quad [2]$$

Onde os valores mais baixos de WID (incluindo valores negativos) significaram amostras mais escuras, enquanto valores de WID mais altos, indicaram amostras mais claras. A variação de WID foi calculada subtraindo os valores de WID final com os valores de WID inicial de cada grupo. Os valores do ΔWID foram analisados utilizando o limiar de aceitabilidade ($\text{WAT} = 2,60$ unidades) obtidos de um estudo preliminar (PEREZ *et al.*, 2019).

4.10 Diferenças entre tempos de avaliação

Foram considerados diferentes períodos de avaliação para comparar a diferença de cor (ΔE_{00}) e de índice de brancura (ΔWID) entre os grupos. O armazenamento das amostras foi realizado em imersão em água destilada a 37°C pelo tempo designado para avaliação.

4.11 Análise estatística dos dados

Os dados das diferenças de alteração de cor e de clareamento nos diferentes tempos de avaliação das amostras não passaram no teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e foram comparados por Kruskal-Wallis e Tukey com nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$). As análises foram realizadas no software SigmaPlot.

5. RESULTADOS

5.1 Índice de brancura (Δ WID)

A Tabela 1 mostra que não houve diferença no Índice de Brancura (WID) entre os grupos dentro de um mesmo período de avaliação, mostrando homogeneidade de brancura entre os grupos após o tratamento clareador e aplicação de antioxidante.

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão do Índice de Brancura (WID) entre diferentes grupos experimentais nos respectivos tempos de avaliação.

Tempo	Ctrl SATX	EM	RES	CV	CA
T0	1,9(11,5)A	-1,8(11,1)A	4,5(9,6)A	1,5(13,0)A	7,8(6,6)A
T1	11,8(9,7)AB	14,5(6,0)AB	14,0(8,7)AB	10,0(10,0)B	18,2(5,2)A
T2	-	12,9(6,8)AB	14,7(8,9)AB	11,4(9,1)B	19,1(5,4)A

*Letras diferentes na mesma linha correspondem às diferenças estatisticamente significantes entre os grupos experimentais em um mesmo período de avaliação.

Os principais resultados para as diferenças de índice de brancura (Δ WID) apresentadas pelos grupos experimentais nos intervalos de tempo de avaliação estão apresentadas na Figura 7.

Δ WID (T1-T0) mostrou diferença de eficácia do tratamento clareador entre os grupos CV e CA, significando que o CV clareou menos que CA e a diferença se manteve após aplicação de ATX, e homogeneidade de cor dos corpos de prova antes da aplicação dos ATX nos grupos restantes no mesmo período. Δ WID (T2-T0) mostrou que os espécimes permaneceram clareados após a aplicação dos ATX. Δ WID (T2-T1) foi estatisticamente semelhante entre os grupos, contudo, a aplicação de EM e CA resultou em valores medianos negativos, o que mostra um escurecimento das amostras. O escurecimento observado para os grupos EM e CA permaneceu dentro do limiar de aceitabilidade.

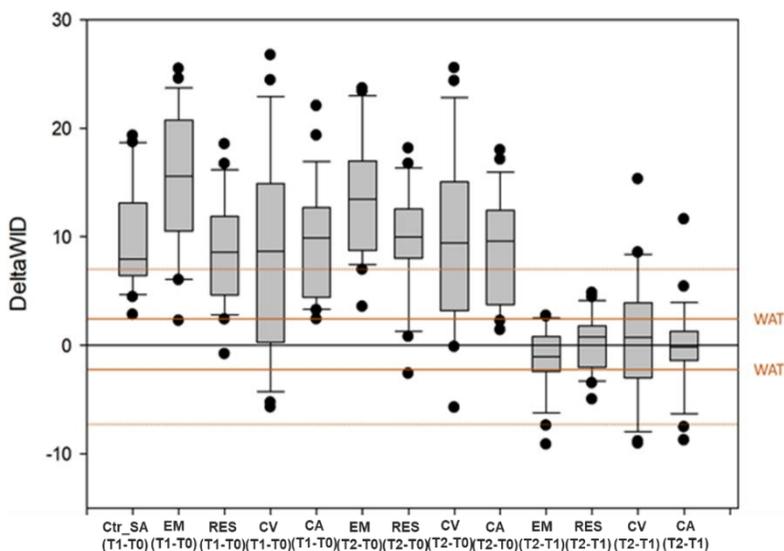


Figura 7. Diferenças do índice de brancura (Δ WID) dos grupos experimentais nos intervalos de avaliação (T1-T0; T2-T0 e T2-T1).

Barras representam valores de mediana e intervalo interquartis. As linhas vermelhas contínuas representam o limiar de aceitabilidade (WAT) superior e inferior e as linhas pontilhadas são os seus intervalos de confiança, 95%.

5.2 Alteração de cor por CIEDE 2000 (ΔE_{00})

A comparação das medianas de ΔE_{00} entre os grupos experimentais pode ser observada na Figura 8. Os grupos experimentais mostraram alteração de cor (ΔE_{00}) semelhante nos tempos T1-T0 e T2-T0, mostrando homogeneidade de cor dos corpos de prova antes da aplicação dos agentes antioxidantes e que grupos apresentaram alteração de cor semelhante após a aplicação dos ATX. Em T2-T1, o CV mostrou alteração de cor maior do que os demais grupos experimentais e acima do limiar de aceitabilidade, mostrando que a aplicação desta substância altera a cor do esmalte dental após o clareamento.

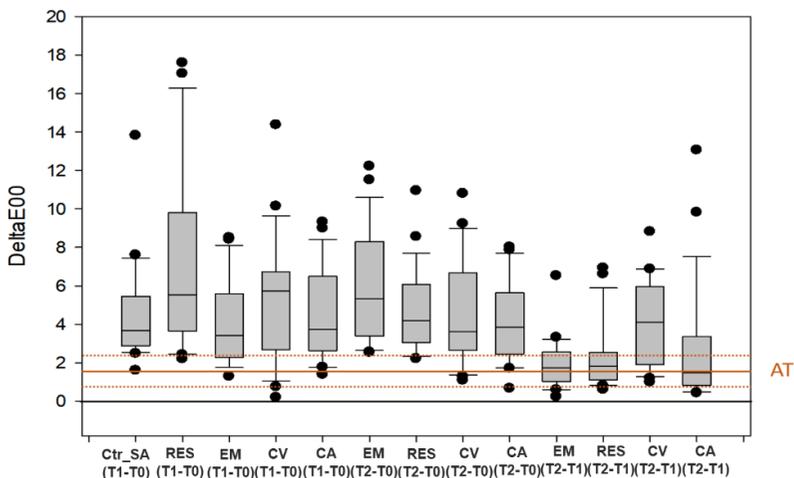


Figura 8. Diferenças de cor ($\Delta E00$) dos grupos experimentais nos intervalos de avaliação. Barras representam valores de mediana e intervalo interquartis. A linha vermelha contínua representa o limiar de aceitabilidade (AT) e as linhas pontilhadas são os intervalos de confiança 95%.

6. DISCUSSÃO

A estética do sorriso tem grande importância para os pacientes e o clareamento de dentes vitais, muitas vezes, é o tratamento de primeira escolha na prática odontológica (ALKAHTANI *et al.*, 2020) que pode preceder etapas restauradoras que demandam eficiente união adesiva (LOPES *et al.*, 2018). Autores sugerem um período variável de 7 a 21 dias entre a conclusão do clareamento e o procedimento restaurador subsequente para que a resistência adesiva seja reestabelecida

(CAVALLI *et al.*, 2001; ZANOLLA *et al.*, 2017; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2019), tempo necessário para que o oxigênio aprisionado nos tecidos dentais seja efetivamente liberado, contudo, este período pode ser clinicamente inviável (PEGORARO *et al.*, 2011).

Estudos anteriores sugerem que o uso de substâncias antioxidantes sobre o esmalte clareado pode diminuir o intervalo de tempo para restaurações adesivas (ATALAYIN *et al.*, 2015; BRINGANTINI *et al.*, 2018; SCHIAVO, 2018; BANSAL *et al.*, 2019; RAHMAN *et al.*, 2021; BROCK *et al.*, 2024). Estas substâncias têm a capacidade de reestabelecer a resistência de união, porém, apresentam pigmentos que poderiam resultar em diminuição da eficácia do tratamento clareador, ou seja, escurecimento dentário.

A escolha da concentração das substâncias desta pesquisa segue o estudo de Brock *et al.* (2024) em que a determinação da concentração de ATX foi baseada no método de eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Neste estudo, o uso de resveratrol, e extratos de chá verde, erva mate e casca d'anta na concentração de 10% por 10 min imediatamente após o clareamento dental mostrou homogeneidade de brancura entre os grupos e valores de Δ WID dentro do limiar de aceitabilidade. Ou seja, os ATX estudados, mesmo as substâncias que resultaram em certo grau de escurecimento, como a EM e a CA,

não resultaram em escurecimento inaceitável do esmalte dental após sua aplicação, aceitando a hipótese do estudo para o índice de brancura após o clareamento.

Com relação a alteração de cor (ΔE_{00}), os grupos EM, RES e CA mostraram valores semelhantes e dentro do limiar de aceitabilidade. Entretanto, a alteração de cor para o grupo CV mostrou-se acima do limiar de aceitabilidade, rejeitando parcialmente a hipótese do estudo.

O resveratrol é um fitocomposto natural sintetizado principalmente nas cascas das uvas, as quais apresentam altas concentrações de compostos antioxidantes (VENTURINI *et al.*, 2010). Na área odontológica, o uso do resveratrol é efetivo sobre o oxigênio reativo presente no esmalte clareado, contribuindo para a biocompatibilidade da ligação dentinária dos sistemas adesivos (WANG; XU; LIU, 2008; BRINGANTINI, 2018). Neste estudo, para ΔE_{00} , a utilização do resveratrol apresentou resultados dentro do limiar de aceitabilidade, indo de encontro com os achados de Bringantini (2018), onde o resveratrol apresentou um efetivo potencial antioxidante sem interferir na variação de cor gerada pelo clareamento, o que pode ser uma possibilidade segura na diminuição do tempo de espera entre as técnicas clareadora e restauradora quando aplicado imediatamente após o protocolo clareador.

A pesquisa foi realizada com incisivos inferiores permanentes bovinos de uma mesma faixa etária para a padronização das amostras, similaridades anatômicas e histológicas aos dentes humano e possuem poucas variações de respostas experimentais em pesquisas laboratoriais (CAMPOS *et al.*, 2008; MATOS *et al.*, 2008). A pigmentação artificial prévia ao protocolo clareador foi realizada para homogeneizar a coloração inicial das amostras entre os grupos avaliados (KURY *et al.*, 2020). De acordo com os autores Sulieman *et al.* (2003), a utilização de solução de chá preto dentro de um protocolo de coloração artificial gera um efeito pigmentante nas amostras já nas primeiras 24 h de imersão na solução.

Por se tratar de uma pesquisa laboratorial, este estudo optou pela técnica de clareamento de consultório com gel a base de HP a 35%. O baixo peso molecular do HP facilita sua dispersão através da estrutura dental, permitindo rápida propagação ao tecido dentário logo após a aplicação. Um estudo de Schmeling *et al.* (2012) sugere que durante o clareamento ocorre pela quebra das moléculas cromatogênicas, que são as responsáveis pelo tom amarelado do dente, dando aspecto mais claro à estrutura dental. Tal alteração de cor pode ser avaliada visualmente e por aparelhos específicos como o espectrofotômetro, que é muito utilizado em pesquisas sobre clareamento, com resultados mais precisos em comparação à avaliação visual (DELLA BONA *et al.*, 2019;

PECHO *et al.*, 2016). Estudos anteriores baseados na métrica de diferença de cor CIELAB sugeriram que os observadores médios avaliados apresentaram discrepância na sensibilidade a diferentes coordenadas de cor. Dessa forma, a métrica de diferença de cor CIEDE2000 foi desenvolvida para melhorar a correlação com a percepção visual do observador (PECHO *et al.*, 2016). Através da escala digital do espectrofotômetro *Vita Easy Shade™*, foram identificados nesta pesquisa, o Índice de Brancura para Odontologia (WID) e as diferenças de cor (ΔE_{00}) (PEREZ *et al.*, 2016; PARAVINA *et al.*, 2015).

Para que a região de leitura de cor fosse padronizada nas coroas, foram confeccionadas guias de silicone com uma perfuração no terço médio das coroas. Não foi realizada planificação ou qualquer modificação estrutural na superfície de esmalte simulando a situação clínica de avaliação de cor. Portanto, a medição foi realizada em superfície dos dentes que apresentou certa curvatura. Então, além do local de leitura de cor, a guia de silicone padronizou a perda de parte da luz que atinge a superfície para cada um dos espécimes (PECHO *et al.*, 2016).

Os limiares de aceitabilidade para ΔWID (WAT) e para ΔE_{00} (AT) foram utilizados nesta pesquisa para as comparações entre os períodos avaliados em todos os grupos de antioxidantes, uma vez que complementam a estatística tradicional em pesquisas de cor (PARAVINA *et al.*, 2015; DA SILVA *et al.*, 2018, DELLA

BONA *et al.*, 2019) e do tratamento clareador (PEREZ *et al.*, 2019). A utilização do WID permite uma melhor correlação das avaliações visuais com os valores das diferenças de brancura (PEREZ *et al.*, 2019). Neste estudo, o Δ WID mostrou semelhança entre os grupos nos intervalos de tempo estudados e permaneceram dentro do WAT e estas diferenças de brancura são consideradas satisfatórias de acordo com valores dos limiares de Perez *et al.* (2019). Então, apesar dos agentes antioxidantes serem moléculas pequenas e capazes de penetrar os poros do esmalte pós clareamento (SASAKI *et al.*, 2009), o tempo de ação das substâncias testadas parece ser insuficiente para que as moléculas penetrem a dentina e provoquem alteração de cor e podem facilmente serem removidos com jatos de ar-água ou profilaxia.

Para Δ E00, o grupo CV mostrou maior alteração de cor do que os demais grupos, ficando acima do limiar de AT. Portanto, a aplicação desta substância altera a cor do esmalte dental após o clareamento, com valor considerado inaceitável clinicamente, embasado no estudo de Paravina *et al.* (2015). Entretanto, para Degirmenci *et al.* (2020), não houve diferença na estabilidade de cor após aplicação do chá verde em dentes recém clareados. Pode-se levar em consideração que a metodologia utilizada difere do presente estudo, onde os autores utilizaram solução de chá verde a 5% em forma de pó e dissolvido em 100 ml de água destilada, aplicada em apenas um momento de 10 min, e posteriormente

realizada a lavagem dos espécimes com água destilada e utilizada uma escova de dentes.

É importante mencionar as possíveis limitações do presente estudo. Os resultados do presente estudo são baseados nos resultados imediatos, sem nenhum método de envelhecimento das amostras. Por ser um estudo laboratorial, as amostras ficaram armazenadas em água destilada a 37°C durante os intervalos de avaliação, diferentemente das influências biológicas que ocorrem na cavidade oral em presença de saliva, variações térmicas e químicas.

Os resultados alcançados com a presente pesquisa *in vitro* podem ser considerados promissores para a diminuição do intervalo entre clareamento e procedimentos adesivos, visto que a aplicação de EM, RES e CA mesmo que apresentem pigmentos, não provocam alteração de cor ou de clareamento significantes. Futuros estudos poderão verificar a necessidade de troca constante do ATX durante o tempo de aplicação, ou mesmo a eficiência do uso de ATX em menor tempo e concentração.

7. CONCLUSÕES

A aplicação de soluções de erva-mate, resveratrol e casca d'anta após clareamento não influenciou o índice de brancura do esmalte dental. Por outro lado, o chá-verde resultou em alteração da cor inaceitável clinicamente.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. A. D.; KUNIYOSHI, Y. S.; MEDEIROS, A. C.; NOGUEIRA, A. C. Caracterização morfológica de frutos e sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers. - Winteraceae). *Revista Brasileira de Sementes*, v. 27, n. 2, p. 67–74, 2005.

ALKAHTANI, R.; STONE, S.; GERMAN, M.; WATERHOUSE, P. A Review on Dental Whitening. *J Dent*, v. 100, p. 1-34, 2020.

ALONSO DE LA PENA, V.; LOPEZ RATON, M. Randomized clinical trial on the efficacy and safety of four professional at-home tooth whitening gels. *Oper Dent*, v. 39, n. 2, p. 136-143, 2014.

ATALAYIN, C.; ARMAGAN, G.; KONYALIOGLU, S.; KEMALOGLU, H.; TEZEL, H.; ERGUCU, Z.; KESER, A.; DAGCI, T.; ONAL, B. The protective effect of resveratrol against dentin bonding agents induced cytotoxicity. *Dent Mater J*, v. 34, p. 766–773, 2015.

AZEVEDO, M. B. Avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas da espécie *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae). 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2015.

BANSAL, M.; KAUR, P.; CYRIAC, A. R.; KADIAN, N.; JAISWAL, P.; RATHEE, K. Impact of Different Antioxidants on the Bond Strength of Resinbased Composite on Bleached Enamel-An In Vitro Study. *J Contemp Dent Pract*, v. 20, n. 1, p. 64-70, 2019.

BARBOSA, D. C.; PANATTA, T.; CERETTA, L. B.; CERETTA, R. A.; SIMÕES, P. W.; DALTOÉ, L. F. Estudo comparativo entre as técnicas de clareamento dental em consultório e clareamento dental caseiro supervisionado em dentes vitais: uma revisão de literatura. *Odont Univ Cid São Paulo* v. v. 27, n. 3, p. 244-252, 2017.

BERGER, S. B.; DE SOUZA CARREIRA, R. P.; GUIRALDO, R. D.; LOPES, M. B.; PAVAN, S.; GIANNINI, M.; BEDRAN-RUSSO, A. K. Can green tea be used to reverse compromised bond strength after bleaching? *Eur J Oral Sci*, v. 121, n. 4, p. 377-381, 2013.

BERNARDON, J. K.; SARTORI, N.; BALLARIN, A.; PERDIGAO, J.; LOPES, G. C.; BARATIERI, L. N. Clinical performance of vital bleaching techniques. *Oper Dent*, v. 35, n. 1, p. 3-10, 2010.

BERNARDON, J. K.; FERRARI, P.; BARATIERI, L. N.; RAUBER, G. B. Comparison of treatment time versus patient satisfaction in at-home and in-office tooth bleaching therapy. *J Prosthet Dent*, v. 114, n. 6, p. 826-830, 2015.

BERNARDON, J. K.; VIEIRA MARTINS, M.; BRANCO RAUBER, G.; MONTEIRO JUNIOR, S.; BARATIERI, L. N. Clinical evaluation of different desensitizing agents in home-bleaching gels. *J Prosthet Dent*, v. 115, n. 6, p. 692-696, 2016.

BERTÉ, K. A. S. Tecnologia da erva-mate solúvel. 2011. Tese à obtenção do grau de Doutor em Tecnologia de Alimentos (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2011.

BRAZ, R.; PATRICIO, C. E.; RIBEIRO, A. I.; GUENES, G. M.; DANTAS, D. C.; MONTES, M. A.; FEITOSA, D. A. Influence of antioxidants on stress of bonding agents in recently whitened teeth. *Acta Odontol Latinoam*, v. 24, n. 3, p. 252-257, 2011.

BRIGANTINI, L. C.; SOARES, V. C. G., BERGER, S. B., FELIZARDO, K. R., GUIRALDO, R. D., GONINI-JÚNIOR, A., KANESHIMA, R. H., LOPES, M. B. Influência do Antioxidante Resveratrol nas Propriedades Físicas e Mecânicas do Esmalte. *J Health Sci*, v. 19, n. 5, p. 170, 2018.

BROCK, T.; SOVERAL, A. B.; JÚNIOR, J. R. D.; BECKER, A. L.; FAVERO, E.; DE OLIVEIRA, A. J.; BERTOL, C. D.; BENETTI, P.; DE CARLI, J. P. Effect of antioxidants on adhesive bond strength to bleached enamel. [artigo científico]. Disponível em: <doi: 10.1016/j.jdent.2024.104880>. Acesso em: 19 fev. 2024.

CAMPOS, M. I. C.; CAMPOS, N.; VITRAL, C. F. O Uso de Dentes Bovinos como Substitutos de Dentes Humanos em Pesquisas Odontológicas: Uma Revisão da Literatura. *Pesqui Bras Odontopediatria Clín Integr*, v. 8, n. 1, p. 127-132, 2008.

CAREY, C. M. Tooth whitening: what we now know. *J Evid Based Dent Pract*, v. 14 Suppl, n., p. 70-76, 2014. CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, v. 51, n., p. 15-25, 2013.

CAVALLI, V.; REIS, A. F.; GIANNINI, M.; AMBROSANO, G. M. The effect of elapsed time following bleaching on enamel bond strength of resin composite. *Oper Dent*, v. 26, n. 6, p. 597-602, 2001.

CAVALLI, V.; DE CARVALHO, R. M.; GIANNINI, M. Influence of carbamide peroxide-based bleaching agents on the bond strength of resin-enamel/dentin interfaces. *Braz Oral Res*, v. 19, n. 1, p. 23-29, 2005.

CHAN, E. W.; SOH, E. Y.; TIE, P. P.; LAW, Y. P. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Res*, v. 3, n. 4, p. 266-272, 2011.

CHNG, H. K.; RAMLI, H. N.; YAP, A. U.; LIM, C. T. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentine. *J Dent*, v. 33, n. 5, p. 363-369, 2005.

DA SILVA, V. A.; ALBERTON DA SILVA, S.; PECHO, O. E.; BACCHI, A. Influence of composite type and light irradiance on color stability after immersion in different beverages. *J Esthet Restor Dent*, v. 30, n. 5, p. 390-396, 2018.

DA SILVA, K.L.; FAVORETO, M.W.; CENTENARO, G.G.; BERNARDI, L.G.; BORGES, C.P.F.; REIS, A.; LOGUERCIO, A.D. Can all highly concentrated in-office bleaching gels be used as a single-application? *Clin Oral Investig*, v. 27, n. 7; p. 3663-3671, 2023.

DAI, Q.; HE, Y.; HO, C.T.; WANG, J.; WANG, S.; YANG, Y.; GAO, L.; XIA, T. Effect of interaction of epigallocatechin gallate and flavonols on color alteration of simulative green tea infusion after thermal treatment. *J Food Sci Technol*, v. 54, n. 9, p. 2919-2928, 2017.

DEGIRMENCI, A.; EMINE, K.; DEGIRMENCI, U.; OZCAN, M. Evaluation the Effect of Different Antioxidants Applied After Bleaching on Teeth Color Stability. *Braz Dent Sci*, v. 23, n 4, p. 1-9, 2020.

DELLA BONA, A.; BARRETT, A. A.; ROSA, V.; PINZETTA, C. Visual and instrumental agreement in dental shade selection: three distinct observer populations and shade matching protocols. *Dent Mater*, v. 25, n. 2, p. 276-281, 2009.

DELLA BONA, A.; PECHO, O. E.; GHINEA, R.; CARDONA, J. C.; PEREZ, M. M. Colour parameters and shade correspondence of CAD-CAM ceramic systems. *J Dent*, v. 43, n. 6, p. 726-734, 2015.

DELLA BONA, A.; PECHO, O. E.; GHINEA, R.; CARDONA, J. C.; PARAVINA, R. D.; PEREZ, M. M. Influence of Bleaching and

Aging Procedures on Color and Whiteness of Dental Composites. *Oper Dent*, v. 44, n. 6, p. 648-658, 2019.

DIDIER, F. V.; BATISTA, D.U.A.; MONTENEGRO, V.R.; FONSECA, F.B.R.; CARVALHO, G.F.; BARROS, S.; LEMES, C.H. Influence of hydrogen peroxide-based bleaching agents on the bond strength of resin–enamel/dentin interfaces. *Int J Adhes Adhes*, v. 47, p.141-145, 2013.

DOMINGOS, P.A.; BUENO, N.D.F.; RASTINE, R.C.B. Clareamento dental e controle de sensibilidade. *J Res Dent*, v. 8, n. 6, p. 55-62, 2020.

ESTAY, J.; ANGEL, P.; BERSEZIO, C.; TONETTO, M.; JORQUERA, G.; PENA, M.; FERNANDEZ, E. The change of teeth color, whiteness variations and its psychosocial and self-perception effects when using low vs. high concentration bleaching gels: a one-year follow-up. *BMC Oral Health*, v. 20, n. 1, p. 255, 2020.

FERNANDES, R. A.; STRAZZI-SAHYON, H. B.; SUZUKI, T. Y. U.; BRISO, A. L. F.; DOS SANTOS, P. H. Effect of dental bleaching on the microhardness and surface roughness of sealed composite resins. *Restor Dent End*, v. 45, n. 1, p. 1-8, 2020.

FERREIRA, B. A.; NORTON FILHO, A. F.; DECONTE, S. R.; TOMIOSSO, T. C.; THEVENARD, F.; ANDRADE, S. P.; LAGO, J. H. G.; ARAUJO, F. A. Sesquiterpene Polygodial from *Drimys brasiliensis* (Winteraceae) Down-Regulates Implant-Induced Inflammation and Fibrogenesis in Mice. *J Nat Prod*, v. 83, n. 12, p. 3698-3705, 2020.

GEUS, J. L.; REZENDE, M.; MARGRAF, L. S.; BORTOLUZZI, M. C.; FERNANDEZ, E.; LOGUERCIO, A. D.; REIS, A.; KOSSATZ, S. Evaluation of genotoxicity and efficacy of at-home

bleaching in smokers: a single-blind controlled clinical trial. *Oper Dent*, v. 40, n. 2, p. E47-55, 2015.

GHINEA, R.; PEREZ, M. M.; HERRERA, L. J.; RIVAS, M. J.; YEBRA, A.; PARAVINA, R. D. Color difference thresholds in dental ceramics. *J Dent*, v. 38 Suppl 2, n., p. e57-64, 2010.

GOPINATH, S.; JAMES, V.; VIDHYA, S.; KARTHIKEYAN, K.; KAVITHA, S.; MAHALAXMI, S. Effect of bleaching with two different concentrations of hydrogen peroxide containing sweet potato extract as an additive on human enamel: An in vitro spectrophotometric and scanning electron microscopy analysis. *J Conserv Dent*, v. 16, n. 1, p. 45-49, 2013.

GORACCI, C.; SADEK, F. T.; MONTICELLI, F.; CARDOSO, P. E.; FERRARI, M. Microtensile bond strength of self-etching adhesives to enamel and dentin. *J Adhes Dent*, v. 6, n. 4, p. 313-318, 2004.

GURESKI, A; DE LIMA, C; BENGHI, T. Avaliação da atividade antioxidante in vitro de *drimys brasiliensis miers*. *Anais do XI Evinci*, v. 2, n. 1, 2016.

HALABI, S.; MATSUI, N.; NIKAIDO, T.; ABDO A.; BURROW, M.F.; TAGAMI, J. Effect of two bleaching regimens on enamel bonding performance. *Dent Mater J*. v. 39, n. 6, p. 984-991, 2020.

HECK, C. I.; SCHMALKO, M.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of mate teas (*Ilex paraguariensis*). *J Agric Food Chem*, v. 56, n. 18, p. 8394-8403, 2008.

IGNATOWICZ, E.; BAER-DUBOWSKA, W. Resveratrol, a natural chemopreventive agent against degenerative diseases. *Pol J Pharmacol*, v. 53, n. 6, p. 557-569, 2001.

KOO, S.I.; NOH, S.K. Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids: potential mechanism for its lipid-lowering effect. *J Nutr Biochem*, v. 18, n. 3, p. 179-183, 2007.

KURY, M.; PERCHES, C.; SILVA, D.P.; ANDRÉ, C.B.; TABCHOURY, C.P.M.; GIANNINI, M.; CAVALLI, V. Color change, diffusion of hydrogen peroxide, and enamel morphology after in-office bleaching with violet light or nonthermal atmospheric plasma: An in vitro study. *J Esthet Restor Dent.*, v. 32, n. 1, p. 102-112, 2020.

KWON, S. R.; WARTZ, P. W. Review of the mechanisms of tooth whitening. *J Esthet Restor Dent*, v. 27, n. 5, p.240-257, 2015.

LAGO, A.D.; GARONE-NETTO, N. Microtensile bond strength of enamel after bleaching. *Indian J Dent Res*. v. 24, n. 1, p. 104-109, 2013.

LAGO, M.; MOZZAQUATRO, L. R.; RODRIGUES, C.; KAIZER, M. R.; MALLMANN, A.; JACQUES, L. B. Influence of Bleaching Agents on Color and Translucency of Aged Resin Composites. *J Esthet Restor Dent*, v. 29, n. 5, p. 368-377, 2017.

LAI, S. C.; MAK, Y. F.; CHEUNG, G. S.; OSORIO, R.; TOLEDANO, M.; CARVALHO, R. M.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *J Dent Res*, v. 80, n. 10, p. 1919-1924, 2001.

LAI, S. C.; TAY, F. R.; CHEUNG, G. S.; MAK, Y. F.; CARVALHO, R. M.; WEI, S. H.; TOLEDANO, M.; OSORIO, R.; PASHLEY, D. H. Reversal of compromised bonding in bleached enamel. *J Dent Res*, v. 81, n. 7, p. 477-481, 2002.

LOPES, M; FELIZARDO, K; BRIGANTINI, L; BERGER, S; LAXE, L; SALVIO, L. Influence of antioxidants on bond strength of bleached dental substrates. *HU Revista*, v. 44, n.1, p. 63-76, 2018.

LUO, M. R.; CUI, G.; RIGG, B. The Development of the CIE 2000 Colour-Difference Formula: CIEDE2000. *Color Res Appl*, v. 26, n. 5, p. 340-350, 2001.

MAGALHAES, A. C.; WIEGAND, A.; RIOS, D.; HANNAS, A.; ATTIN, T.; BUZALAF, M. A. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. *J Dent*, v. 37, n. 12, p. 994-998, 2009.

MANNA, M. P. N.; MOREIRA, H. R.; MEDEIROS, L. Y.; SANTOS, S. I.; LANA, A. S.; PAZZINATTO, B. R. Comparison on the effectiveness and sensitivity of different types of tooth whitening: a literature review. *Res Soc Dev*, v. 10, n. 7, 2021.

MANOHARAN, M.; SHASHIBHUSHAN, K. K.; POORNIMA, P.; NAIK, S. N.; PATIL, D.; SHRUTHI, A. S. Effect of newer antioxidants on the bond strength of composite on bleached enamel. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, v. 34, n. 4, p. 391-396, 2016.

MARAN, B. M.; VOCHIKOVSKI, L.; DE ANDRADE HORTKOFF, D. R.; STANISLAWCZUK, R.; LOGUERCIO, A. D.; REIS, A. Tooth sensitivity with a desensitizing-containing at-home bleaching gel-a randomized triple-blind clinical trial. *J Dent*, v. 72, n., p. 64-70, 2018.

MARUYAMA, T.; TOMOFUJI, T.; ENDO, Y.; IRIE, K.; AZUMA, T.; EKUNI, D.; TAMAKI, N.; YAMAMOTO, T.; MORITA, M. Supplementation of green tea catechins in dentifrices suppresses gingival oxidative stress and periodontal inflammation. *Arch Oral Biol*, v. 56, n. 1, p. 48-53, 2011.

MATOS, I. C.; SAB, T. B. B.; JULIBONI, N. C.; GUERRA, R. F.; MIRANDA, M. S. Utilização de dentes bovinos como possível substituto aos dentes humanos nos testes in vitro: revisão de literatura. *Braz J Health Res*, v. 10, n. 2, 2008.

MEIRELES, S. S.; SANTOS, I. S.; BONA, A. D.; DEMARCO, F. F. A double-blind randomized clinical trial of two carbamide peroxide tooth bleaching agents: 2-year follow-up. *J Dent*, v. 38, n. 12, p. 956-963, 2010.

MENA-SERRANO, A.; GRANDA-ALBUJA, M.G.; NARANJO, J.; FIERRO, E.A.; FAVORETO, M.W.; LOGUERCIO, A.D.; REIS, A. Effects of the application of sodium ascorbate after in-office bleaching on the penetration of hydrogen peroxide, color change, and microtensile bond strength. *Braz Dent J*, v. 34, n. 5, p. 87-94, 2023.

MINOUX, M.; SERFATY, R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects-a review. *Quintessence Int*, v. 39, n. 8, p. 645-659, 2008.

MOREIRA, J. C.; GALLINARI MDE, O.; RAHAL, V.; FAGUNDES, T. C.; SANTOS, P. H.; MOURA, M. R.; BRISO, A. L. Effect of Dental Pigmentation Intensity on the Transenamel and Transdental Penetration of Hydrogen Peroxide. *Braz Dent J*, v. 27, n. 4, p. 399-403, 2016.

NA, J. I.; SHIN, J. W.; CHOI, H. R.; KWON, S. H.; PARK, K. C. Resveratrol as a Multifunctional Topical Hypopigmenting Agent. *Int J Mol Sci*, v. 20, n. 4, p.956, 2019.

NASCIMENTO, L. S. B.; LIMA, S. N. L.; FERREIRA, M. C.; MALHEIROS, A. S.; TAVAREZ, R. R. J. Avaliação do impacto do clareamento dental na qualidade de vida de pacientes adultos. *Journal Health NPEPS*, v. 3, n. 2, p. 392-401, 2018.

NEHA, K.; HAIDER, M. R.; PATHAK, A.; YAR, M. S. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *Eur J Med Chem*, v. 178, n., p. 687-704, 2019.

OZELIN, A.A.; GUIRALDO, R.D.; CARVALHO, R.V.; LOPES, M.B.; BERGER, S.B. Effects of green tea application time on bond strength after enamel bleaching. *Braz Dent J*, v. 25, n. 5, p. 399-403, 2014.

PARAVINA, R. D.; GHINEA, R.; HERRERA, L. J.; DELLA BONA, A.; IGIEL, C.; LINNINGER, M.; SAKAI, M.; TAKAHASHI, H.; TASHKANDI, E.; PEREZ MDEL, M. Color difference thresholds in dentistry. *J Esthet Restor Dent*, v. 27, n.1, p.1-9, 2015.

PECHO, O. E.; GHINEA, R.; IONESCU, A. M.; CARDONA JDE, L.; PARAVINA, R. D.; PEREZ MDEL, M. Color and translucency of zirconia ceramics, human dentine and bovine dentine. *J Dent*, v. 40 Suppl 2, n., p. e34-40, 2012.

PECHO, O. E.; GHINEA, R.; ALESSANDRETTI, R.; PEREZ, M. M.; DELLA BONA, A. Visual and instrumental shade matching using CIELAB and CIEDE2000 color difference formulas. *Dent Mater*, v. 32, n. 1, p. 82-92, 2016.

PECHO, O. E.; GHINEA, R.; PEREZ, M. M.; DELLA BONA, A. Influence of Gender on Visual Shade Matching in Dentistry. *J Esthet Restor Dent*, v. 29, n. 2, p. E15-E23, 2017.

PEGORARO, C; DE OLIVEIRA, N; DINIZ, L; SVIZERO, N; D'ALPINO, P. Influência dos agentes clareadores na resistência adesiva de restaurações com compósitos aos tecidos dentários: momento atual. *Revista Dentística on line*. v.10, n.20, p. 11-15, 2011.

PEREZ, M. M.; GHINEA, R.; RIVAS, M. J.; YEBRA, A.; IONESCU, A. M.; PARAVINA, R. D.; HERRERA, L. J. Development of a customized whiteness index for dentistry based on CIELAB color space. *Dent Mater*, v. 32, n. 3, p. 461-467, 2016.

PEREZ, M. M.; HERRERA, L. J.; CARRILLO, F.; PECHO, O. E.; DUDEA, D.; GASPARIK, C.; GHINEA, R.; DELLA BONA, A. Whiteness difference thresholds in dentistry. *Dent Mater*, v. 35, n. 2, p. 292-297, 2019a.

PEREZ, M. M.; PECHO, O. E.; GHINEA, R.; PULGAR, R.; DELLA BONA, A. Recent advances in color and whiteness evaluation in dentistry. *Current Dentistry* v.1; n.1, p.23-29, 2019b.

PINHEIRO, H. B.; COSTA, K. G.; KLAUTAU, E. B.; CARDOSO, P. C. Análise microestrutural do esmalte tratado com peróxido de hidrogênio e carbamida. *Rev. Gaúch. Odontol.* v. 59, n. 2, p. 215-220, 2011.

PINTO, C. F.; OLIVEIRA, R.; CAVALLI, V.; GIANNINI, M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res*, v. 18, n. 4, p. 306-311, 2004.

RAHMAN, H.; ANSARI, M.I.; KHANGWAL, M.; SOLANKI, R.; MANSOORI, S. Comparative evaluation of 6% cranberry, 10% green tea, 50% aloe vera and 10% sodium ascorbate on reversing the immediate bond strength of bleached enamel: In vitro study. *J Oral Biol Craniofac*, v. 11; n. 2; p.107-112, 2021.

REZENDE, M.; DE GEUS, J. L.; LOGUERCIO, A. D.; REIS, A.; KOSSATZ, D. Clinical Evaluation of Genotoxicity of In-office Bleaching. *Oper Dent*, v. 41, n. 6, p. 578-586, 2016.

RODRIGUES, J. L.; ROCHA, P. S.; PARDIM, S. L. S.; MACHADO, A. C. V.; FARIA, E. S. A. L.; SERAIDARIAN, P. I. Association Between In-Office And At-Home Tooth Bleaching: A Single Blind Randomized Clinical Trial. *Braz Dent J*, v. 29, n. 2, p. 133-139, 2018.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, J.; VALIENTE, M.; SÁNCHEZ-MARTÍN, M. J. Tooth whitening: From the established treatments to novel approaches to prevent side effects. *J Esthet Rest Dent*, v.31, n.5, p. 431-440, 2019.

SALDANHA, L. A. *Avaliação da atividade antioxidante in vitro de extratos de erva-mate (Ilex Paraguariensis) verde e tostada e chá verde (Camellia Sinensis)*. 2005. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2005.

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

SHALABY, E. A.; SHANAB, S. M. M. Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *Afr J Pharm Pharmacol*, v. 7, p. 528–539, 2013.

SHARMA, G.; WU, W.; DALAL, E. N.; The CIEDE2000 color-difference formula: implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. *Color Res Appl*, v.30, n.1, p.21-30, 2005.

SCHIAVO, S. R. *Métodos para restabelecer a resistência de união ao esmalte após clareamento dental: Revisão de Literatura*. 2018. Monografia (Curso de Especialização em Estética Orofacial) - Faculdade Sete Lagoas, Santo André, São Paulo, 2018.

SCHMELING, M.; MAIA, H.P.; BARATIERI, L.N. Opalescence of bleached teeth. *J Dent*, v. 40, p. 35-39, 2012.

SILVA, M. A. F.; TORRES, L. M. M.; SOUZA, D. M. B. Benefícios e malefícios durante o procedimento de clareamento

dental: revisão integrativa. *Rev. Odontol. Araçatuba*, v. 42, n. 1, p. 38-43, 2021.

SULIEMAN, M.; ADDY, M.; REES, J.S. Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching. *J Dent*. v. 31, n. 6, p. 415-22, 2003.

TERRY, D. A.; GELLER, W. Biomodificação da descoloração dentária, In: Odontologia estética e restauradora. 2a ed. São Paulo: Quintessence Editora, 2014. p. 678-710.

TOPCU, F. T.; ERDEMIR, U.; OZEL, E.; TIRYAKI, M.; OKTAY, E. A.; YILDIZ, E. Influence of Bleaching Regimen and Time Elapsed on Microtensile Bond Strength of Resin Composite to Enamel. *J Clin Dent*, v. 8, n. 3, p. 451–458, 2017.

TURKUN, M.; TURKUN, L.S. Effect of nonvital bleaching with 10% carbamide peroxide on sealing ability of resin composite restorations. *Int Endod J*, v. 37, n. :52-60, 2004.

UNLU, N.; COBANKARA, F.K.; OZER, F. Effect of elapsed time following bleaching on the shear bond strength of composite resin to enamel. *J Biomed Mater*. v. 84, n. 2, p. 363-368, 2008.

VENTURINI, C. D.; MERLO, S.; SOUTO, A. A.; FERNANDES MDA, C.; GOMEZ, R.; RHODEN, C. R. Resveratrol and red wine function as antioxidants in the nervous system without cellular proliferative effects during experimental diabetes. *Oxid Med Cell Longev*, v. 3, n. 6, p. 434-441, 2010.

VIEIRA, M. A.; ROVARIS, A. A.; MARASCHIN, M.; DE SIMAS, K. N.; PAGLIOSA, C. M.; PODESTA, R.; AMBONI, R. D.; BARRETO, P. L.; AMANTE, E. R. Chemical characterization of candy made of Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) residue. *J Agric Food Chem*, v. 56, n. 12, p. 4637-4642, 2008.

WANG, D.; XU, Y.; LIU, W. Tissue distribution and excretion of resveratrol in rat after oral administration of *Polygonum cuspidatum* extract (PCE). *Phytomedicine*, v. 15, n. 10, p. 859-866, 2008.

WANG, L.F.; PARK, S.C.; CHUNG, J.O.; BAIK, J.H.; PARK, S.K. The compounds contributing to the greenness of green tea. *J Food Sci*, n. 69, p. 301–305, 2004.

YU, H.; ZHANG, Y.C.; CHENG, Z.Y.; CHENG, H. Effects of bleaching agents on dental restorative materials: A review of the literature and recommendation to dental practitioners and researchers. *J Dent Sci*, v. 10, n. 4, p. 345-351, 2015.

ZANOLLA, J.; MARQUES, A.B.C.; DA COSTA, D.C.; DE SOUZA, A.S.; COUTINHO, M. Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis. *Austr Dent J*, v. 62, p. 276-282, 2017.

ZAUGG, F. L.; MOLINERO-MOURELLE, P.; ABOU-AYASH, S.; SCHIMMEL, M.; BRAGGER, U.; WITTNEBEN, J. G. The influence of age and gender on perception of orofacial esthetics among laypersons in Switzerland. *J Esthet Restor Dent*, v. 34, n. 6, p. 959-968, 2022.

ARTIGO I

INFLUENCE OF ANTIOXIDANT APPLICATION ON TOOTH ENAMEL COLOR ALTERATION AFTER 35% HYDROGEN PEROXIDE BLEACHING²

Objective: To evaluate the influence of antioxidant substances yerba mate, resveratrol, green tea and winter's bark on tooth enamel color change after in-office bleaching. Methodology: Bovine incisor crowns were darkened and randomly divided into six groups (n=20) for the application of aqueous solutions: Ctrl_NC - negative control; Ctrl_C - bleached control without ATX; EM - bleached with yerba mate solution; RES - bleached with resveratrol solution; CV - bleached with green tea solution; CA - bleached with winter's bark solution. The 35% hydrogen peroxide solution was applied for 45 minutes (3 applications of 15 minutes) to the buccal enamel surface. ATX was used after bleaching for 10 minutes and rinsed with an air-water spray. Color evaluations were performed before bleaching (T0), after bleaching (T1), and after ATX application (T2). Data were analyzed using Kruskal-Wallis and Tukey tests with a 5% significance level. Results: No differences in WID were observed between groups within the same evaluation period

² Camila Conterato
o artigo será submetido para a Revista Clinical Oral Investigations.

($p=0.03$). $\Delta E00$ was similar across all evaluation times. However, CV showed a greater color change than the other groups and exceeded the acceptability threshold in T2-T1 ($p=0.017$). Conclusion: The application of RES, CA, and EM extracts did not cause color changes, while CV may alter enamel color after dental bleaching. Clinical Relevance: This study suggests that experimental antioxidants such as resveratrol, yerba mate, and winter's bark may be useful for reducing the time between bleaching and adhesive procedures without significantly compromising the color achieved after bleaching.

Keywords: Hydrogen peroxide, dental bleaching, antioxidant, antioxidant potential.

1. INTRODUCTION

Dental bleaching is one of the most requested treatments by patients seeking aesthetic improvement, as dental appearance and white teeth are considered responsible for the concept of an attractive smile, in addition to producing positive psychosocial results, increasing confidence, the degree of satisfaction with self-perception, and improving quality of life [1-3]. The literature shows that restorations performed immediately after the completion of the bleaching process can reduce adhesive resistance due to the decreased degree of polymerization of resin adhesives caused by the presence of reactive oxygen within the dental structure [4-7].

Thus, a variable waiting period of one to three weeks after the completion of dental bleaching is recommended for performing adhesive restorative procedures [5,8]. To enable immediate restoration replacement and reduce the waiting period, the use of antioxidant substances has been studied, as they accelerate the release of residual oxygen and neutralize the deleterious effects caused by residual free radicals [9].

Natural substances such as winter's bark (*Drimys brasiliensis* Miers), yerba mate (*Ilex Paraguariensis*), resveratrol, and green tea (*Camellia Sinensis*) have proven antioxidant activity [10-13]. Recently, Brock *et al.* [14] evaluated the influence of the antioxidants resveratrol, winter's bark, green tea, and yerba mate at 10% on the bond strength between enamel recently bleached with 35% hydrogen peroxide and composite resin. The authors concluded that antioxidants applied to bleached enamel can increase the immediate bond strength of restorations performed directly after bleaching, with values similar to those observed in non-bleached enamel.

However, these substances have a characteristic color that may interfere with the bleaching result or stain the dental structure, reducing the efficacy of the bleaching protocol. So far, there are few reports on the color change after the application of these antioxidant agents on bleached enamel [15,16].

This study aimed to evaluate the effect of applying different 10% aqueous solutions of antioxidants, including resveratrol, yerba mate, green tea, and winter's bark, on enamel color change after in-office bleaching with 35% hydrogen peroxide. The null hypothesis tested was that the use of aqueous antioxidant solutions does not influence color change or whiteness index after dental bleaching.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Research Location

The preparation of the samples, storage, and color coordinate measurements were performed in the research laboratory of the Postgraduate Program within the Dentistry Course at the University of Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS. The antioxidant substances were obtained from a compounding pharmacy (Cervi Farmácia de Manipulação, Marau, Rio Grande do Sul, Brazil).

2.2 Study Design

This was an in vitro laboratory experimental study using extracted bovine incisor crowns, research line of Biomaterials and Rehabilitative Dentistry. The color coordinates of the buccal enamel of the bovine incisor crowns were obtained after the darkening protocol (T0), after bleaching (T1), and after the application of the proposed antioxidant solutions (T2).

2.3 Bovine Enamel Acquisition and Standardization

A total of 120 lower bovine incisors (n=120) were obtained from a licensed slaughterhouse. The teeth were cleaned with periodontal curettes, subjected to prophylaxis with pumice paste and water using a Robinson brush mounted in low rotation, rinsed with distilled water, and dried with gauze. The apical openings of all teeth were sealed with approximately 2 mm of composite resin (Filtek™ Z250 XT - 3M, Sumaré, São Paulo, Brazil). For the sealing, 37% phosphoric acid (Condac 37% - FGM, Joinville, Santa Catarina, Brazil) was applied for 15 seconds to the edges of the apical opening, followed by rinsing with an air-water spray for 1 minute, application of the adhesive system (Adper Single Bond-3M, Sumaré, São Paulo, Brazil) with a microbrush, and polymerization with an LED curing light (Radii-Cal CX – SDI, Victoria, Australia) for 40 seconds.

2.4 Darkening Protocol of Specimens

The bovine incisors were subjected to a darkening protocol by immersion in black tea solution (Leão Junior S.A.; Fazenda Rio Grande, Paraná, Brazil) produced by filtering 1.5 g of tea (sachet) in 100 mL of boiling distilled water for 5 minutes. The specimens were stored in this solution at 37°C for six consecutive days, with the solution being changed every 48 hours to prevent precipitation [17]. The specimens were not washed during each change. After

the storage period in the black tea solution, prophylaxis was performed on the enamel surface with Robinson brushes and pumice paste and water to remove surface pigments. The specimens were kept in distilled water at 37°C for 24 hours to eliminate pigments not completely absorbed by the dentin.

2.5 Bleaching Protocol of Specimens

The crowns were randomly divided into 6 groups (n=20) for the application of bleach and antioxidant: Ctrl_NC - negative control, no bleaching, and no ATX; Ctrl_C - bleached control without ATX; EM - bleached with yerba mate aqueous solution; RES - bleached with resveratrol aqueous solution; CV - bleached with green tea aqueous solution; CA - bleached with winter's bark aqueous solution. For the bleaching procedure, a commercial gel containing 35% hydrogen peroxide (Whiteness HP 35%, FGM, Joinville, SC, Brazil) was applied to the enamel in 3 successive applications of 15 minutes each, as recommended by the manufacturer. The bleaching gel was prepared by adding 3 drops of the liquid phase containing 35% peroxide to 1 drop of thickener (3:1 ratio). After each application, the bleaching agent was rinsed with an air-water spray and dried with an air jet.

2.6 Application of Antioxidant Substances

The 10% aqueous solutions of the experimental natural extracts were obtained (Cervi Farmácia de Manipulação, Marau, Rio Grande do Sul, Brazil) and the substance designated for each experimental group was applied by friction on the enamel surface immediately after the bleaching procedure. Using tweezers and a cotton ball soaked in the substance, 10 applications of 1 minute each were performed, totaling 10 minutes [14]. Then, the substances were removed from the enamel surface with air-water jets for 30 seconds. The samples from the Ctrl C and Ctrl NC groups were kept without antioxidant application.

2.7 Color Analysis

Color coordinates were evaluated using a digital spectrophotometer Vita Easy Shade™ (Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Germany) at different evaluation times: after the darkening protocol (T0), after dental bleaching (T1), and after the application of the antioxidant agent (T2). Calibration of the device was performed before evaluations according to the manufacturer's instructions. Before color analysis, dense addition silicone guides (Scan Putty, Yllor Biomateriais, Pelotas, Brazil) were individually made for each specimen, with a circular opening of approximately 6 mm (compatible with the diameter of the spectrophotometer's active tip) in the middle third region of the buccal surface, exposing a

standardized area of enamel. The specimens were dried, and the active tip of the device was positioned on the buccal surface through the silicone guide perforation. The color coordinates and color according to the Vita 3D Master scale were recorded in a Microsoft Excel table. The color coordinates were used for ΔWID and ΔE_{00} calculations. The analyses were performed by a single trained operator.

2.8 Evaluation of Color Differences

The CIELAB coordinates were recorded at each evaluation, and the color differences for different times were calculated using the color difference equation for ΔE_{00} (CIEDE 2000) (Equation 1) [18]:

$$\Delta E_{00} = \left[\left(\frac{\Delta L'}{K_L S_L} \right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C} \right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H} \right)^2 + R_T \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C} \right) \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H} \right) \right]^{1/2} \quad [3]$$

$\Delta L'$, $\Delta C'$, and $\Delta H'$ represent the differences in lightness, chroma (saturation), and hue in a pair of samples, and R_T is a rotation function that accounts for the interaction between saturation and hue differences in the blue region. Weighting functions (S_L , S_C , S_H) adjust the total color difference for variations in the location of the color pair in the L'a'b' coordinates, and the parametric factors K_L , K_C , K_H serve as correction terms for experimental conditions. Discontinuities in hue computation and hue difference calculation are considered in calculating the CIEDE2000 color difference [19].

In this study, the parametric factors KL=1, KC=1, and KH=1 (for lightness, chroma, and hue, respectively) were used.

For ΔE_{00} , perceptibility thresholds of 50:50% (PT = 0.8 units) and acceptability thresholds of 50:50% (AT = 1.8 units) were considered. The acceptability thresholds (AT) for ΔE_{00} were based on ISO/TR 28642:2016 [20]. ΔE_{00} values below 0.8 units were considered imperceptible to the human eye. Values between 0.8 and 1.8 units were considered perceptible but clinically acceptable. Values above 1.8 units were considered clinically unacceptable.

2.9 Whiteness Index (WID - *whiteness index for dentistry*)

For the evaluation of WID based on the CIELAB index, values were obtained following Equation 2 [21] after the bleaching treatment:

$$\text{WID} = 0,511 L^* - 2,324 a^* - 1,100 b^* \quad [2]$$

Lower WID values (including negative values) indicated darker samples, while higher WID values indicated lighter samples. The WID variation was calculated by subtracting the final WID values from the initial WID values for each group. ΔWID values were analyzed using an acceptability threshold (WAT = 2.60 units) obtained from a preliminary study [22].

2.10 Differences between evaluation times

Different evaluation periods were considered to compare the color difference (ΔE_{00}) and whiteness index difference (ΔWID) between groups. Sample storage was conducted by immersion in distilled water at 37°C for the designated evaluation time.

2.11 Statistical analysis of data

Data on color change and whitening differences at different evaluation times did not pass the normality test (Kolmogorov-Smirnov) and were compared using Kruskal-Wallis and Tukey tests with a significance level of 5% ($\alpha=0.05$). The analyses were tabulated using the software SigmaPlot 5.0 for Windows (Systat Software Inc, San Jose, CA, USA).

3.RESULTS

3.1 Whiteness Index (ΔWID)

The table 1 reports that there was no difference in the Whiteness Index (WID) between the groups within the same evaluation period, indicating uniformity of whiteness among the groups after bleaching treatment and antioxidant application.

Table 1. Mean values and standard deviations of the Whiteness Index (WID) among different experimental groups at respective evaluation times.

Periods	Ctrl SATX	EM	RES	CV	CA
T0	1,9(11,5)A	-1,8(11,1)A	4,5(9,6)A	1,5(13,0)A	7,8(6,6)A
T1	11,8(9,7)AB	14,5(6,0)AB	14,0(8,7)AB	10,0(10,0)B	18,2(5,2)A
T2	-	12,9(6,8)AB	14,7(8,9)AB	11,4(9,1)B	19,1(5,4)A

*Different letters in the same line correspond to statistically significant differences between experimental groups within the same evaluation period.

The main results for the differences in Whiteness Index (Δ WID) observed among the experimental groups across evaluation time intervals are presented in Figure 1. Δ WID (T1-T0) indicated differences in the efficacy of the bleaching treatment between groups CV and CA, with CV showing less whitening than CA. This difference persisted after the application of ATX (antioxidant), demonstrating heterogeneous whitening outcomes among groups at the same period. Other groups showed color uniformity before ATX application. Δ WID (T2-T0) showed that specimens remained whitened after ATX application. Δ WID (T2-T1) exhibited statistically similar values among groups; however, groups EM and CA displayed median negative values, indicating darkening of the

samples. The observed darkening for EM and CA groups remained within the acceptable threshold.

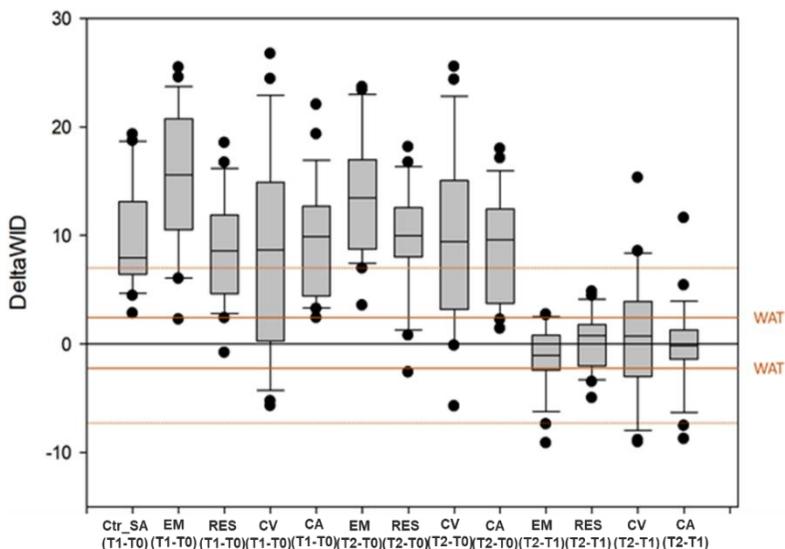


Fig 1. Differences in the Whiteness Index (Δ WID) of the experimental groups at evaluation intervals (T1-T0; T2-T0; and T2-T1). Bars represent median values and interquartile range. The solid red lines represent the upper and lower thresholds of acceptability (WAT), and the dashed lines are their 95% confidence intervals.

3.2 Color change by CIEDE 2000 (Δ E00)

Comparison of Δ E00 median values between experimental groups can be observed in Figure 2. Experimental groups showed similar color change (Δ E00) at T1-T0 and T2-T0, indicating color homogeneity of specimens before antioxidant agent application and similar color change among groups after ATX application. At T2-T1, the green tea extract group (CV) exhibited greater color change

compared to other experimental groups and exceeded the acceptability threshold, indicating that application of this substance alters dental enamel color after bleaching.

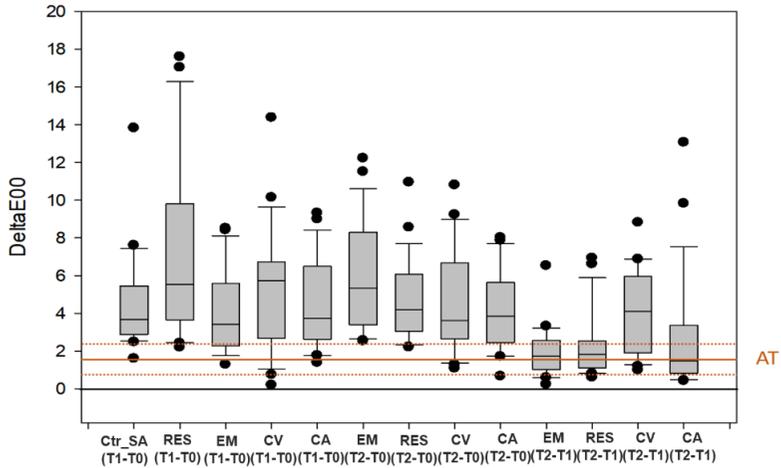


Fig 2. Color differences (ΔE_{00}) of the experimental groups at evaluation intervals. Bars represent median values and interquartile range. The solid red line represents the threshold of acceptability (AT), and the dashed lines are the 95% confidence intervals.

4.DISCUSSION

The aesthetic appearance of the smile holds significant importance for patients, and vital tooth whitening often constitutes the primary treatment choice in dental practice [23]. This can precede restorative procedures requiring effective adhesive bonding [5]. Authors suggest a variable period of 7 to 21 days between

completion of whitening and subsequent restorative procedures to allow for reestablishment of adhesive strength [24-26], a timeframe necessary for the release of trapped oxygen within dental tissues, although this period may be clinically impractical [4].

Previous studies suggest that the use of antioxidant substances on bleached enamel can reduce the time interval for adhesive restorations [6,14,15,27-29]. These substances have the capacity to restore bond strength, yet they contain pigments that may reduce the effectiveness of the bleaching treatment, causing tooth darkening.

The concentration selection of substances in this research follows the study by Brock *et al.* [14], where the determination of ATX concentration was based on the stable free radical scavenging method using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). In this study, the use of resveratrol, green tea extracts, yerba mate, and winter's bark at a concentration of 10% for 10 minutes immediately after dental bleaching showed whitening homogeneity among groups and ΔWID values within acceptable limits. Thus, the tested antioxidants, even those resulting in some degree of darkening, such as yerba mate and winter's bark, did not lead to unacceptable enamel darkening following application, thereby supporting the study hypothesis regarding post-bleaching whitening incidence.

Regarding color change (ΔE_{00}), the yerba mate, resveratrol and winter's bark groups exhibited similar values within the acceptable

threshold. However, the green tea extract group showed color change above the acceptable threshold, partially rejecting the study hypothesis.

Resveratrol is a natural phytochemical primarily synthesized in grape skins, which are rich in antioxidant compounds [30]. In the dental field, resveratrol effectively acts on reactive oxygen species present in bleached enamel, contributing to the biocompatibility of dentin bonding systems [15,31]. In this study, the use of resveratrol for ΔE_{00} yielded results within acceptable limits, consistent with Bringantini's findings, where resveratrol demonstrated effective antioxidant potential without interfering with the color variation induced by bleaching. This suggests a safe possibility for reducing the waiting time between bleaching and restorative techniques when applied immediately after the bleaching protocol [15].

The study was conducted using permanent bovine lower incisors of the same age group to standardize samples, ensuring anatomical and histological similarities to human teeth and minimizing experimental variability in laboratory research [32]. Prior artificial pigmentation was applied to standardize the initial coloration among evaluated groups [33]. According to Sulieman *et al.* [34], the use of black tea solution in an artificial pigmentation protocol resulted in noticeable pigmentation effects within the first 24 hours of immersion.

As this is a laboratory study, it opted for in-office bleaching technique using 35% hydrogen peroxide (HP) gel. The low molecular weight of HP facilitates its dispersion through dental structure, allowing rapid penetration into dental tissue soon after application. A study by Schmeling *et al.* [35] suggests that during bleaching, chromogenic molecules responsible for tooth yellowing are broken down, resulting in a lighter appearance of dental structure. This color change can be assessed visually and with specific devices such as a spectrophotometer, commonly used in bleaching research for more precise results compared to visual evaluation [36,37].

Previous studies based on the CIELAB color difference metric suggested that average observers exhibit varying sensitivity to different color coordinates. Consequently, the CIEDE2000 color difference metric was developed to better correlate with visual perception [37]. Using the digital scale of the Vita Easy Shade™ spectrophotometer, this research identified the Whitening Index for Dentistry (WID) and color differences (ΔE_{00}) [20,21].

To standardize color reading in crowns, silicone guides with a perforation at the mid-third of the crowns were fabricated. No surface flattening or structural modification of enamel was performed to simulate clinical color assessment conditions. Therefore, measurements were taken on a curved tooth surface.

Besides standardizing the color reading location, the silicone guide standardized light loss reaching the surface for each specimen [37]. Acceptability thresholds for Δ WID (WAT) and Δ E00 (AT) were used in this study for comparisons across evaluation periods in all antioxidant groups, complementing traditional statistical methods in color research [20, 36, 38] and bleaching treatments [22]. The use of WID allows better correlation between visual assessments and whitening difference values [22]. In this study, Δ WID showed similarity among groups over the studied time intervals, remaining within WAT, indicating satisfactory whitening differences according to Perez *et al.*'s threshold values [22].

Although antioxidant agents are small molecules capable of penetrating post-bleaching enamel pores [39], the action time of tested substances seems insufficient for molecules to penetrate dentin and cause color alteration, easily removed by air-water jets or prophylaxis.

Regarding Δ E00, the green tea extract group showed greater color change compared to other groups, exceeding the AT threshold. Therefore, application of this substance alters dental enamel color post-bleaching, with clinically unacceptable values, as supported by Paravina *et al.*, study [20]. However, according to Degirmenci *et al.* [40], there was no difference in color stability after green tea application on freshly bleached teeth. It's worth noting that their methodology differed from the current study, using a 5% green tea

solution in powder form dissolved in 100 ml distilled water, applied once for 10 minutes, followed by rinsing with distilled water and toothbrushing.

It's important to mention potential limitations of this study. Results are based on immediate outcomes without aging sample methods. As a laboratory study, samples were stored in distilled water at 37°C during evaluation intervals, differing from biological influences occurring in oral cavity, such as saliva presence and thermal and chemical variations.

The results obtained from this in vitro research show promise for reducing the interval between bleaching and adhesive procedures, as application of yerba mate, resveratrol, and winter's bark, even containing pigments, did not significantly alter whitening or color. Future studies could explore the need for constant ATX replacement during application time or the efficiency of using ATX in shorter durations and concentrations.

5.CONCLUSIONS

Application of yerba mate, resveratrol, and winter's bark solutions post-bleaching did not influence dental enamel whitening index. Conversely, green tea resulted in clinically unacceptable color alteration.

Acknowledgements

The author would like to thank FGM Dental Products for the donation of the bleaching gel used in this investigation. The authors also declare that they have no conflict of interest.

6 REFERENCES

1. Nascimento LSB, Lima SNL, Ferreira MC, Malheiros AS, Tavares RRJ (2018) Avaliação do impacto do clareamento dental na qualidade de vida de pacientes adultos. *J Health NPEPS* 3:392-401. <https://doi.org/10.30681/25261010>
2. Estay J, Angel P, Bersezio C, Tonetto M, Jorquera G, Pena M, Fernandez E (2020) The change of teeth color, whiteness variations and its psychosocial and self-perception effects when using low vs. high concentration bleaching gels: a one-year follow-up. *BMC Oral Health* 20:255. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01244-x>
3. Zaugg FL, Molinero-Mourelle P, Abou-Ayash S, Schimmel M, Brägger U, Wittneben JG (2022) The influence of age and gender on perception of orofacial esthetics among laypersons in Switzerland. *J Esthet Restor Dent* 34:959-968. <https://doi:10.1111/jerd.12906>
4. Pegoraro C, De Oliveira N, Diniz L, Svizero N, D'alpino P (2011) Influência dos agentes clareadores na resistência adesiva de restaurações com compósitos aos tecidos dentários: momento atual. *Rev Dent online* 10:11-15.
5. Lopes MB, Felizardo KR, Brigantini, LC, Berger SB, Laxe LAC, Salvio LA (2019) Influência de antioxidantes na resistência de união de substratos clareados. *HU Revista* 44:63-76. <https://doi.org/10.34019/1982-8047.2018.v44.13935>

6. Didier UV, Batista A, Dantas UA, Montenegro FR, Carvalho R, Barros F, Silvio HC (2013) Influence of hydrogen peroxide-based bleaching agents on the bond strength of resin–enamel/dentin interfaces. *Int J Adhes Adhes* 47:41-45. <https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2013.08.009>
7. Halabi S, Matsui N, Nikaido T, Abdo A, Burrow MF, Tagami J (2020) Effect of two bleaching regimens on enamel bonding performance. *Dent Mater* 39:984-991. <https://doi:10.4012/dmj.2019-239>
8. Cavalli V, Carvalho RM, Giannini M (2005) Influence of carbamide peroxide-based bleaching agents on the bond strength of resin-enamel/dentin interfaces. *Braz Oral Res* 19:23-29. <https://doi:10.1590/s1806-83242005000100005>
9. Braz R, Patrício CE, Ribeiro AI, Guênes GM, Dantas DC, Montes MA, Feitosa DA (2011) Influence of antioxidants on stress of bonding agents in recently whitened teeth. *Acta Odontol Latinoam* 24:252-7.
10. Gureski, A; De Lima, C; Benghi, T (2016) Avaliação da atividade antioxidante in vitro de drimys brasiliensis miers. *Anais do XI Evinci*, v. 2, n. 1.
11. Saldanha LA (2005) Avaliação da atividade antioxidante in vitro de extratos de erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia Sinensis*). Dissertação, Universidade de São Paulo
12. Wang LF, Park SC, Chung JO, Baik JH, Park SK (2004) The compounds contributing to the greenness of green tea. *J Food Sci* 69:301–305. <https://doi:10.1111/j.1365-2621.2004.tb09894.x>
13. Chan EW, Soh EY, Tie PP, Law YP (2011) Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia*

sinensis. *Pharmacognosy Res.* 3:266-72. <https://doi:10.4103/0974-8490.89748>

14. Brock T, Soveral AB, Dieterich Junior JR, Becker AL, Fávero E, de Oliveira AJ, Bertol CD, Benetti P, De Carli JP (2024) Effect of antioxidants on adhesive bond strength to bleached enamel. *J Dent* 143:104880. <https://doi:10.1016/j.jdent.2024.104880>

15. Brigantini SL, Berger V, Guiraldo S, Gonini JR, Kaneshima A, Lopes R, Felizardo M (2018) Influência do Antioxidante Resveratrol nas Propriedades Físicas e Mecânicas do Esmalte Clareado. *J Health Sci* 19: 170.

16. Mena-Serrano A, Granda-Albujá MG, Naranjo J, Fierro EA, Favoreto MW, Loguercio AD, Reis A (2023) Effects of the application of sodium ascorbate after in-office bleaching on the penetration of hydrogen peroxide, color change, and microtensile bond strength. *Braz Dent J* 34:87-94. <https://doi:10.1590/0103-6440202305214>

17. Moreira JC, Gallinari Mde O, Rahal V, Fagundes TC, Santos PH, Moura MR, Briso AL (2016) Effect of Dental Pigmentation Intensity on the Transenamel and Transdental Penetration of Hydrogen Peroxide. *Braz Dent J* 27:399-403. <https://doi:10.1590/0103-6440201600838>

18. Luo MR, Cui G, Rigg B (2001) The Development of the CIE 2000 Colour-Difference Formula: CIEDE2000. *Color Res Appl* 26:340-350.

19. Sharma G, Wu W, Dalal EN (2005) The CIEDE2000 color-difference formula: implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. *Color Res Appl* 30:21-30.

20. Paravina RD, Ghinea R, Herrera LJ, Bona AD, Igiel C, Linninger M, Sakai M, Takahashi H, Tashkandi E, Perez Mdel M

(2015) Color difference thresholds in dentistry. *J Esthet Restor Dent* 1:1-9. <https://doi:10.1111/jerd.12149>

21. Pérez Mdel M, Ghinea R, Rivas MJ, Yebra A, Ionescu AM, Paravina RD, Herrera LJ (2016) Development of a customized whiteness index for dentistry based on CIELAB color space. *Dent Mater* 32:461-367. <https://doi:10.1016/j.dental.2015.12.008>

22. Pérez MM, Herrera LJ, Carrillo F, Pecho OE, Dudea D, Gasparik C, Ghinea R, Bona AD (2019) Whiteness difference thresholds in dentistry. *Dent Mater* 35:292-297. <https://doi:10.1016/j.dental.2018.11.022>

23. Alkahtani R, Stone S, German M, Waterhouse P (2020) A review on dental whitening. *J Dent* 100:103423. <https://10.1016/j.jdent.2020.103423>

24. Cavalli V, Reis AF, Giannini M, Ambrosano GM (2001) The effect of elapsed time following bleaching on enamel bond strength of resin composite. *Oper Dent* 26:597-602.

25. Zanolla J, Marques A, da Costa DC, de Souza AS, Coutinho M (2017) Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis. *Aust Dent J* 62:276-282. <https://doi:10.1111/adj.12494>

26. Rodríguez-Martínez J, Valiente M, Sánchez-Martín MJ (2019) Tooth whitening: From the established treatments to novel approaches to prevent side effects. *J Esthet Restor Dent* 31:431-440. <https://doi:10.1111/jerd.12519>

27. Atalayin C, Armagan G, Konyalioglu S, Kemaloglu H, Tezel H, Ergucu Z, Keser A, Dagci T, Onal B (2015) The protective effect of resveratrol against dentin bonding agents-induced cytotoxicity. *Dent Mater J* 34:766-73. <https://doi:10.4012/dmj.2015-079>

28. Bansal M, Kaur P, Cyriac AR, Kadian N, Jaiswal P, Rathee K (2019) Impact of Different Antioxidants on the Bond Strength of Resinbased Composite on Bleached Enamel-An In Vitro Study. *J Contemp Dent Pract* 20:64-70.
29. Rahman H, Ansari MI, Khangwal M, Solanki R, Mansoori S (2021) Comparative evaluation of 6% cranberry, 10% green tea, 50% aloe vera and 10% sodium ascorbate on reversing the immediate bond strength of bleached enamel: In vitro study. *J Oral Biol Craniofac Res* 11:107-112. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2020.12.007>
30. Venturini CD, Merlo S, Souto AA, Fernandes Mda C, Gomez R, Rhoden CR (2010) Resveratrol and red wine function as antioxidants in the nervous system without cellular proliferative effects during experimental diabetes. *Oxid Med Cell Longev* 3:434-441. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.6.14741>
31. Wang D, Xu Y, Liu W (2008) Tissue distribution and excretion of resveratrol in rat after oral administration of Polygonum cuspidatum extract (PCE). *Phytomedicine* 15:859-866.
32. Campos MIC, Campos N, Vitral CF (2008) O Uso de Dentes Bovinos como Substitutos de Dentes Humanos em Pesquisas Odontológicas: Uma Revisão da Literatura. *Pesqui Bras Odontopediatria Clín Integr* 8:127-132.
33. Kury M, Perches C, da Silva DP, André CB, Tabchoury CPM, Giannini M, Cavalli V (2020) Color change, diffusion of hydrogen peroxide, and enamel morphology after in-office bleaching with violet light or nonthermal atmospheric plasma: An in vitro study. *J Esthet Restor Dent* 32:102-112. <https://doi.org/10.1111/jerd.12556>
34. Sulieman M, Addy M, Rees JS (2003) Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching. *J Dent* 31:415-422. <https://doi.org/10.1016/s0300-5712>

35. Schmeling M, Maia HP, Baratieri LN (2012) Opalescence of bleached teeth. *J Dent* 1:35-39. <https://doi:10.1016/j.jdent.2012.01.011>
36. Della Bona A, Pecho OE, Ghinea R, Cardona JC, Paravina RD, Perez MM (2019) Influence of Bleaching and Aging Procedures on Color and Whiteness of Dental Composites. *Oper Dent* 44:648-658. <https://doi:10.2341/18-209-L>
37. Pecho OE, Ghinea R, Alessandretti R, Pérez MM, Della Bona A (2016) Visual and instrumental shade matching using CIELAB and CIEDE2000 color difference formulas. *Dent Mater* 32:82-92. <https://doi:10.1016/j.dental.2015.10.015>
38. Da Silva V, Da Silva S, Pecho OE, Bacchi A (2018) Influence of composite type and light irradiance on color stability after immersion in different beverages. *J Esthet Restor Dent* 30:390-396. <https://doi:10.1111/jerd.12383>
39. Sasaki RT, Flório FM, Basting RT (2009) Effect of 10% sodium ascorbate and 10% alpha-tocopherol in different formulations on the shear bond strength of enamel and dentin submitted to a home-use bleaching treatment. *Oper Dent* 34:746-752.
40. Degirmenci A, Emine K, Degirmenci U, Ozcan M (2020) Evaluation the Effect of Different Antioxidants Applied After Bleaching on Teeth Color Stability. *Braz Dent Sci* 23:1-9.