



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

DANIELLE FERREIRA SOBRAL DE SOUZA

**EFEITO DA ESTABILIDADE ACELERADA NAS PROPRIEDADES
FÍSICAS, QUÍMICAS E MECÂNICAS DE GÉIS CLAREADORES
EXPERIMENTAIS CONTENDO DIFERENTES POLÍMEROS
BIOADESIVOS**

**EFFECT OF ACCELERATED STABILITY ON THE PHYSICAL,
CHEMICAL, AND MECHANICAL PROPERTIES OF EXPERIMENTAL
BLEACHING GELS CONTAINING DIFFERENT BIOADHESIVE
POLYMERS**

Piracicaba

2021

DANIELLE FERREIRA SOBRAL DE SOUZA

**EFEITO DA ESTABILIDADE ACELERADA NAS PROPRIEDADES
FÍSICAS, QUÍMICAS E MECÂNICAS DE GÉIS CLAREADORES
EXPERIMENTAIS CONTENDO DIFERENTES POLÍMEROS
BIOADESIVOS**

**EFFECT OF ACCELERATED STABILITY ON THE PHYSICAL,
CHEMICAL, AND MECHANICAL PROPERTIES OF EXPERIMENTAL
BLEACHING GELS CONTAINING DIFFERENT BIOADHESIVE
POLYMERS**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do Título de Doutora em Clínica Odontológica, na Área de Dentística.

Thesis presented to the Piracicaba Dental School of the University of Campinas in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Doctor in Dental Clinic in Operative Dentistry Area.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a Débora Alves Nunes Leite Lima

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pela aluna Danielle Ferreira Sobral de Souza e orientada pela Prof.^a Dr.^a Débora Alves Nunes Leite Lima.

Piracicaba

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

So12e Sobral-Souza, Danielle Ferreira, 1990-
Efeito da estabilidade acelerada nas propriedades físicas, químicas e mecânicas de géis clareadores experimentais contendo diferentes polímeros bioadesivos / Danielle Ferreira Sobral de Souza. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Débora Alves Nunes Leite Lima.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Dentes - Clareamento. 2. Peróxido de hidrogênio. 3. Peróxido de carbamida. 4. Polímeros. 5. Espessantes. I. Lima, Débora Alves Nunes Leite, 1978-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Effect of accelerated stability on the physical, chemical, and mechanical properties of experimental bleaching gels containing different bioadhesive polymers

Palavras-chave em inglês:

Teeth - Bleaching
Hydrogen peroxide
Carbamide peroxide
Polymers
Thickeners

Área de concentração: Dentística

Titulação: Doutora em Clínica Odontológica

Banca examinadora:

Débora Alves Nunes Leite Lima [Orientador]
Cristiane Rumi Fujiwara Yanikian
Alexandre Batista Lopes do Nascimento
José Flávio Affonso de Almeida
Flávio Henrique Baggio Aguiar

Data de defesa: 03-11-2021

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-6147-964X>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/2093443806419463>



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 03 de novembro de 2021, considerou a candidata DANIELLE FERREIRA SOBRAL DE SOUZA aprovada.

PROF^a. DR^a. DÉBORA ALVES NUNES LEITE LIMA

PROF^a. DR^a. CRISTIANE RUMI FUJIWARA YANIKIAN

PROF. DR. ALEXANDRE BATISTA LOPES DO NASCIMENTO

PROF. DR. FLAVIO HENRIQUE BAGGIO AGUIAR

PROF. DR. JOSÉ FLÁVIO AFFONSO DE ALMEIDA

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

“É fundamental diminuir a distância entre o que se diz e o que se faz, de tal forma que, num dado momento, a tua fala seja tua prática.”

(Paulo Freire)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, assim como toda minha trajetória do Mestrado e Doutorado aos meus amados Pais **Maria Aparecida (Cida) e Flávio** e ao meu noivo **Gleyson Amaral**.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha querida orientadora, Prof.^a Dr.^a **Débora Alves Nunes Leite Lima**, a qual sou muito grata pelo seu aceite em me orientar desde o mestrado em 2017. Desde lá viemos traçando juntas uma história de muito aprendizado, parceria, amizade, produções de trabalhos, estágios, clínicas, pré-clínicas e congressos compartilhados. Gostaria de lhe agradecer por toda a orientação, pelo incentivo, pelas oportunidades profissionais a mim confiadas, pelos conselhos e pelas histórias de vida compartilhadas. Fiquei muito feliz e honrada em saber que eu fui durante esse tempo de convivência a pessoa responsável por trazer boas lembranças a você do nosso Recife-Pernambuco. Sem sombra de dúvidas, você foi fundamental para o meu crescimento profissional e amadurecimento na Pós-graduação. Sendo assim, deixo o meu sincero agradecimento, respeito e admiração por todos esses anos de convivência.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, na pessoa do seu Magnífico Reitor Prof. Dr. **Antonio José de Almeida Meirelles**.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP, na pessoa de seu Diretor Prof. Dr. **Francisco Haiter Neto** e seu Diretor Associado o Prof. Dr. **Flávio Henrique Baggio Aguiar**.

À Prof.^a Dr.^a **Karina Gonzales Silvério Ruiz**, Coordenadora Geral do Programa de Pós-Graduação e do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da FOP – UNICAMP.

Aos Professores do Departamento de Odontologia Restauradora, Área de Dentística – FOP/UNICAMP; Prof. Dr. **Luís Roberto Marcondes Martins**, Prof.^a Dr.^a **Giselle Maria Marchi Baron**, Prof.^a Dr.^a **Débora Alves Nunes Leite Lima** (minha orientadora), Prof. Dr. **Flávio Henrique Baggio Aguiar**, Prof. Dr. **Marcelo Gianinni**, Prof.^a Dr.^a **Vanessa Cavalli Gobbo**, deixo o meu sincero agradecimento por toda troca de conhecimento, oportunidades e experiências vividas nesses anos de pós-graduação, nas clínicas, pré-clínicas, laboratórios e nas disciplinas presenciais e virtuais.

Ao Prof. Dr. **José Carlos Toledo Junior**, do Departamento de Química da Universidade de São Paulo – USP Ribeirão Preto e ao aluno de Doutorado **André Luís Condeles**, por todo suporte e disponibilidade para a realização de parte dos testes deste trabalho e também por todo acolhimento em me receber. Sem sombra de dúvidas aprendi muito com vocês.

Aos Docentes Prof. Dr. **Luís Roberto Marcondes Martins**, Prof. Dr. **Rafael Leonardo Xediek Consani**, Prof.^a Dr.^a **Laura Nobre Ferraz** e Prof. Dr. **Mário Alexandre Coelho Sinhoreti**, que prontamente aceitaram compor a minha banca de Qualificação, deixo aqui meu agradecimento sincero.

Aos funcionários da Coordenadoria de Pós-graduação da FOP – UNICAMP **Ana Paula Gonzalez**, **Érica Sinhoreti**, **Leandro Viganó** e **Raquel Quintana**, por todo o auxílio prestado durante o período da pós-graduação e especialmente nesta reta final. Foram muitas trocas de e-mails, solicitações e dúvidas, mas tudo sempre resolvido com muita atenção, educação e cuidado. Agradeço muito a essa equipe.

Ao Biólogo e Técnico de Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura da FOP – UNICAMP **Adriano Luís Martins**, pelos ensinamentos, conversas e auxílio durante o uso do Microscópio eletrônico de varredura, para os diversos trabalhos desenvolvidos durante a Pós-graduação.

Ao Técnico de Laboratório de Dentística da FOP – UNICAMP **Wanderlei Francisco Vieira**, obrigada pelas conversas, serviços e auxílios prestados dentro do laboratório durante a realização de trabalhos que desenvolvi neste local.

As queridas funcionárias da limpeza, **Lucinda (Lu)**, **Cristiane (Cris)**, **Selma**, ao funcionário **Sr. Euclides** e a funcionária da portaria **Raquel** deixo meu sincero agradecimento por toda alegria que vocês sempre me receberam na faculdade. Muitas vezes o simples “bom dia” de vocês deixava o meu dia mais feliz. Agradeço a amizade e todo cuidado ao longo dos anos.

Aos Docentes Prof. Dr. **Márcio Ajudarte Lopes**; Prof. Dr. **Pablo Agustin Vargas** e Prof. Dr. **Alan Roger Santos Silva** da área de Semiologia e Patologia Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba e suas respectivas esposas, **Silvia**, **Paulinha** e **Carol**, pelo acolhimento, o cuidado e a amizade comigo e com o **Gleyson Amaral**. E obrigada também por dividirem momentos especiais de suas famílias conosco. Saibam que temos muita gratidão a vocês e que os levaremos em nossos corações.

A querida amiga e Prof.^a Dr.^a **Thayla Hellen Nunes Gouveia**, que desde o início do meu mestrado tivemos uma conexão muito forte. Isso foi suficiente para formar essa amizade e parceria linda que temos. Obrigada por todos os momentos que vivemos dentro e fora da FOP. Gratidão a cada conversa que temos e conselhos que trocamos, você é uma amiga muito especial. Deixo aqui minha gratidão, admiração e respeito.

As minhas queridas e eternas “Deboretas” **Iana Maria**, **Raíssa Garcia** e **Mariângela Guanipa**, deixo meu agradecimento em dividir esses anos de Doutorado com esse grupo tão unido e coeso. Foram momentos de muito aprendizado e amizade, sentirei saudades de todas, mas tenho certeza que a amizade e parceria científica formadas nesses anos se estenderão para a vida. Desejo a vocês uma linda caminhada na Pós-graduação e contem sempre comigo.

Aos amigos queridos da antiga turma de Doutorado **Bruna Guerra**, **Renata Pereira**, **Rodrigo Lins**, **Maicon Sebold**, **Mariana Flor** e **Mayara Noronha** vocês foram muito importantes nessa caminhada, agradeço por todos os dias que dividimos clínicas, pré-clínicas,

laboratório, conhecimentos e também os momentos de café e divertimento. Cada um de vocês tem um espaço no meu coração.

A amiga **Marcela Ferretti**, obrigada pela sua amizade, parceria e por ter sido minha dupla na especialização da Dentística. Aprendi muito com você. Tenho certeza que a amizade que construímos se estenderá além dos muros da FOP.

Ao meu presente em forma de gente que ganhei no primeiro ano do doutorado, **Beatriz Sahadi (Biazinha)**, obrigada por ser essa amiga especial que faz grande diferença na pós-graduação. Te admiro muito e guardo com carinho todas as nossas conversas, trocas de conhecimentos e experiências vividas. Sempre que voltar ao Congresso do GBMD (Grupo Brasileiro de Materiais Dentários) irei lembrar de você e de tudo que vivemos no último que participamos, em 2019. Sem sombra de dúvidas esse congresso estreitou e fortaleceu nossa amizade. Amo muito você e te levarei pra sempre com muito carinho em meu coração.

A querida amiga **Joyce Lima**, obrigada por sua amizade, parcerias de trabalho, torcidas, apoio e por todos os momentos que dividimos dentro e fora da FOP. Não sabemos para onde a vida nos levará, mas sabemos que queremos continuar compartilhando desta amizade independentemente de onde estivermos. Aqui o sentimento é verdadeiro e recíproco, independente de tempo e distância.

A **Juliana Pucci**, grande amiga que tive o prazer de conhecer durante a pós graduação. Passamos muitos momentos juntas que estreitaram e firmaram nossos laços de carinho e amizade. Te agradeço por todos os momentos compartilhados, estarei sempre torcendo por você.

Ao querido amigo **Maicon Sebold**, você chegou em um momento muito especial para mim e me ajudou quando menos você esperava. Sendo assim, só posso agradecer o presente que é ter sua amizade sincera e te dizer que conte sempre comigo para o que precisar.

Ao **Jorge Soto (Jorginho)**, agradeço demais a sua amizade e acima de tudo sua humildade em sempre estar disposto a ajudar e ensinar tudo que você sabe. Aprendi demais com você nesses anos de pós-graduação, obrigada por tanto.

A minha turma de Doutorado **Janaína Damasceno, Joyce Lima, Marcela Ferretti, Camila Coelho, Enrico Angelo, Simone Oliveira, Jorge Soto, Mariangela Guanipa, Priscila Regis, Eduardo Castro, Matheus Kury e Amanda Willers**, obrigada pela convivência diária agradável e pelas disciplinas divididas ao longo dos anos. Com certeza aprendi muito com cada um de vocês

Agradeço também as meninas da turma de Mestrado **Iana Gonçalves, Raíssa Garcia, Beatriz Sahadi, Juliana Pucci, Ana Souza, Lara Christie, Gabriela Cerqueira, Lorena Oliveira, Bruna Resende, Isabela Gontijo, Amanda Guerra e Marina Rodrigues**, que tive o prazer de ensinar e aprender diariamente com elas.

A todos os amigos da **Pós-graduação** que contribuíram para que a caminhada fosse mais leve e divertida em especial aos do Programa de Estomatopatologia, **Anna Araújo, Cinthia Lopez, Felipe Martins, Jamille Sá, Rodrigo Soares, Paola Aristizabal, Vivian Wagner, Lauren Schuch, Carla Rodrigues, Amanda Leite, Maria Eduarda, Matheus Linares e Reydson**.

Aos alunos de graduação **Maryna Vieira, Sarah Pimenta, André Yamashiro e Marina Paparotto Lopes** agradeço por terem aceito minha orientação na Iniciação Científica de vocês. Tenham certeza que todos vocês me ensinaram bastante. Agradeço primeiramente a Prof.^a **Débora Lima**, que me confiou essa oportunidade e aos alunos, os quais eu tive o privilégio de apresentar o mundo da pesquisa dentro da área de Dentística.

Aos alunos intercambistas **Ana Valentina Castillo (Anita) e Leonardo Zepeda (Leo)** que tive o prazer de coorientar o Trabalho de conclusão de curso de vocês aqui no Brasil, deixo o meu muito obrigada por ter tido essa oportunidade de aprender tanto com vocês. Foi uma experiência incrível.

Aos meus queridos Professores de Graduação da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – que foi e sempre será minha primeira casa. **Prof.^a Dr.^a Hilcia Mezzalira, Prof. Dr. Alexandre Nascimento, Prof.^a Dr.^a Márcia Vendiciano, Prof. Dr. Arnaldo Caldas, Prof. Dr. Thadeu Pinheiro, Prof.^a Dr.^a Renata Pedrosa Guimarães, Prof. Dr. Claudio Heliomar, Prof. Dr. Paulo Fonseca, Prof.^a Dr.^a Daene Tenório, Prof.^a Dr.^a Lúcia Beatrice, Prof.^a Dr.^a Flávia Ramos, Prof.^a Dr.^a Maria Luiza Pontual, Prof.^a Dr.^a Cátia Guerra, Prof.^a Dr.^a Elizabeth Ponzi, Prof.^a Dr.^a Renata Cimões, Prof.^a Mirella Emerenciano, Prof.^a Dr.^a Cintia Katz, Prof.^a Dr.^a Silvana Orestes Cardoso, Prof.^a Dr.^a Andrea Freire, Prof.^a Dr.^a Liriane Baratella, Prof.^a Dr.^a Juliana Pinto, Prof.^a Dr.^a Goretti Soares, Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Araújo, Prof.^a Dr.^a Paloma Genú e Prof. Dr. Valder Gomes**. Agradeço a vocês e a todos os outros Professores que compõe o corpo docente da UFPE por todo o ensinamento durante a minha formação enquanto Cirurgiã – Dentista. A vocês em especial deixo minha profunda gratidão por serem exemplos de profissionais e pessoas que me inspiraram a seguir a carreira

de Docência. Cada um contribuiu para que eu chegasse até aqui e hoje consigo ver em mim um pouquinho de vocês.

Aos meus queridos amigos da graduação **Priscilla Nascimento, Paulo Cardoso, Dilliane Estima, Ana Carolina Lemos, Ellen Cristine e Danilo Almeida** que nos aproximamos no início do curso e continuamos juntos até hoje. Obrigada pela amizade de vocês, é sempre bom voltar a Recife e ver que apesar da distância nossa amizade continua a mesma e que a torcida pela felicidade é recíproca.

Ao **Gleyson Amaral**, meu noivo, meu amor, melhor amigo e maior incentivador diário. Fazer Pós-graduação em Piracicaba só foi possível graças ao suporte que você me deu, sendo assim, essa conquista é nossa! Mas, não te agradeço apenas por isso, te agradeço também por tudo que vivemos e conquistamos juntos aqui em Piracicaba. Te agradeço pelo seu amor, sua paciência, seu cuidado e pelo nosso mascote que amamos tanto, nosso **Theo**. Ele que faz nossos dias mais felizes, mesmo em dias mais difíceis. Amo muito vocês.

Ao meu amado **Theo**, agradeço por todo despertar do dia cheio de felicidade e alegria, por sua companhia fiel, por seu amor puro e incondicional. Quem me conhece sabe da sua importância em minha vida. Te amo demais e sou eternamente grata por te ter como filho nessa jornada da vida.

Aos meus amados pais **Maria Aparecida Ferreira de Melo e Flávio Roberto Sobral de Souza**, aos meus irmãos **Maria da Conceição, Maria Cecília, Abílio Neto e Maria Eduarda**, aos meus sobrinhos **Rodrigo, João Vinicius, Carolina, Isabelle, Arthur e Matheus** e a todos os outros familiares, agradeço por me amarem, me apoiarem e por sempre compreenderem a minha ausência nesses anos de Pós-graduação. A saudade sempre foi muito grande, mas também sempre soubemos que era por uma causa nobre. Esse título não é só meu, faço questão de dividi-lo com vocês. Meus queridos pais, muito obrigada por sempre me incentivarem a buscar meus sonhos, por fazerem todo o possível para me ver feliz. Amo vocês incondicionalmente.

Aos meus Avós **Genil Soledade (*in memoriam*)**, **Maria do Rosário Sobral (*in memoriam*)**, **Abilio Ferreira (*in memoriam*)** e **José Pedro Soares (*in memoriam*)**, agradeço todo amor incondicional e torcida que sempre tiveram por mim. Fica a imensa saudade de todos os momentos que vivemos, mas também fica a certeza de que vocês são meus anjos de luz e que me acompanham sempre. Amo eternamente vocês! E obrigada pelas lembranças mais doces e felizes de minha infância.

As minhas amigas do Colégio Atual, **Márcia Mágero, Luana Mariz, Yasmin Vilaça, Daiana Vieira, Pâmmela Santos, Rosângela Mendes, Anália Lima e Marina Alves** agradeço essa amizade sincera que temos desde a época de escola e que nem o tempo ou distância física é capaz de abalar/apagar. Mesmo longe e cada uma ter trilhado um caminho profissional diferente, sempre estamos torcendo e vibrando pelas escolhas e conquistas uma das outras. Amo todas vocês!

A minha amada e adorável vizinha **Maria Chissini**, mais carinhosamente conhecida por **Dona Maria**, deixo minha eterna gratidão por ter sido minha mãezinha aqui em Piracicaba desde 2019. A senhora é o melhor presente que recebi. Obrigada por todo cuidado de mãe que me destes nesses anos e por todas as mensagens de “Bom dia”, que me envia diariamente e que sempre faço questão de responder. Agradeço também a **Família Chissini (Alex, Ingid, Nina e Tili)**, vocês todos ficaram guardado em meu coração com as melhores lembranças compartilhadas.

Agradeço a Piracicaba, essa cidade que tenho um amor e respeito imenso, uma vez que aqui comecei a formar a minha família junto ao **Gleyson** e ao **Theo**. Juntos vivemos experiências incríveis, amadurecemos profissional e pessoalmente. Sendo assim, deixo o meu agradecimento. Pira ficará para sempre em nossas melhores recordações.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que indiretamente contribuíram de alguma maneira para que chegasse até aqui.

Obrigada!

RESUMO

Objetivo: Avaliar as propriedades físico-químicas (peso, pH, quantificação de peróxido de hidrogênio) e mecânicas (perfil de textura e testes de reologia) de um gel clareador experimental à base de polímero bioadesivo Aristoflex® AVC, após teste de estabilidade acelerado. **Métodos:** Um total de 300 seringas de gel clareador de peróxido de carbamida foram divididas em 5 grupos (n = 60): Whiteness perfect® 10% - FGM (WP); Peróxido de carbamida 10% com Aristoflex (PCa); Peróxido de carbamida 10% com Carbopol (PCc); Espessante Aristoflex (A); Espessante Carbopol (C). Foi realizado o teste de estabilidade acelerada, de acordo com os seguintes requisitos: em estufa a 40 °C e 75% de umidade por 1, 3 e 6 meses de armazenamento. E tendo como controle (baseline), os géis armazenados, por 7 dias, em refrigerador a 5 °C e 25% de umidade. As variáveis analisadas para cada grupo e tempo foram: peso (n=15), pH (n=5), quantificação de peróxido de hidrogênio (n=5), perfil de textura (n=5) e teste de reologia (n=3). Após a análise exploratória dos dados foram definidas as metodologias estatísticas mais adequadas ao delineamento e a distribuição de cada variável. Para os resultados de pH ANOVA *two-way* e o teste de Tukey foram aplicados. Os dados de peso foram analisados usando um modelo misto para medidas repetidas ao longo do tempo e o teste de Tukey-Kramer. Para reologia foram utilizados, ANOVA *one-way* e o teste de Tukey. Modelos lineares generalizados foram usados para os dados de quantificação de peróxido e para os dados do perfil de textura. Foi considerado nível de significância de 5% para todas as análises. **Resultados:** Os géis experimentais PCa e PCc apresentaram os maiores valores de pH quando comparados aos demais. Além disso, houve perda de peso após 3 e 6 meses de armazenamento para PCa e PCc ($p < 0,05$). Na quantificação do peróxido de hidrogênio, o grupo WP apresentou os maiores valores ao longo do tempo ($p < 0,0001$), apresentando perda significativa apenas a partir do 3º mês. Já o PCa e o PCc apresentaram redução na quantificação a partir do 1º mês. **Conclusões:** A temperatura e a umidade influenciaram diretamente no conteúdo ativo e nas propriedades dos géis clareadores. Além disso, a presença de componentes independentemente de espessantes, como estabilizantes, no gel comercial permitiu maior estabilidade ao longo do tempo.

Palavras-chaves: Clareamento dental. Peróxido de hidrogênio. Peróxido de carbamida. Polímeros. Espessantes.

ABSTRACT

Aim: To evaluate the physical-chemical (weight, pH, hydrogen peroxide quantification) and mechanical (texture profile and rheology tests) properties of an experimental bleaching gel based on Aristoflex® AVC bioadhesive polymer, after accelerated stability test. **Methods:** A total of 300 syringes of bleaching gels were divided into 5 groups (n=60): Whiteness perfect® 10% - FGM (WP); Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (CPa); Carbamide peroxide 10% with Carbopol (CPc); Aristoflex thickener (A); Carbopol thickener (C). According to the following requirements, the accelerated stability test was carried out: in an incubator at 40 °C and 75% humidity for 1, 3, and 6 months of storage. And having as control (baseline), the gels are stored in a refrigerator at 5 °C and 25% humidity, for seven days. The variables analyzed for each group and time were: weight (n=15), pH (n=5), quantification of hydrogen peroxide (n=5), texture profile (n=5) and rheology test (n= 3). After the exploratory analysis of the data, the most appropriate statistical methodologies for the design and distribution of each variable were defined. Two-way ANOVA and Tukey's test were applied to pH. Weight data were analyzed using a mixed model for repeated measures over time and the Tukey-Kramer test. For rheology, one-way ANOVA and Tukey's test were used. Generalized linear models were used for peroxide quantification data and texture profile data. A significance level of 5% was considered for all analyses. **Results:** The experimental gels CPa and CPc presented the highest pH values when compared to the others. In addition, there was weight loss after 3 and 6 months of storage for CPa and CPc ($p < 0.05$). In the quantification of hydrogen peroxide, the WP group showed the highest values over time ($p < 0.0001$), with a significant loss only after the 3rd month. On the other hand, CPa and CPc showed a reduction in quantification from the 1st month. **Conclusions:** Temperature and humidity directly influenced the active content and properties of bleaching gels. In addition, the presence of components regardless of thickeners, such as stabilizers, in the commercial gel allowed for greater stability over time.

Keywords: Tooth whitening. Hydrogen peroxide. Carbamide peroxide. Polymers. Thickeners.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 ARTIGO	20
2.1 – Effect of accelerated stability on the physical, chemical, and mechanical properties of experimental bleaching gels containing different bioadhesive polymers	20
3 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS*	35
APÊNDICE	37
Apêndice 1 – Metodologia detalhada	37
ANEXOS	42
Anexo 1 - Verificação de originalidade e prevenção de plágio por meio do software Turnitin	42
Anexo 2 – Comprovação da Submissão do Artigo.....	43
Anexo 3 – Certificado de revisão do manuscrito.....	44

1 INTRODUÇÃO

O clareamento dental com géis à base de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou peróxido de carbamida ($CH_6N_2O_3$) é rotineiramente realizado pelos cirurgiões dentistas e é considerado um tratamento conservador por promover uma mudança de coloração dental de maneira química, sem desgaste da estrutura dental (Borges et al. 2011; Sasaki et al. 2015; de Geus et al. 2016).

Existem duas técnicas de clareamento para dentes com vitalidade pulpar, que podem ser aplicadas de maneira combinada ou separadas, sendo elas: o clareamento de consultório, realizado em ambiente clínico com géis de alta concentração; e o clareamento caseiro/supervisionado, no qual o paciente irá utilizar um gel clareador de baixa concentração em moldeira individualizada, confeccionada pelo cirurgião dentista, ou com moldeiras pré-fabricadas (Joiner 2006; D'Arce et al. 2013; de Geus et al. 2016).

Entretanto, alguns efeitos indesejáveis durante e após o tratamento clareador têm sido descritos na literatura, tais como alterações da morfologia superficial, redução da microdureza e perda de minerais (Basting et al. 2001; Pinto et al. 2004; Sasaki et al. 2009; Cavalli et al. 2011; Zeczkowski et al. 2015). Isso ocorre devido a ação dos radicais de peróxido de hidrogênio que atuam de maneira inespecífica, reagindo tanto com as duplas ligações de carbono contida nas moléculas cromógenas que escurecem os dentes como também com demais estruturas do dente (Joiner 2006; Kwon and Wertz 2015; Públio et al. 2016). Também foi observado efeitos desses radicais na matriz orgânica e inorgânica do esmalte e dentina (Basting et al. 2001, 2005; Pinto et al. 2004; Cavalli et al. 2011; Sa et al. 2013; Gouveia et al. 2019).

Contudo, alguns estudos têm demonstrado que estas alterações, sobretudo, a redução da microdureza do esmalte e da dentina podem não estar relacionadas somente a ação dos radicais livres de peróxido, mas também relaciona-se com os outros constituintes presentes na formulação dos géis clareadores, como os espessantes (Basting et al. 2005; Oliveira et al. 2007; Públio et al. 2016; Gouveia et al. 2019).

Um dos espessantes mais utilizado na composição dos géis clareadores caseiros/supervisionado é o polímero carboxipolimetileno (carbopol) (Basting et al. 2005; Soares et al. 2006; Alqahtani 2014; Kwon and Wertz 2015; do Carmo Públio et al. 2019; Gouveia et al. 2019). Este espessante possui natureza ácida, sendo derivado de um ácido carboxílico. Para seu uso em géis clareadores, este polímero deve ser tamponado a um pH neutro para ser um agente inerte. Estudos de Basting et al. (2005) e Gouveia et al. (2019),

afirmam que o carbopol dificultou o processo de remineralização, inibindo crescimento cristalino do esmalte, após o tratamento clareador, em todos os grupos que o continha, mostrando uma significativa redução na microdureza. Este fato é devido à sua elevada capacidade de ligação com o cálcio, o que consequentemente impossibilitou uma provável remineralização pelos minerais presente na saliva artificial (Ávila et al. 2017; Gouveia et al. 2019). Essa interação com a superfície dentária, por meio de ligações, é denominada capacidade bioadesiva de um polímero (Ávila et al. 2017). Além disso, acredita-se que o carbopol não apresenta uma estabilidade de pH durante todo o tempo do tratamento clareador, e que em contato com o meio aquoso (saliva) torna-se ácido, mesmo tendo sido tamponado previamente, e isso pode contribuir ainda mais com o processo de desmineralização dental (Gouveia et al. 2019).

O Aristoflex[®] AVC (co-Polímero do Ácido Sulfônico Acriloildimetiltaurato e Vinilpirrolidona) é um outro espessante, com propriedades opostas ao carbopol, e que tem sido utilizado em formulações de novos géis clareadores (Gouveia et al. 2019). Este espessante é um polímero sintético pré-neutralizado, que permite a formação de géis cristalinos com boa consistência (Ávila et al. 2017; Gouveia et al. 2019). Dentre suas características destacam-se: a estabilidade em pH ácido e formação de gel aniônico, ou seja, não apresenta características iônica, podendo atuar como um agente de viscosidade inerte na formulação. Na indústria farmacêutica é utilizado como estabilizante e agente de consistência para emulsões leves. Na cavidade bucal, tem sido empregado na confecção de dentífricos, nas concentrações de até 1%, mostrando não ter risco toxicológico para a saúde humana (Ávila et al. 2017).

Afim de avaliar a estabilidade química de novos géis clareadores, o teste de estabilidade acelerada é proposto para investigar a degradação química e/ou mudanças físicas do produto em condições extremas de armazenamento. O estudo da estabilidade acelerada de semi-sólidos, característica que se enquadram as formulações clareadoras, é preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA de acordo com a Resolução - nº. 1, de 29 de julho de 2005. Os dados obtidos do estudo podem ser usados para avaliar efeitos químicos e físicos prolongados em condições não aceleradas e estimar a vida útil de um determinado produto (Oriqui et al. 2011; Oriqui and Mori 2013).

Diante disso, justifica-se a necessidade de estudar as interações dos espessantes na formulação de géis clareadores caseiros experimentais, como forma de qualificar e viabilizar novas formulações clareadoras mais biocompatíveis. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar as propriedades físico-químicas (peso, pH, quantificação de peróxido de hidrogênio) e o perfil de textura (dureza, compressibilidade, coesividade, adesividade e elasticidade) do gel clareador

experimental a base do polímero bioadesivo Aristoflex[®] AVC após o teste da estabilidade acelerada por um período total de 6 meses. A hipótese nula testada foi que a estabilidade acelerada não afetaria as propriedades físico-químicas e o perfil de textura de géis clareadores experimentais, independente do polímero bioadesivo utilizado, aristoflex ou carbopol.

Esta Dissertação será apresentada no formato alternativo de acordo com o Art. 2º da Informação CCPG/001/2015, § 2º.

2 ARTIGO

2.1 – Effect of accelerated stability on the physical, chemical, and mechanical properties of experimental bleaching gels containing different bioadhesive polymers

Artigo submetido ao periódico Clinical Oral Investigations (Anexo 2)

Abstract

Objective. To evaluate the physical-chemical (weight, pH, quantification of hydrogen peroxide) and mechanical (texture profile and rheology tests) properties of the experimental bleaching gel based on the bioadhesive polymer Aristoflex® AVC, after accelerated stability testing. **Materials and Methods.** A total of 300 syringes of bleaching gels were divided into 5 groups (n=60): Whiteness perfect® 10% - FGM (WP); Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (CPa); Carbamide peroxide 10% with Carbopol (CPc); Aristoflex thickener (A); Carbopol thickener (C). According to the following requirements and time, the accelerated stability test was performed: in an incubator at 40°C and 75% humidity per 1, 3, and 6 months, and baseline (refrigerator at 5°C and 25% humidity). The variables were analyzed following the statistical tests: Two-way ANOVA and Tukey's test were applied to pH; Weight data were analyzed using a mixed model for repeated measurements over time and the Tukey-Kramer test; One-way ANOVA and Tukey's test analyzed the rheology test; Generalized linear models were used to quantify the peroxide amount and texture profile data. A significance level of 5% was considered. **Results.** The experimental bleaches CPa and CPc had the highest pH values when compared to the others in 6 months. Thickeners A and C did not change the pH, weight, and active content over the accelerated stability times ($p>0.05$). Furthermore, there was weight loss after 3 months of storage for CPa and CPc ($p<0.05$). In the quantification of hydrogen peroxide, the WP group showed the highest values over time ($p<0.0001$), only showing a significant loss after the 3rd month. Meanwhile, CPa and CPc showed a reduction in quantification from the 1st month. **Conclusions.** Temperature and humidity directly influenced the active content and properties of bleaching gels. In addition, the presence of components regardless of thickeners, such as stabilizers, in the commercial gel allowed for greater stability over time. **Clinical Relevance.** The development of experimental bleaching gels for clinical use requires careful testing. Therefore, accelerated stability testing represents a valuable tool in the development and evaluation of cosmetic formulations.

Keywords: Tooth bleaching, carbamide peroxide, hydrogen peroxide, polymers, thickener.

Introduction

Tooth bleaching, with gels based on hydrogen peroxide (H_2O_2) or its precursor, carbamide peroxide ($\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$), is considered a conservative treatment for promoting a chemical change in tooth color. However, some undesirable effects during and after bleaching treatment have been described in the literature, such as changes in surface morphology, reduction of microhardness, and loss of minerals [1–5]. This is due to hydrogen peroxide radicals that not only act on carbon double bonds contained in chromogenic molecules that darken teeth, but also affect the organic and inorganic matrix of enamel and dentin [1, 3, 4–5]. Some studies have shown that these changes, especially the reduction of enamel and dentin microhardness, may be related to the action of peroxide-free radicals and other constituents present in the formulation of bleaching gels, such as thickeners [2, 5–7].

One of the most widely used thickeners in the composition of at-home bleaching gels is the carboxypolymethylene polymer Carbopol [1, 5, 8–10]. This thickener has an acidic nature, being derived from a carboxylic acid. Therefore, this polymer must be buffered to a neutral pH for use as an inert agent in bleaching gels. Basting et al. [1], states that after the bleaching treatment, Carbopol completely inhibited the crystalline growth of enamel in all groups that contained it, showing a significant reduction in microhardness due to its high calcium-binding capacity; this consequently prevented probable remineralization by minerals present in artificial saliva. This interaction of a polymer with the tooth surface, through bonds, is called the bioadhesive capacity [11]. Furthermore, it is speculated that this thickener does not present pH stability during the bleaching treatment, and that in contact with the aqueous medium (saliva), it becomes acidic even when previously buffered, and thus may contribute even more to the dental demineralization process [5, 11].

Another thickener used in experimental bleaching gels is Acryloyldimethyltaurate and Vinylpyrrolidone Sulfonic Acid co-Polymer, called Aristoflex® AVC. Aristoflex is a pre-neutralized synthetic polymer that allows the formation of crystalline gels with good consistency [5]. Essential characteristics of Aristoflex include stability in acidic pH and anionic gel former; that is, it does not have ionic characteristics and can act as an inert viscosity agent in the formulation [5, 11]. In the pharmaceutical industry, it is used as a stabilizer and consistency agent for light emulsions. In the oral cavity, it has been used to manufacture toothpaste, in concentrations of up to 1%, without causing toxicological risk to health [5]. Further, a previous study evaluated and confirmed the bleaching efficacy of experimental gels that contain aristoflex as a thickener [5].

To assess the chemical stability of new bleaching gels, accelerated stability studies are proposed to accelerate the product's chemical degradation and/or physical changes under extreme storage conditions. The data thus obtained can be used to assess prolonged chemical and physical effects under non-accelerated conditions, and estimate a given product's shelf life [12, 13].

Therefore, the need to study the interactions of thickeners in the formulation of at-home bleaching gels is justified to qualify and enable new, more biocompatible bleaching formulations. Thus, the objective of this study was to evaluate the physicochemical properties (weight, pH, quantification of hydrogen peroxide) and the texture profile (hardness, compressibility, cohesiveness, adhesiveness, and elasticity) of the at-home bleaching gel based on the bioadhesive polymer Aristoflex® AVC after the accelerated stability test. The null hypothesis tested was that accelerated stability would not affect the physicochemical properties or the texture profile of at-home bleaching gels, regardless of the bioadhesive polymer used.

Materials and Methods

Composition of Bleaching Gels

A total of 300 syringes of bleaching gels were used in this study and divided into 5 groups, according to each formulation (Figure 1). All products used for the accelerated stability test were newly manufactured and belonged to the same batch. The composition, concentrations of experimental solutions, and polymers are shown in Table 1.

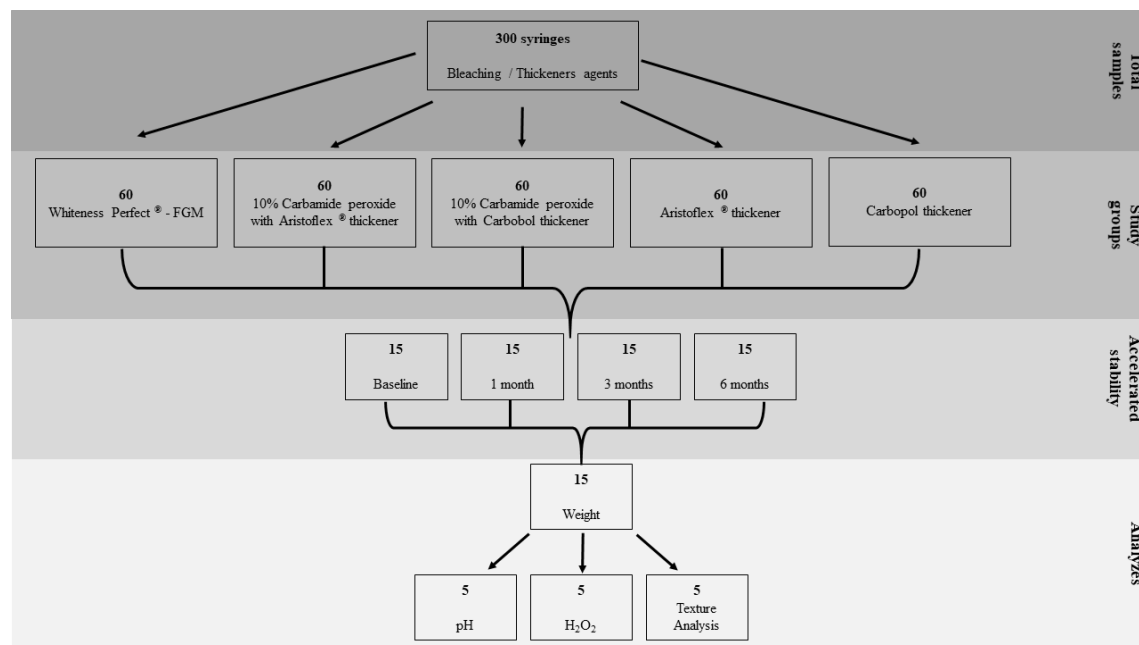


Figure 1. Experimental design and presentation of the study groups and performed analyses

Table 1 Composition and quantity of bleaching/thickening gels

Groups	Batch	Composition*	Amount into gel
Whiteness perfect® 10% - FGM (commercially available product) – (WP)	260117	Carbamide peroxide 10%, neutralized carbopol thickener, potassium nitrate, sodium fluoride, humectant (Glycol), and deionized water	Not informed
Carbamide peroxide 10% with aristoflex (experimental) – (CPa)	652521	Carbamide peroxide 10%, neutralized Aristoflex® AVC thickener, potassium nitrate, sodium fluoride sodium fluoride, humectant (Glycol), and deionized water	10% Carbamide peroxide; 0.2% sodium fluoride; 3% potassium nitrate; 2% Aristoflex AVC®; 0.1% methylparaben; 7% propylene glycol; deionized water qsp 12 g.
Carbamide peroxide 10% with carbopol (experimental) – (CPc)	652521A	Carbamide peroxide 10%, neutralized Carbopol® 940 thickener, potassium nitrate, sodium fluoride, humectant (Glycol), and deionized water	10% Carbamide peroxide; 0.2% sodium fluoride; 3% potassium nitrate; 2% carbopol 940; 0.1% methylparaben; 7% propylene glycol; aminomethylpropane; deionized water qsp 12 g.
Aristoflex thickener (Negative control) – (A)	652477	Neutralized Aristoflex® AVC	2% Aristoflex AVC®; 0.1% methylparaben; 7% propylene glycol; deionized water qsp 50 g.
Carbopol thickener (Negative control) – (C)	652477A	Neutralized Carbopol® 940	2% Carbopol 940; 0.1% methylparaben; 7% propylene glycol; aminomethylpropane; deionized water qsp 50 g.

*Bleaching agent formulated by the FGM dental products industry (Joinville, SC, Brazil). A formulation according to manufacturer's data.

Rheology Analysis

The bleaching formulations were analyzed (n=3) regarding their rheological behavior at the initial time to verify that the formulations had gel characteristics, and the accelerated stability test was started. A Cone & Plate rheometer (DVII + VISCOMETER – Brookfield) was used, together with the C52 spindle, operating the Wingather V2.5 software. For the analysis, 0.2 grams of the sample were weighed and placed in the rheometer to obtain the reading [14].

Accelerated Stability Study

The storage conditions for the study of accelerated stability followed Oriqui [12, 13]. The bleaching gel syringes were kept in an incubator at a controlled temperature of $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and a relative humidity of $75\% \pm 5\%$.

The accelerated stability of 10% carbamide peroxide bleaching gel formulations was performed for a period of 6 months, with the tests being conducted at before storage (baseline (refrigerator at 5°C and 25% humidity)), Time 1 (after 1 month of storage), Time 3 (after 3 months of storage) and Time 6 (after 6 months of storage).

For the accelerated stability study, the following parameters were evaluated:

pH Analysis

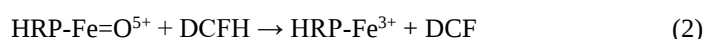
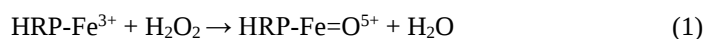
Before the measurements, the digital pH-meter PHS-3B (Phtek, São Paulo, SP, Brazil) was calibrated with buffer solutions of pH 4 and 7 at room temperature $\pm 23^{\circ}\text{C}$. Then, the pH of the bleaching gels was measured in triplicate using 3g of each gel in the four proposed times (baseline, 1, 3, and 6 months of storage).

Weight Quantification

The weight of the gels in their respective packages was performed (n=15) on a high-precision analytical balance (AX 220, Shimadzu, Tokyo, Japan) before and after the accelerated stability test in the four proposed times (baseline, 1, 3, and 6 months of storage).

Active Content and Uniformity

To determine the concentration of hydrogen peroxide available in bleaching gels at times baseline, 1, 3, and 6 months of storage, the selective colorimetric method for hydrogen peroxide (H_2O_2) was used by absorbance spectrophotometry [15]. The chemical principle of this method is based on the selective oxidation of iron from the enzyme *horse radish peroxidase* (HRP) by hydrogen peroxide. HRP compound I (HRP-Fe=O^{5+} , equation 1) oxidizes DCFH to DCF (equation 2) as follows:



The method of quantification occurred through the addition of a standard of hydrogen peroxide using an analytical curve. Initially, the mass of the gel contained in the packaging provided by the supplier was weighed (both for commercially available gels and for the experimental gel). Then, the gel was dissolved in 5mL of phosphate buffer 50 mM, pH 7.4. Finally, the amount of hydrogen peroxide present in the package, based on data by the supplier, was transformed into mol L^{-1} . And the sample of each gel was diluted several times until 0.001 mol L^{-1} of the solution was obtained. Then, one μL of this solution was mixed with $20 \mu\text{M}$ of DCFH and $0.5 \mu\text{M}$ of HRP, reaching a total volume of 1 mL. The absorption spectrum was recorded in the interval between 300 to

800 nm, immediately before and after the addition of the gel with increasing concentrations of standards. The reaction was completed in 5 minutes.

An analytical absorbance curve was obtained through a graph as a function of the concentration of the hydrogen peroxide standard. The concentration of peroxide released in the gel in the diluted solution was determined by the ratio between the linear and angular coefficients in mol L^{-1} .

This value was transformed into a percentage. Thus, it was possible to verify the exact amount (mass/mass) of hydrogen peroxide in the different formulations of the bleaching gels.

Physical-Mechanical Properties

The physical-mechanical properties (hardness, cohesiveness, compressibility, elasticity, adhesiveness) of the bleaching or thickening gels were evaluated from the texture profile of the formulations using a Texturometer (TA-XT plus – Stable Micro Systems, UK), as recommended by Gratieri and Hurler [16, 17]. For this, 10 g of each gel product studied were weighed, which were carefully placed in a 10 mL Becker. A 10 mm-diameter analytical probe of the texture analyzer was lowered with a speed of 2 mm/s until it reached the sample, followed by two compressions inside the formulations, at a depth of 5 mm, speed of 0.5 mm/s, and an interval of 15 s between a both. Five replicates were performed for each bleaching gel formulation

The parameters of hardness, cohesiveness, compressibility, elasticity, and adhesiveness were determined due to the graphic profile of applied force as a function of distance and strength as a function of time. Calculations were performed using Software Exponent (Stable Micro Systems, UK).

Statistical Analysis

After exploratory data analysis, two-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test for pH was applied. Weight data were analyzed by mixed model for repeated measures over time and the Tukey-Kramer test. Viscosity and consistency were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's test. The peroxide amount data and the mechanical property tests did not meet the assumptions of parametric analysis, and were analyzed by generalized linear models. Analyses were performed using the R* program, considering a significance level of 5%.

* R Core Team (2017). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Results

Rheology Analysis

All bleaching gels had adequate viscosity and consistency for the beginning of the accelerated stability study. However, CPa and CPc presented the lowest viscosity values, followed by A, C, and WP (Table 2). In addition, WP had the highest consistency value differing from the other groups ($p < 0.05$).

Table 2. Mean (standard deviation) of viscosity and consistency as a function of treatments.

Treatment	Viscosity	Consistency
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	0.24 (0.01) a	712.40 (71.25) a
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	0.19 (0.00) cd	91.07 (4.26) c
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	0.18 (0.00) d	186.93 (5.97) b
Aristoflex thickener – (A)	0.21 (0.01) b	216.95 (5.57) b
Carbopol thickener – (C)	0.20 (0.00) bc	261.25 (20.95) b
p-value	<0.0001	<0.0001

Means followed by different letters differ ($p < 0.05$).

pH Analysis

Table 3 shows that the experimental gel CPa increased pH from 3 months ($p < 0.05$). The CPa gel had a pH significantly higher than WP and Aristoflex thickener at all times ($p < 0.05$) and significantly higher than CPc gel and C thickener at 1, 3, and 6 months ($p < 0.05$). At 6 months, the CPc had a pH significantly higher than the WP and the groups that contained only the thickeners ($p < 0.05$). Thickeners A and C did not vary the pH over the accelerated stability times ($p > 0.05$).

Table 3. Mean (standard deviation) of pH as a function of treatments and times.

Treatment	Time			
	Baseline	1 month	3 months	6 months
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	5.58 (0.25) Ab	5.84 (0.01) Ab	6.11 (0.09) Ab	6.35 (0.90) Ac
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	6.53 (0.04) Ca	7.28 (0.18) BCa	8.11 (0.07) ABa	8.46 (0.58) Aa
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	6.28 (0.01) Bab	6.25 (0.27) Bb	6.29 (0.04) Bb	7.36 (0.31) Ab
Aristoflex thickener – (A)	5.39 (0.21) Ab	5.44 (0.19) Ab	5.91 (0.38) Ab	5.40 (0.30) Ad
Carbopol thickener – (C)	5.95 (0.03) Aab	5.90 (0.01) Ab	5.60 (0.25) Ab	6.16 (0.03) Acd

Means followed by different letters (uppercase horizontally and lowercase vertically) differ ($p < 0.05$). $p(\text{treatment}) < 0.0001$; $p(\text{time}) < 0.0001$; $p(\text{interaction}) < 0.0001$.

Weight Quantification

Table 4 shows the weight results of the bleaching gels submitted to the accelerated stability test. There was weight loss in the CPa and CPc groups within 3 months of storage, differing from thickeners A and C ($p < 0.05$). The WP group had a significantly lower weight than the others ($p < 0.05$) at all times analyzed.

Table 4. Mean (standard deviation) of weight (g) as a function of treatments and times for measurements before and after the same samples.

Treatment	Before			After		
	1 month	3 months	6 months	1 month	3 months	6 months
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	7,46 (0,07) Ab	7,48 (0,07) Ab	7,54 (0,07) Ab	7,45 (0,07) Ab	7,46 (0,07) Ac	7,50 (0,07) Ac
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	10,47 (0,34) Aa	10,38 (0,32) Aa	10,40 (0,22) Aa	10,34 (0,30) Aa	*9,41 (0,83) Bb	*8,98 (0,77) Bb
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	10,26 (0,18) Aa	10,20 (0,24) Aa	10,16 (0,22) Aa	10,21 (0,18) Aa	*9,58 (0,77) Bb	*9,13 (0,57) Bb
Aristoflex thickener – (A)	10,46 (0,39) Aa	10,42 (0,36) Aa	10,41 (0,32) Aa	10,44 (0,39) Aa	10,38 (0,24) Aa	10,61 (0,52) Aa
Carbopol thickener – (C)	10,39 (0,68) Aa	10,49 (0,36) Aa	10,70 (0,50) Aa	10,38 (0,68) Aa	10,43 (0,36) Aa	10,31 (0,29) Aa

* Differs from the initial measurement of the same samples. Means followed by different letters (upper case horizontally comparing time within each measurement, and lower case vertically) differ from each other ($p < 0.05$). $p(\text{treatment}) < 0.0001$; $p(\text{time}) = 0.0007$; $p(\text{measure}) < 0.0001$; $p(\text{treatment} \times \text{time}) < 0.0001$; $p(\text{treatment} \times \text{measure}) < 0.0001$; $p(\text{time} \times \text{measure}) < 0.0001$; $p(\text{treatment} \times \text{time} \times \text{measurement}) < 0.0001$.

Active Content and Uniformity

Table 5 shows that over time there was a significant decrease in peroxide values ($p < 0.05$) in the WP, CPa, and CPc groups. At baseline and 1 month times, the WP, CPa, and CPc groups showed significantly higher peroxide values than the A and C thickener groups ($p < 0.05$). At 3 months, the amount of peroxide in the experimental gels CPa and CPc did not differ significantly from thickeners A and C ($p > 0.05$). WP had a higher amount of peroxide than CPa up to 3 months ($p < 0.05$). At 6 months, only the Carbopol thickener group had a lower peroxide than the WP group ($p < 0.05$).

Table 5. Mean (standard deviation) of the amount of peroxide as a function of treatments and times.

Treatment	Time			
	Baseline	1 month	3 months	6 months
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	1.23 (0.15) Aa	1.15 (0.61) Aa	0.70 (0.01) Ba	0.33 (0.05) Ca
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	0.94 (0.03) Ab	0.60 (0.15) Bb	0.14 (0.08) Cb	0.14 (0.02) Cab
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	1.03 (0.17) Aab	0.53 (0.32) Bb	0.32 (0.02) BCb	0.14 (0.01) Cab
Aristoflex thickener – (A)	0.26 (0.06) Ac	0.12 (0.05) Ac	0.14 (0.08) Ab	0.12 (0.01) Aab
Carbopol thickener – (C)	0.10 (0.08) Ac	0.09 (0.07) Ac	0.06 (0.04) Ab	0.00 (0.00) Ab

Means followed by different letters (uppercase horizontally and lowercase vertically) differ ($p < 0.05$). $p(\text{treatment}) < 0.0001$; $p(\text{time}) < 0.0001$; $p(\text{interaction}) = 0.0003$.

Physical-Mechanical Properties

The experimental bleaching groups, CPa and CPc, completely lost consistency turning into a liquid at time 3 months, making the measurement of mechanical properties unfeasible. For texture profile analysis, the samples must have a gel consistency. For this reason, these formulations lack on results regarding all the mechanical properties analyzed at 3 and 6 months.

Table 6 shows the hardness values: in baseline, CPa presented significantly lower hardness than the other bleaching and thickening gels ($p < 0.05$). At 1 month, CPa and CPc had significantly lower hardness compared to both WP and the A and C thickeners ($p < 0.05$). WP had the highest hardness values over time when compared to the other groups.

The compressibility (Table 7) of the experimental gels, CPa and CPc, was significantly lower than that of WP at baseline and at time 1 month ($p < 0.05$), with CPa presenting the lowest value when compared to the others at baseline. WP only showed a reduction in compressibility at times 3 and 6 months ($p < 0.05$), whereas CPa, CPc, A, and C decreased their values over time.

In Table 8, it is observed that in the baseline and 1 month storage times, there was no significant difference among the studied groups regarding cohesiveness ($p > 0.05$).

Elasticity (Table 9) did not vary over time among the groups studied ($p > 0.05$).

Table 10 presents the adhesiveness results. At baseline, CPa had lower adhesiveness values (less negative) than the other groups ($p < 0.05$). At time 1 month, CPa and CPc showed positive adhesiveness. WP only showed a reduction in adhesiveness after 6 months of storage ($p < 0.05$). In comparison, adhesiveness of CPa, CPc, A, and C reduced after 1 month of storage.

Table 6. Means (standard deviations) of hardness (N) as a function of treatments and times.

Treatment	Time			
	Baseline	1 month	3 months	6 months
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	0.51 (0.04) Aa	0.49 (0.06) Aa	0.57 (0.02) Aa	0.41 (0.09) Ba
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	0.09 (0.00) Ac	0.07 (0.01) Ac	-	-
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	0.18 (0.01) Ab	0.07 (0.01) Bc	-	-
Aristoflex thickener – (A)	0.17 (0.01) Ab	0.16 (0.01) Ab	0.15 (0.01) Ab	0.14 (0.01) Ab
Carbopol thickener – (C)	0.22 (0.02) Ab	0.22 (0.01) Ab	0.19 (0.00) Ab	0.10 (0.02) Bb

Means followed by different letters (uppercase horizontally and lowercase vertically) differ ($p < 0.05$). $p(\text{treatment}) < 0.0001$; $p(\text{time}) < 0.0001$; $p(\text{interaction}) = 0.0007$.

Table 7. Means (standard deviations) of compressibility (N/mm) as a function of treatments and times.

Treatment	Time			
	Baseline	1 month	3 months	6 months
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	1.75 (0.16) Ba	1.74 (0.21) Ba	1.91 (0.08) Aa	1.28 (0.51) Ca
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	0.33 (0.01) Ae	0.26 (0.02) Bd	-	-
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	0.64 (0.03) Ac	0.25 (0.02) Bd	-	-
Aristoflex thickener – (A)	0.60 (0.03) Ad	0.58 (0.04) Ac	0.55 (0.01) Bc	0.51 (0.02) Cb
Carbopol thickener – (C)	0.82 (0.08) Ab	0.79 (0.03) Ab	0.71 (0.02) Bb	0.39 (0.08) Cc

Means followed by different letters (uppercase horizontally and lowercase vertically) differ from each other ($p < 0.05$). $p(\text{treatment}) = 0.0151$; $p(\text{time}) = 0.0014$; $p(\text{interaction}) = 0.0169$.

Table 8. Means (standard deviations) of cohesiveness as a function of treatments and times.

Treatment	Time			
	Baseline	1 month	3 months	6 months
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	0.85 (0.02) ABa	0.84 (0.04) ABa	0.73 (0.07) Ba	0.87 (0.09) Aa
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	0.88 (0.02) Aa	0.89 (0.02) Aa	-	-
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	0.87 (0.01) Aa	0.92 (0.03) Aa	-	-
Aristoflex thickener – (A)	0.86 (0.00) Aa	0.84 (0.02) Aa	0.85 (0.01) Aa	0.85 (0.03) Aa
Carbopol thickener – (C)	0.83 (0.03) Aa	0.95 (0.23) Aa	0.84 (0.00) Aa	0.81 (0.04) Aa

Means followed by different letters (uppercase horizontally and lowercase vertically) differ ($p < 0.05$). $p(\text{treatment}) = 0.3969$; $p(\text{time}) = 0.0468$; $p(\text{interaction}) = 0.0195$.

Table 9. Means (standard deviations) of elasticity (N/s) as a function of treatments and times.

Treatment	Time			
	Baseline	1 month	3 months	6 months
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	0.92 (0.01) ABa	0.94 (0.03) ABa	0.85 (0.09) Bb	0.96 (0.04) Aa
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	0.98 (0.04) Aa	0.98 (0.03) Aa	-	-
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	0.93 (0.03) Aa	0.99 (0.02) Aa	-	-
Aristoflex thickener – (A)	0.93 (0.01) Aa	0.95 (0.04) Aa	0.99 (0.04) Aa	0.93 (0.06) Aa
Carbopol thickener – (C)	0.90 (0.04) Aa	0.93 (0.03) Aa	0.93(0.02) Aab	0.95 (0.09) Aa

Means followed by different letters (uppercase horizontally and lowercase vertically) differ ($p < 0.05$). $p(\text{treatment}) = 0.0117$; $p(\text{time}) = 0.0921$; $p(\text{interaction}) = 0.0063$.

Table 10. Means (standard deviations) of adhesiveness (N/mm) as a function of treatments and times.

Treatment	Time			
	Baseline	1 month	3 months	6 months
Whiteness perfect® 10% - FGM - (WP)	-2.33 (-2.33) Be	-2.57 (-2.57) Cd	-2.67 (-2.67) Cc	-1.58 (-1.58) Ac
Carbamide peroxide 10% with Aristoflex (experimental) - (CPa)	-0.59 (-0.59) Ba	0.01 (0.02) Aa	-	-
Carbamide peroxide 10% with Carbopol (experimental) – (CPc)	-1.39 (-1.39) Bc	0.03 (0.02) Aa	-	-
Aristoflex thickener – (A)	-1.22 (-1.22) Cb	-1.18 (-1.18) BCb	-1.16 (-1.16) Ba	-1.07 (-1.07) Ab
Carbopol thickener – (C)	-1.58 (-1.58) Cd	-1.34 (-1.34) Bc	-1.34 (-1.34) Bb	-0.55 (-0.55) Aa

Means followed by different letters (uppercase horizontally and lowercase vertically) differ ($p < 0.05$). $p(\text{treatment}) = 0.0043$; $p(\text{time}) < 0.0001$; $p(\text{interaction}) = 0.0038$.

Discussion

The performance of tests that study and characterize experimental gels' physical and chemical properties is important for developing new bleaching formulations. In this study, the accelerated stability test was carried out as recommended in the Oriqui [13] study, which aims to accelerate the chemical degradation and/or physical changes of a pharmaceutical product in extreme storage conditions for a short period. Thus, the data obtained were used to evaluate the prolonged chemical and physical effects of bleaching gels under non-accelerated conditions and outside those established on the product label (between 5°C and 25°C) to select an expiration date.

Given the results found in this study, the null hypothesis tested was denied; regardless of the type of thickener used, the quantification of hydrogen peroxide (HP) showed significantly lower values each time analyzed during the accelerated stability test. These results corroborate the results of Wang and Chisini [18, 19] study, which demonstrated that the shape and storage temperature directly influence the stability of HP. Hydrogen peroxide is an oxidizing agent whose action is enhanced by temperature [18–20]. Therefore, high temperature and humidity cause a change in the chemical balance among the components of the bleaching gel, initiating the degradation of carbamide peroxide (CP), resulting in the formation of water that is capable of further dissolving CP [21, 22]; we found a reduction in values of HP quantification.

Based in Aristoflex or Carbopol, all experimental bleaching gels presented an increase in pH over the analyzed times. These results are in agreement with the study by Freire [21], who investigated the pH of different

commercial bleaching gels subjected to storage temperature variations, and concluded that the PC-based gels presented the highest pH values. This can be explained by the breakdown reaction of CP, which breaks down into HP (free radicals), oxygen, ammonia (urea), and water [10, 19, 21, 23]. Urea is a compound that has a pH ranging between 8 and 9 [10, 19, 22].

When we analyzed the weight as a physical property, it was observed that in the 3 and 6 months of accelerated stability, only the experimental bleaching gels (CPa and CPc) presented a significant weight reduction. This occurs when the gels are subjected to high temperatures, so the HP undergoes decomposition: releasing reactive oxygen, losing water, and increasing the formation of air bubbles inside the syringe [18]. Further, as the temperature rises by up to 10°C in the storage of the gels, the chemical reaction among their components increases [19, 23–24]. This is because HP is an unstable component when stored at high temperatures decomposing into free radicals and increasing reaction speed and water formation [10, 19, 21]. The water formed undergoes constant evaporation over time, as the gel is kept at high temperature and humidity [19]. This increases the degradation of the components of the gels inside the syringe and reduces the mass weight [19, 21, 23].

In the formulation of products for at-home tooth bleaching, the following constituents are usually found: the bleaching agent, which is the active content (HP or CP precursor) [5, 25], stabilizers, which are used to delay the degradation of peroxides (which are highly reactive) over time and thereby increase the shelf life of the products without affecting their efficiency [25, 26], buffering agents, which are used to maintain a pH in the product that is as neutral as possible, and thus attempt to prevent demineralization of the dental tissue [25, 26], flavoring agents, which are included to allow pleasant use; desensitizing agents (the most commonly found are fluoride and potassium nitrate), which function to decrease a possible tooth sensitivity induced by the treatment [25], and one or more viscosity agents, which are thickeners that act by giving the product a gel consistency and modulating the chemical reaction of oxidation and reduction [1, 5, 10, 11, 25]. The commercial gel from FGM Dental products showed the best performance properties during the test, even when subjected to 40°C and humidity of 75% for 6 months. In addition to the thickener, its formulation contains other additives such as preservatives and stabilizers that maintain its characteristics even when subjected to a temperature of 40°C.

The mechanical properties of gels are analyzed from their texture profile, originally proposed as an adequate method to characterize semi-solid drug dosage forms by Jones [27]. In addition, the method was applied to determine changes during accelerated stability testing. The texture properties are: hardness, which expresses the gel's applicability on the structure and is therefore an indicator of the gel permanence on the treatment area; cohesiveness, which shows how cohesive all the constituents of the gel are; compressibility, described as the ability of the gel to resist compression until its structure breaks; elasticity, which is the ability of the gel to undergo compression and return to its original shape without breaking its structure; and adhesiveness, defined as the ability to stay on the structure [17]. However, elasticity is a particularly important parameter in the development of experimental bleaching gel formulations. Since an at-home bleaching gel must be easily applied in an individual tray, the ability to easily spread it on the tooth surface and adhere without disintegrating are required to prolong retention time during its use.

The texture properties of bleaching gels are an essential parameter in optimizing topical formulations, because these properties will affect the applicability of the bleaching formulation at the administration site and possibly the final result [19, 23]. The accelerated stability study provides information on the product's behavior, in a certain period, against the environmental conditions to which it may be submitted, from manufacture to

expiration [12–13]. The stability of a product allows you to assess its performance, safety, and efficacy, as well as its acceptance by the consumer [19, 21, 24, 27].

Although Gouveia et al. [5] proved in vitro that the 10% carbamide peroxide gel with the Aristoflex® AVC showed bleaching efficacy without changing the physical properties of dental enamel. The results found in this study demonstrated that the experimental gels formulations are unstable and have no clinical applicability after 3 months from manufacture. Since the temperature and humidity conditions directly influenced the bleaching gels' physical, chemical, and texture properties. As a result, the experimental bleaching gels lost their texture properties, after 3 months of accelerated stability, in addition to the reduction of hydrogen peroxide. When these properties are lost, the bleaching gel becomes liquid and does not remain stable in the individualized tray. With the gel extravasation, hydrogen peroxide contact with the soft tissue occurs, causing the patient's irritation, burns, and pain [9, 25]. The reduction in active content is also an aggravating factor since tooth bleaching only occurs in peroxide (carbamide or hydrogen) adequate concentrations [5, 10, 19, 25]. However, despite the good performance in the texture profile during the accelerated stability test, the commercial gel from FGM Dental products showed a significant loss of active content (hydrogen peroxide) after 3 months of storage. Thus, it can be hypothesized that there was also a reduction in the bleaching efficacy of this commercial product and experimental gels.

The results obtained showed that the formulations of experimental bleaching gels developed are unstable, regardless of the polymer used. Therefore, for them to be clinically tested and commercially available, it is necessary to reformulate their composition and approval the accelerated stability test. To ensure product stability, excellent performance, the effectiveness of the active bleaching agent, and consumer acceptance. In this sense, this study is promising and serves as a working model for developing and evaluating the behavior of experimental bleaching gels according to accelerated stability test.

Conclusions

Given the results found in this study, it can be concluded that:

The storage of bleaching gels at high temperature and humidity directly influenced their active content and texture properties;

The bleaching gels that were not submitted to the accelerated stability test showed better performance of physical, chemical, and mechanical properties;

The experimental bleaching gels developed are unstable, being necessary to reformulate the composition to ensure the stability and effectiveness of the active agent;

The pH of the experimental gel containing Aristoflex® became alkaline at times 3 and 6 months after accelerated stability.

The commercial gel from FGM Dental products showed the best performance during the accelerated stability test even when subjected to 40°C and humidity of 75%.

Acknowledgments

The authors would like to thank Drogal manipulations and FGM-Dental products for the donation of their bleaching products.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Funding

This study was partially supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brazil (CAPES) - Finance code 001.

Ethical approval. This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

Informed consent. For this type of study, formal consent is not required.

References

1. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC (2005) The effect of 10% carbamide peroxide, carbopol and/or glycerin on enamel and dentin microhardness. *Oper Dent* 30:608–16
2. Sasaki RT, Catelan A, Bertoldo E dos S, et al (2015) Effect of 7.5% hydrogen peroxide containing remineralizing agents on hardness, color change, roughness and micromorphology of human enamel. *Am J Dent* 28:261–7
3. Tanaka R, Shibata Y, Manabe A, Miyazaki T (2010) Micro-structural integrity of dental enamel subjected to two tooth whitening regimes. *Arch Oral Biol* 55:300–308. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.02.009>
4. Sa Y, Sun L, Wang Z, et al (2013) Effects of two in-office bleaching agents with different ph on the structure of human enamel: An in situ and in vitro study. *Oper Dent* 38:100–110. <https://doi.org/10.2341/11-173-L>
5. Gouveia THN, de Souza DFS, Aguiar FHB, et al (2019) Effect of ammonium acryloyldimethyltaurate copolymer on the physical and chemical properties of bleached dental enamel. *Clin Oral Investig* 24:2701–2711. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-03132-3>
6. Basting RT, Rodrigues Júnior AL, Serra MC (2001) The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. *Oper Dent* 26:531–9
7. Oliveira GPF, Toyoshima ER, Soldani P, et al (2007) Effect of the thickener agent carbopol on dental enamel surface in the at-home dental bleaching. *Rev odontol UNESP* 36:113–119
8. Soares CJ, Silva NR da, Quagliatto PS, Campos RE (2006) Avaliação clínica de clareamento caseiro com gel de peróxido de carbamida industrializado e manipulado em farmácia. *Rev Odontol UNESP* 35:69–74
9. do Carmo Públio J, Zeczkowski M, Burga-Sánchez J, et al (2019) Influence of different thickeners in at-home tooth bleaching: a randomized clinical trial study. *Clin Oral Investig* 23:2187–2198. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2613-9>
10. Kwon SR, Wertz PW (2015) Review of the Mechanism of Tooth Whitening. *J Esthet Restor Dent* 27:240–57. <https://doi.org/10.1111/jerd.12152>
11. Ávila DM da S, Zanatta RF, Scaramucci T, et al (2017) Influence of bioadhesive polymers on the protective effect of fluoride against erosion. *J Dent* 56:45–52.

- <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.10.015>
12. Oriqui LR, Mori M, Wongtschowski P, et al (2011) Definition of Shelf Life for Chemical Product-the Importance of a Especific Stability Guide for the Segment. *Quim Nov* 34:1869–1874. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2006.12.076>
 13. Oriqui LR, Mori M (2013) Guide for determining the stability of chemical products. *Quim Nov* 36:340–347. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000800018>
 14. Corrêa NM, Camargo Júnior FB, Ignácio RF, Leonardi GR (2005) Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Rev Bras Ciências Farm* 41:. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000100008>
 15. Cathcart R, Schwiers E, Ames BN (1983) Detection of Picomole Levels of Lipid Hydroperoxides Using a Dichlorofluorescein Fluorescent Assay. *Anal Biochem* 134:111–116. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05047-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05047-3)
 16. Gratieri T, Gelfuso GM, Rocha EM, et al (2010) A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 75:186–93. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.02.011>
 17. Hurler J, Engesland A, Poorahmary Kermamy B, Škalko-Basnet N (2012) Improved texture analysis for hydrogel characterization: Gel cohesiveness, adhesiveness, and hardness. *J Appl Polym Sci* 125:180–188. <https://doi.org/10.1002/app.35414>
 18. Wang C, Zhang DH, Skodje RT (2012) A six-dimensional wave packet study of the vibrational overtone induced decomposition of hydrogen peroxide. *J Chem Phys* 136:164314. <https://doi.org/10.1063/1.4705755>
 19. Chisini LA, Conde MCM, Meireles SS, et al (2019) Effect of temperature and storage time on dental bleaching effectiveness. *J Esthet Restor Dent* 31:93–97. <https://doi.org/10.1111/jerd.12439>
 20. Goldberg M, Grootveld M, Lynch E (2010) Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. *Clin Oral Investig* 14:1–10. <https://doi.org/10.1007/s00784-009-0302-4>
 21. Freire A, Archegas LRP, de Souza EM, Vieira S (2009) Effect of storage temperature on pH of in-office and at-home dental bleaching agents. *Acta Odontol Latinoam* 22:27–31
 22. Price RBT, Mrcd C, Edin RCS, et al (2000) The pH of Tooth-Whitening Products. *J Can Dent Assoc* 66:421–6
 23. Bonesi C de M, Ulian LS, Balem P, Angeli VW (2011) Carbamide peroxide gel stability under different temperature conditions: Is manipulated formulation an option? *Brazilian J Pharm Sci* 47:719–724. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000400008>
 24. Davidi MP, Hadad A, Weiss EI, et al (2008) The effect of a mild increase in temperature on tooth bleaching. *Quintessence Int (Berl)* 39:771–5
 25. Alqahtani MQ (2014) Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *Saudi Dent J* 26:33–46. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2014.02.002>
 26. Benbachir N, Ardu S, Krejci I (2008) Spectrophotometric evaluation of the efficacy of a new in-office bleaching technique. *Quintessence Int* 39:299–306
 27. Jones D, Woolfson D BA (1997) Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. *Int J Pharm* 151:223–233

3 CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados neste estudo, pode-se concluir que:

O armazenamento dos géis clareadores em alta temperatura e umidade influenciou diretamente no seu conteúdo ativo e nas propriedades de textura;

Os géis clareadores que não foram submetidos ao teste de estabilidade acelerada apresentaram melhor desempenho nas propriedades físicas, químicas e mecânicas;

Os géis clareadores experimentais desenvolvidos são instáveis, sendo necessário reformular sua composição para garantir a estabilidade e eficácia do agente ativo;

O pH do gel experimental contendo Aristoflex[®] tornou-se alcalino nos tempos de 3 e 6 meses após a estabilidade acelerada;

O gel comercial da FGM Dental group apresentou o melhor desempenho durante o teste de estabilidade acelerada, mesmo quando submetido à temperatura de 40°C e umidade de 75%.

REFERÊNCIAS*

- Alqahtani MQ. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *Saudi Dent J*. 2014;26(2):33–46.
- Ávila DM da S, Zanatta RF, Scaramucci T, Aoki IV, Torres CRG, Borges AB. Influence of bioadhesive polymers on the protective effect of fluoride against erosion. *J Dent*. 2017;56:45–52.
- Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide, carbopol and/or glycerin on enamel and dentin microhardness. *Oper Dent*. 2005;30(5):608–16.
- Basting RT, Rodrigues Júnior AL, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. *Oper Dent*. 2001;26(6):531–9.
- Borges BCD, Borges JS, de Melo CD, Pinheiro IV a, Santos a JS Dos, Braz R, et al. Efficacy of a novel at-home bleaching technique with carbamide peroxides modified by CPP-ACP and its effect on the microhardness of bleached enamel. *Oper Dent*. 2011;36(5):521–8.
- do Carmo Públio J, Zeczkowski M, Burga-Sánchez J, Ambrosano GMB, Groppo FC, Aguiar FHB, et al. Influence of different thickeners in at-home tooth bleaching: a randomized clinical trial study. *Clin Oral Investig*. 2019 May;23(5):2187–98.
- Cavalli V, Rodrigues LKA, Paes-Leme AF, Soares LES, Martin AA, Berger SB, et al. Effects of the addition of fluoride and calcium to low-concentrated carbamide peroxide agents on the enamel surface and subsurface. *Photomed Laser Surg*. 2011 May;29(5):319–25.
- D’Arce MBF, Lima DANL, Aguiar FHB, Bertoldo CE dos S, Ambrosano GMB, Lovadino JR. Effectiveness of dental bleaching in depth after using different bleaching agents. *J Clin Exp Dent*. 2013;5(2):e100-7.
- de Geus J, Wambier L, Kossatz S, Loguercio A, Reis A. At-home vs In-office Bleaching: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent*. 2016;41(4):341–56.
- Gouveia THN, de Souza DFS, Aguiar FHB, Ambrosano GMB, Lima DANL. Effect of ammonium acryloyldimethyltaurate copolymer on the physical and chemical properties of bleached dental enamel. *Clin Oral Investig*. 2019 Aug 3;24(8):2701–11.
- Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent*. 2006 Aug;34(7):412–9.
- Kwon SR, Wertz PW. Review of the Mechanism of Tooth Whitening. *J Esthet Restor Dent*. 2015;27(5):240–57.
- Oliveira GPF, Toyoshima ER, Soldani P, Bueno, Albano Luis Novaes; Cassoni A, Amaral CM, Rodrigues JA. Effect of the thickener agent carbopol on dental enamel surface in the at-home dental bleaching. *Rev odontol UNESP*. 2007;36(2):113–9.
- Oriqui LR, Mori M. Guide for determining the stability of chemical products. *Quim Nov*. 2013;36(2):340–7.
- Oriqui LR, Mori M, Wongtschowski P, Freitas SR, Guilherme J, Santos M. Definição De Shelf Life Para Produtos Químicos-a Importância De Um Guia De Estabilidade

* De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

- Específico Para O Segmento Definition of Shelf Life for Chemical Product-the Importance of a Especific Stability Guide for the Segment. *Quim Nov.* 2011;34(10):1869–74.
- Pinto CF, Oliveira R de, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res.* 2004 Dec;18(4):306–11.
- Públio J do C, D’Arce MBF, Catelan A, Ambrosano GMB, Aguiar FHB, Lovadino JR, et al. Influence of Enamel Thickness on Bleaching Efficacy: An In-Depth Color Analysis. *Open Dent J.* 2016;10:438–45.
- Sa Y, Sun L, Wang Z, Ma X, Liang S, Xing W, et al. Effects of two in-office bleaching agents with different ph on the structure of human enamel: An in situ and in vitro study. *Oper Dent.* 2013;38(1):100–10.
- Sasaki RT, Arcanjo AJ, Flório FM, Basting RT. Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10 percent carbamide peroxide and 7.5 percent hydrogen peroxide. *J appl oral sci.* 2009;17(6):611–6.
- Sasaki RT, Catelan A, Bertoldo E dos S, Venâncio PC, Groppo FC, Ambrosano GMB, et al. Effect of 7.5% hydrogen peroxide containing remineralizing agents on hardness, color change, roughness and micromorphology of human enamel. *Am J Dent.* 2015 Oct;28(5):261–7.
- Soares CJ, Silva NR da, Quagliatto PS, Campos RE. Avaliação clínica de clareamento caseiro com gel de peróxido de carbamida industrializado e manipulado em farmácia. *Rev Odontol UNESP.* 2006;35(1):69–74.
- Zeczkowski M, Tenuta LMA, Ambrosano GMB, Aguiar FHB, Lima DANL. Effect of different storage conditions on the physical properties of bleached enamel: An in vitro vs. in situ study. *J Dent.* 2015 Sep;43(9):1154–61.

APÊNDICE

Apêndice 1 – Metodologia detalhada

1. Delineamento experimental

Unidades experimentais: Seringas de géis clareadores experimentais a base de peróxido de carbamida a 10% (n=60).

Fatores em estudo:

Tratamento clareador/espessante (5 níveis):

Peróxido de Carbamida 10% (Carbopol)- FGM - Whiteness Perfect

Peróxido de Carbamida 10% (Aristoflex) – Gel manipulado

Peróxido de Carbamida 10% (Carbopol) – Gel manipulado

Espessante Aristoflex

Espessante Carbopol

Estabilidade acelerada (4 níveis):

Tempo 0 (baseline) – mantido em geladeira a 5 °C, por 7 dias.

Tempo 1 (após um mês de armazenamento).

Tempo 3 (após três meses de armazenamento).

Tempo 6 (após seis meses de armazenamento).

Variáveis de resposta:

- pH - pHmêtro,

- Perda de peso - balança de precisão;

-Teor e uniformidade de conteúdo ativo, por meio da quantificação de peróxido de hidrogênio, pela espectrofotometria de absorvância;

- Propriedades físico-mecânicas (dureza, coesividade, compressibilidade, elasticidade, adesividade) – por meio de um analisador de textura (Texturômetro)

Tabela 1: Grupos estudados.

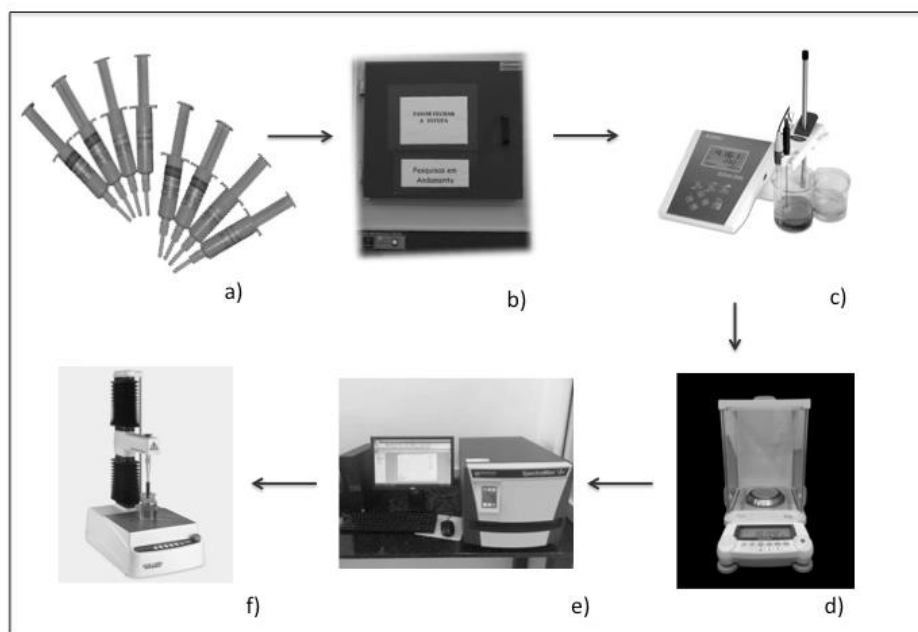
Grupos	Composição dos géis
WHITENESS PERFECT 10% [®] - FGM - (WP)	*Peróxido de carbamida 10%, espessante Carbopol neutralizado, nitrato de potássio, fluoreto de sódio, umectante (Glicol) e água deionizada
PERÓXIDO DE CARBAMIDA 10% COM ARISTOFLEX [®] - (CPa)	Peróxido de carbamida 10%, espessante Aristoflex [®] AVC neutralizado, nitrato de potássio, fluoreto de sódio, umectante (Glicol) e água deionizada
PERÓXIDO DE CARBAMIDA 10% COM CARBOPOL – (CPc)	Peróxido de carbamida 10%, espessante Carbopol [®] 940 neutralizado, nitrato de potássio, fluoreto de sódio, umectante (Glicol) e água deionizada.
ESPESSANTE ARISTOFLEX [®] – (A)	Aristoflex [®] AVC neutralizado
ESPESSANTE CARBOPOL [®] – (C)	Carbopol [®] 940 neutralizado

* Agente clareador formulado pela indústria de produtos odontológicos FGM (Joinville, SC, Brasil). Formulação de acordo com dados do fabricante.

- Análises**

As análises do experimento foram realizadas através de equipamentos específicos, de acordo com cada finalidade, conforme apresentado no fluxo experimental da figura 1.

Figura 1. a) Géis clareadores e espessantes; b) estufa para a realização da estabilidade acelerada durante 6 meses; c) Análises pH; d) Análise de peso; e) Análise da espectrofotometria de absorvância; f) Avaliação das propriedades mecânicas dos géis (Perfil de Textura).



1.1 Estudo de estabilidade acelerada

O estudo de estabilidade acelerada das formulações de géis clareadores de peróxido de carbamida a 10% foi realizado durante um período de 6 meses de avaliação, sendo os testes realizados nos tempos 0 (antes do armazenamento – Controle), tempo 1 (após um mês de armazenamento), tempo 3 (após três meses de armazenamentos) e tempo 6 (após seis meses de armazenamento).

As condições de armazenamento obedeceram rigorosamente a resolução nº1 (Anvisa 2005). As seringas dos géis clareadores permaneceram em estufa com temperatura controlada de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\% \pm 5\%$.

Os géis que ficaram no tempo 0 – controle foram mantidos em geladeira à temperatura de 5°C e umidade de 25% (Figura 2)

Figura 2 – Estudo da estabilidade acelerada: a) Estufa a temperatura de 40°C ; b) Visão interna da estufa e dos géis clareadores; c) Thermohigrometro utilizado para o controle de temperatura e umidade dentro da estufa.

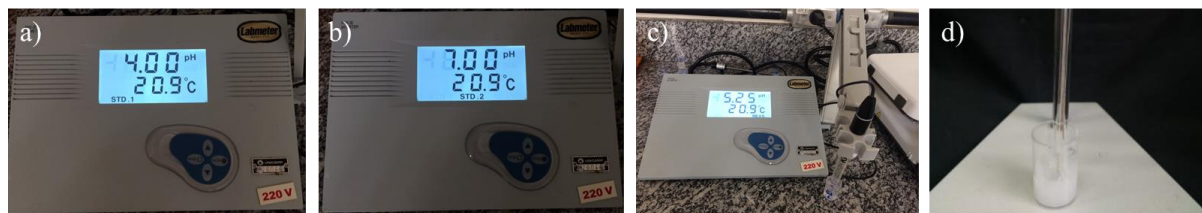


Para o estudo da estabilidade acelerada, foram avaliados os seguintes parâmetros:

- **Análise de pH**

A análise de pH dos géis clareadores foi realizada com o auxílio de um pHmêtro digital PHS-3B composto de um eletrodo de pH e um sensor de temperatura conectados a um analisador de íons. O aparelho foi calibrado com suas soluções padrões de pH = 4,0 e 7,0. Em seguida o eletrodo do aparelho foi submergido em aproximadamente 3g de cada gel e mantido por um período de 10 minutos até a completa estabilização (Figura 3). Foram realizadas cinco leituras de cada grupo em cada tempo proposto, sendo a média considerada como o valor final de pH.

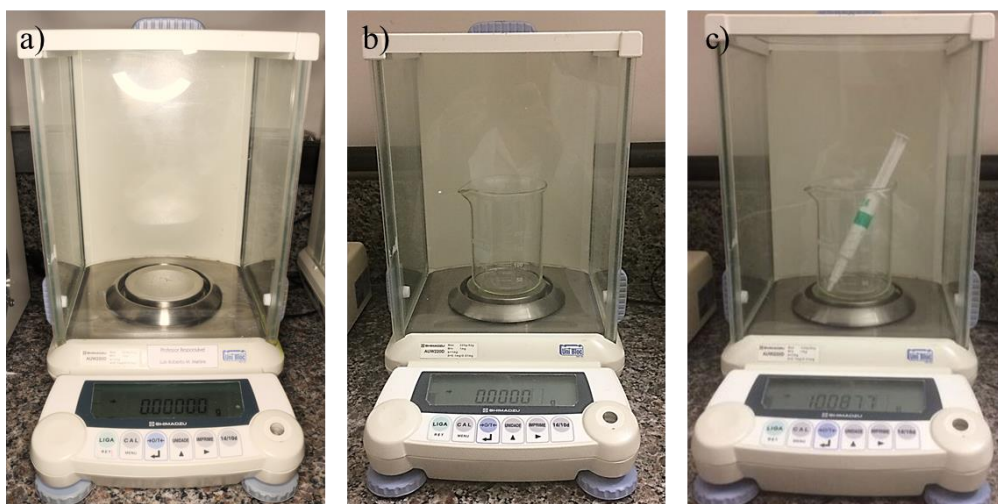
Figura 3 – Análise de pH: a) e b) pHmêtro calibrado com as respectivas soluções padrões de pH= 4,0 e 7,0; c) aparelho fazendo a medição de pH de gel clareador; d) detalhe mais aproximado da medição na solução de gel clareador.



- **Análise de peso**

O peso dos géis em suas respectivas embalagens originais foi realizado como auxílio de uma balança analítica de alta precisão (AX 220, Shimadzu, Tóquio, Japão) e de um Becker. As medidas foram realizadas antes e após o teste de estabilidade acelerada (Figura 4).

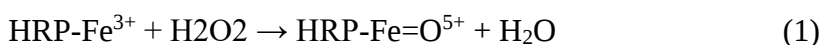
Figura 4 – Análise de peso. a) Balança calibrada; b) Balança tarada com um Becker de 100 mL; c) Pesagem da seringa de gel clareador



- **Quantificação de peróxido de hidrogênio**

Foi realizada a análise química com o método colorimétrico seletivo para peróxido de hidrogênio por espectrofotometria de absorvância para determinar a concentração de peróxido disponível nos géis de clareadores antes e após o teste de estabilidade acelerada.

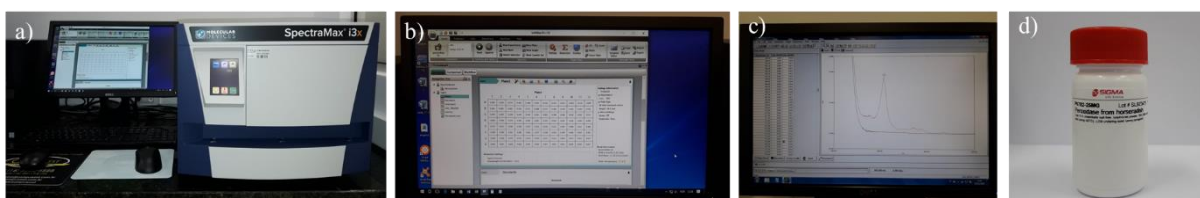
O princípio químico deste método baseia-se na oxidação seletiva do ferro da enzima horse radish peroxidase (HRP) pelo peróxido de hidrogênio. A HRP composto I HRP-Fe=O^{5+} , (equação 1), oxida DCFH para DCF (equação 2) como segue:



O método de quantificação foi realizado por meio da adição de um padrão de peróxido de hidrogênio usando uma curva analítica. O espectro de absorção foi registrado no intervalo entre 300 a 800 nm imediatamente antes e após adição do gel com crescentes concentrações de padrões. A reação foi completada em torno de 5 minutos. Uma curva analítica de absorvância foi obtida por meio de um gráfico em função da concentração do padrão de peróxido de hidrogênio. A concentração de peróxido liberado no gel na solução diluída foi determinada pela

razão entre os coeficientes linear e angular em mol L^{-1} . Este valor foi convertido em porcentagem. Assim, foi possível verificar a quantidade exata (massa/massa) de peróxido de hidrogênio nos diferentes grupos de géis clareadores (Figura 5).

Figura 5 – Quantificação de Peróxido de hidrogênio. a) Espectrofotômetro de absorbância; b) Resultados das amostras de acordo com o posicionamento da placa para análise; c) Resultados dos valores de peróxido de hidrogênio em forma de gráfico; d) Enzima HRP utilizada para análise.

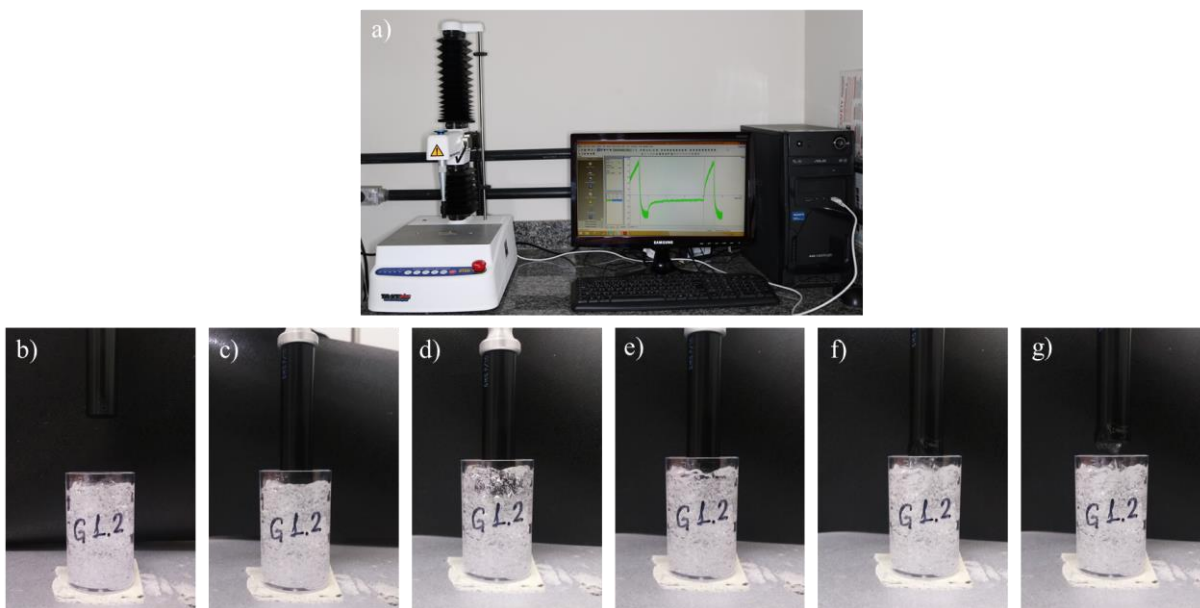


- **Estudo das propriedades físico-mecânicas**

As propriedades físico-mecânicas (dureza, coesividade, compressibilidade, elasticidade, adesividade) dos géis clareadores foram avaliadas a partir do perfil de textura das formulações, como preconizado nos estudos de Gratieri et al. (2010) e Hurler et al. (2012). Em seguida foi utilizado um Texturometro (TA-XT plus – Stable Micro Systems, UK). De cada gel clareador estudado, foram pesadas 10g em um reservatório de poliestireno.

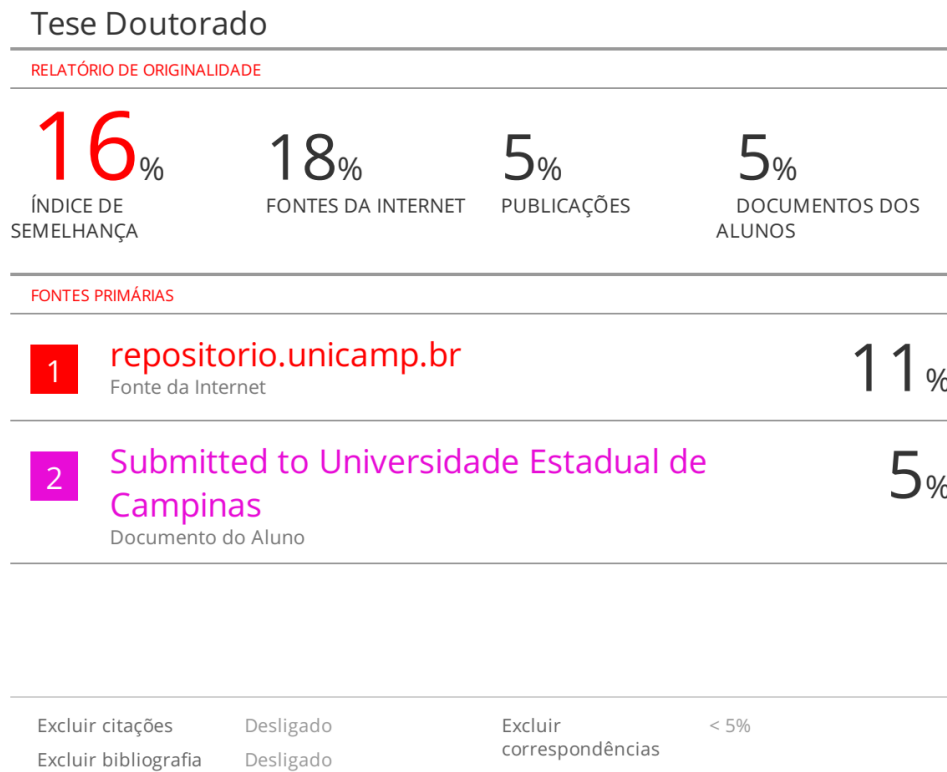
Um disco compressor de 10 mm de diâmetro do texturometro foi comprimido duas vezes no interior de cada uma das cinco amostras dos géis clareadores, com velocidade de 2 mm/s, em profundidade 5 mm por um tempo de 15 segundos entre o final da primeira e início da segunda compressão (Figura 6).

Figura 6 – Análise do perfil de textura. a) Texturometro - TA-XT plus – Stable Micro Systems; b) a g) Detalhes da realização do teste na amostra de gel clareador.



ANEXOS

Anexo 1 - Verificação de originalidade e prevenção de plágio por meio do software Turnitin



Anexo 2 – Comprovação da Submissão do Artigo

- Primeira submissão



Danielle Ferreira <danielle.ferreirass@gmail.com>

Clinical Oral Investigations - Submission Notification to co-author -

[EMID: [REDACTED]]

1 mensagem

Clinical Oral Investigations <em@editorialmanager.com>

5 de julho de 2021 10:38

Responder a: Clinical Oral Investigations <johnmatthew.delacruz@springernature.com>

Para: Danielle Ferreira Sobral-Souza <danielle.ferreirass@gmail.com>

Re: "Effect of Temperature and Humidity on the Physical, Chemical, and Mechanical Properties of Bleaching Agents Containing Different Bioadhesive Polymers"

Full author list: Danielle Ferreira Sobral-Souza; Thayla Hellen Nunes Gouveia; André Luís Condeles; José Carlos Toledo Junior; Michelle Franz-Montan; Maria Cibelle Pauli; Gislaïne Ricci Leonardi; Débora Lima

Dear Mrs. Danielle Sobral-Souza,

We have received the submission entitled: "Effect of Temperature and Humidity on the Physical, Chemical, and Mechanical Properties of Bleaching Agents Containing Different Bioadhesive Polymers" for possible publication in Clinical Oral Investigations, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Dr Débora Alves Nunes Leite Lima who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office
Clinical Oral Investigations

- Segunda submissão após considerações dos revisores



Danielle Ferreira <danielle.ferreirass@gmail.com>

Fwd: CLOI: Submission Confirmation for CLOI-[REDACTED]

1 mensagem

Débora Lima <dalima@unicamp.br>

15 de outubro de 2021 10:49

Para: Danielle Ferreira <danielle.ferreirass@gmail.com>

Prof. Dr. Débora Lima
University of Campinas – Piracicaba Dental School
Department of Restorative Dentistry
Operative Dentistry Division

----- Forwarded message -----

De: Clinical Oral Investigations <em@editorialmanager.com>

Date: sex., 15 de out, de 2021 às 09:53

Subject: CLOI: Submission Confirmation for CLOI-[REDACTED]

To: Débora Alves Nunes Leite Lima <dalima@unicamp.br>

Ref.: Ms. No. CLOI-[REDACTED]
Effect of Temperature and Humidity on the Physical, Chemical, and Mechanical Properties of Bleaching Agents Containing Different Bioadhesive Polymers

Dear Dr Lima,

Clinical Oral Investigations has received your revised submission.

You may check the status of your manuscript by logging onto Editorial Manager at <https://www.editorialmanager.com/cloi/>.

Kind regards,

Editorial Office
Clinical Oral Investigations

Anexo 3 – Certificado de revisão do manuscrito



EDITORIAL

CERTIFICATE

Authors:

**Danielle Ferreira Sobral
de Souza**

Document title:

**Effect of Temperature and Humidity on
the Physical, Chemical, and
Mechanical Properties of Bleaching
Agents Containing Different
Bioadhesive Polymers**

Date Issued:

5 Jul 2021



This document certifies that the above manuscript was proofread and edited by
Cambridge Proofreading LLC.

This document certifies that the above manuscript was proofread and edited by Cambridge
Proofreading Worldwide LLC. The document was edited for proper English language, grammar,
punctuation, spelling, and overall style by one or more of our academic editors. The editor
endeavoured to ensure that the author's intended meaning was not altered during the
review. All amendments were tracked with the Microsoft Word 'Track Changes' feature. There-
fore, the authors had the option to reject or accept each change individually.

Kind regards,
Cambridge Proofreading



Cambridge Proofreading Worldwide LLC is a registered company headquartered in Chicago, Illinois, USA with a
global presence. All of our editors are native speakers from USA and the UK. Our Certificate of Good Standing
can be found in the Illinois state business database by searching our name here.