

# AValiação DA MICRODUREZA DO ESMALTE APÓS CLAREAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO A 35% CONTENDO CÁLCIO

## EVALUATION OF ENAMEL MICROHARDNESS AFTER BLEACHING WITH 35% HYDROGEN PEROXIDE CONTAINING CALCIUM

Andréa Dias Neves Lago<sup>1</sup>, Fábio Sales de Oliveira<sup>2</sup>, Patrícia Moreira de Freitas<sup>3</sup>, Stella Silva Ferreira<sup>4</sup>, Narciso Garone-Netto<sup>5</sup>

### Resumo

**Introdução:** A estética vem ganhando destaque na Odontologia e o clareamento aparece como uma forma conservadora para se obter harmonia de cor nos dentes. **Objetivo:** Avaliar, *in vitro*, a microdureza do esmalte dental humano após o clareamento de consultório com agente a base de peróxido de hidrogênio a 35%, contendo ou não cálcio. **Métodos:** Vinte e quatro dentes humanos, que foram seccionados para confeccionar fragmentos de esmalte de aproximadamente 5 x 5 mm. Os fragmentos foram incluídos em resina acrílica, polidos e distribuídos aleatoriamente em 2 grupos (n=12), conforme o agente clareador utilizado: G1: fragmentos clareados com peróxido de hidrogênio a 35% sem cálcio, (3 aplicações de 15 minutos cada) e G2: utilização do agente clareador com cálcio (única aplicação de 45 minutos). A avaliação da microdureza Knoop utilizando 100 Kgf de carga por 15 segundos foi realizada inicialmente (*baseline*), imediatamente e 07 dias após o término do clareamento. Os dados foram submetidos a ANOVA com nível de significância de 5%. **Resultados:** Houve diminuição da microdureza do esmalte logo após o clareamento, sendo que o grupo que com agente clareador sem cálcio apresentou diminuição mais acentuada. G1: 319,02 ± 40,08; 200,01 ± 25,32; 256,02 ± 25,01 e G2 = 329,04 ± 34,71; 236,03 ± 34,23; 267,03 ± 40,53. **Conclusão:** O clareamento realizado com peróxido de hidrogênio a 35% diminui a microdureza imediatamente após o término do mesmo, independentemente do agente clareador conter ou não cálcio em sua composição, porém quando o agente clareador não contém cálcio esta diminuição é mais acentuada. No entanto, os valores de microdureza retornam aos valores iniciais no período de 7 dias após o término do clareamento.

**Palavras-chave:** Clareamento dental. Dureza. Esmalte dentário.

### Abstract

**Introduction:** Aesthetics is gaining prominence in dentistry and whitening appears as a conservative way to achieve color harmony in the teeth. **Objective:** To evaluate, *in vitro*, the microhardness of human dental enamel after office bleaching with 35% hydrogen peroxide-based agent, with or without calcium. **Methods:** Twenty-four human teeth that were sectioned for making enamel fragments of approximately 5 x 5 mm. The fragments were embedded in acrylic resin, polished and randomly divided into 2 groups (n = 12) according to the bleaching agent used: G1: bleached fragments with 35% hydrogen peroxide without calcium, (3 applications of 15 minutes each) and G2: use of bleaching agents with calcium (only one application of 45 minutes). The evaluation of Knoop microhardness using 100 kgf load for 15 seconds was carried out initially (*baseline*), immediately and 07 days after bleaching. Data were analyzed by ANOVA at 5% significance. **Results:** There was decreased enamel hardness after the clareamento, and the group with bleaching agent without calcium showed a more severe decrease. G1: 319.02 ± 40.08; 200.01 ± 25.32; 256.02 ± 25.01 and 329.04 ± 34.71; 236.03 ± 34.23; 267.03 ± 40.53. **Conclusion:** The whitening performed with 35% hydrogen peroxide reduces the microhardness immediately after the same regardless of the bleaching agent may or may not contain calcium in their composition, but when the bleaching agent does not contain calcium, such decrease is more pronounced. However, the microhardness values returned to baseline levels within 7 days after the end of bleaching.

**Keywords:** Tooth whitening. Toughness. Tooth enamel.

### Introdução

Atualmente, a estética é um fator determinante em diversas áreas. Na Odontologia, há muitos anos as alterações que provocam comprometimento estético dos dentes, como as alterações cromáticas, são casos de atenção devido às suas variadas intensidades e etiologias<sup>1-3</sup>.

Com o tempo, o apelo por dentes brancos se tornou ainda mais frequente no consultório odontológico, reflexo da percepção atual de beleza, com influência, por exemplo, da mídia. Assim, o clareamento dental passou a ser uma prática comum pelo cirurgião dentista e objeto de diversos estudos<sup>4</sup>.

O clareamento dental ocorre quando do contato íntimo entre os tecidos mineralizados dentais e o agente clareador, o qual possui agentes ativos capazes de promover a remoção dos pigmentos intrínsecos da estrutura dental, formados por longas e complexas cadeias (macromoléculas) de carbono de difícil eliminação pela estrutura dental<sup>2,3,5</sup>. O oxigênio, através de reações de oxi-redução, interage com as moléculas pigmentadas sendo capaz de quebrá-las em moléculas menores e menos pigmentadas e depois ser eliminado<sup>3,6,7</sup>.

Hoje podemos encontrar uma variedade de produtos para clarear os dentes<sup>8</sup>. Dentre os agentes clareadores encontrados no mercado, o peróxido de

<sup>1</sup> Doutora em Dentística. Professora Adjunta de Dentística do Departamento de Odontologia I da Universidade Federal do Maranhão - HUUFMA.

<sup>2</sup> Cirurgião-dentista. Departamento de Dentística. Universidade de São Paulo - USP.

<sup>3</sup> Doutora em Dentística. Professora Associada do Departamento de Dentística da Universidade de São Paulo - USP.

<sup>4</sup> Mestre em Dentística. Departamento de Dentística. Universidade de São Paulo - USP.

<sup>5</sup> Professor Titular do Departamento de Dentística. Universidade de São Paulo - USP.

Contato: Andréa Dias Neves Lago. E-mail: adnlago@gmail.com

hidrogênio é um potente agente oxidante com capacidade de penetrar no esmalte e na dentina devido ao seu baixo peso molecular, e dessa forma, remover alterações cromáticas<sup>3,9-12</sup>.

No entanto, dependendo da técnica empregada, do número de sessões, da concentração do produto e do tempo de exposição ao agente clareador, podemos nos deparar com efeitos indesejados, como a sensibilidade dentinária trans e pós-operatória<sup>13</sup>, a alteração da morfologia superficial do esmalte<sup>7,10,12,14</sup> e alterações no conteúdo mineral<sup>15</sup>.

Independente da técnica e do agente clareador utilizado, sempre deve haver o cuidado de se preservar a estrutura dental clareada. Nesse sentido, as empresas têm se preocupado cada vez mais em lançar novos produtos que conservem ao máximo a estrutura dental sadia, preservando esmalte e dentina<sup>16</sup>.

Com o intuito de reduzir ou minimizar a desmineralização e/ou redução da microdureza que ocorre com a técnica de clareamento, surgem no mercado odontológico produtos com alterações na composição, como nitrato de potássio, flúor e cálcio. Existem inúmeras pesquisas que mostram os efeitos dos agentes clareados convencionais sobre a estrutura dental<sup>12,14,15</sup>. Porém, por ser uma abordagem recente da indústria odontológica, são necessárias mais pesquisas para se testar esses novos agentes com modificações nas suas composições visando verificar se os mesmos se adequam às exigências do mercado e minimizam ou evitam os efeitos indesejados.

O cálcio é um dos elementos mais abundantes do nosso organismo. Apresenta uma série de papéis metabólicos, além de contribuir para a formação estrutural dos ossos e dos dentes. Da mesma maneira que outros componentes, o cálcio passou a ser estudado e adicionado aos géis clareadores, comprovando-se que a adição separadamente de íons de cálcio aos géis diminui a perda mineral durante o tratamento de clareamento<sup>17</sup>. Todavia, o gel clareador com cálcio em sua composição é relativamente recente com a promessa de diminuir a desmineralização e prevenir a redução da microdureza que ocorrem com o clareamento dental<sup>10,18,19</sup>.

Dessa forma, este trabalho teve o objetivo de avaliar, *in vitro*, a microdureza do esmalte dental humano após o clareamento de consultório com agente a base de peróxido de hidrogênio a 35%, contendo ou não cálcio em sua composição.

## Métodos

Foram utilizados vinte e quatro incisivos humanos que ficaram armazenados em água destilada, sob refrigeração (4°C), até o momento da sua utilização.

### Preparo dos fragmentos de esmalte

Os dentes foram limpos com auxílio de curetas periodontais (SS White Duflex, Rio de Janeiro, Brasil) para remover os resíduos orgânicos e, em seguida, a profilaxia foi realizada com taça de borracha e escova de Robinson (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) acoplados ao contra-ângulo em baixa rotação (Kavo do Brasil, Joinville, SC, Brasil) utilizando uma pasta a base de com pedra-pomes e água.

Os dentes foram selecionados, através de uma lupa estereoscópica (SZ-PT/SZ40, Olympus, Hongo, Tóquio, Japão), e foram excluídos os que apresentassem trincas, fraturas ou qualquer desgaste na face a ser utilizada na confecção do fragmento.

Após a profilaxia, os dentes foram seccionados, com disco diamantado série 15C (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) acoplado à cortadeira de precisão (Labcut 1010, Extex, Erios, São Paulo, SP, Brasil), a 2 mm do limite amelodentinário, separando a coroa da raiz dental. Depois, a superfície vestibular de cada dente foi desgastada e fragmentos de esmalte de aproximadamente 5 x 5 mm foram confeccionados.

Os 24 fragmentos de esmalte humano foram incluídos em resina acrílica e em seguida, com o auxílio de uma politriz metalográfica (Ecomet, Buehler, Lake Bluff, IL, USA), foi realizado o desgaste com discos de carbeto de silício nas granulações de #400, #600, #1200, #4000 (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração constante com água. Os fragmentos de esmalte foram, então, polidos com disco de feltro (Texmet 1500, 8"PSA, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) associado a uma pasta de diamante de 1 µm (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). Ao final, os fragmentos permaneceram em lavadora ultrassônica digital (Kondortech, São Carlos, SP, Brasil) por 15 minutos com o intuito de remover a camada de esfregaço dentinário.

## Clareamento

Os 24 espécimes de esmalte dental humano foram divididos aleatoriamente, em dois grupos (n=12): G1: espécimes clareados com agente a base de peróxido de hidrogênio a 35% e sem cálcio na sua composição (Whiteness HP, FGM, Joinville, SC, Brasil) e G2: espécimes clareados com agente a base de peróxido de hidrogênio a 35% contendo cálcio (Whiteness Blue, FGM, Joinville, SC, Brasil).

Os espécimes foram colocados em recipientes separados e, antes de cada clareamento, foi realizada a profilaxia com escova de Robinson (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil), juntamente com uma pasta a base de pedra-pomes e água.

No grupo G1, foi utilizado o peróxido de hidrogênio 35% (Whiteness HP 35% - FGM, Joinville, SC, Brasil). O frasco foi agitado vigorosamente antes de ser usado. As fases do clareador foram misturadas na proporção de 3 gotas da fase 1 (peróxido) para 1 gota da fase 2 (espessante). O tempo de permanência do gel na superfície foi de 15 minutos. Ao final do tempo recomendado, o gel foi aspirado e os fragmentos limpos com gaze para receberem nova porção de gel. Ao todo, foram feitas três aplicações, com total de 45 minutos de clareamento. Ao final deste período, os fragmentos foram lavados com água em abundância para remover todo o agente clareador.

No grupo G2, o gel de peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP Blue Calcium 35% - FGM, Joinville, SC, Brasil) foi preparado misturando as duas fases (peróxido e espessante) com o auxílio das seringas do produto bem acopladas, empurrando seus êmbolos alternadamente por 8 vezes. Após, a mistura foi colocada uma ponteira para a aplicação de uma camada de gel de 0,02 mL sobre a superfície dos fragmentos. O

tempo de permanência do gel foi de 45 minutos, com aplicação única. Ao final, o gel foi aspirado e os fragmentos lavados com água em abundância para remover todo o agente clareador.

### Teste de Microdureza

O teste de microdureza superficial Knoop foi feito com o respectivo edentador em um microdurômetro (HMV-2000, Shimadzu, Kyoto, Japão) associado a um programa de computador (Programa CAMS-WIN, Computer Assisted Measurement System for Windows for Microhardness testers, Newage Testing Instruments, Inc, Southampton, PA). A carga de 100 kgf e o tempo de 15 segundos foram programados no equipamento<sup>20</sup>.

Foram realizadas 4 edentações em cada fragmento, a uma distância de 100 µm cada uma, em 3 momentos diferentes: antes do clareamento (*baseline*), imediatamente após o clareamento e 07 dias após a finalização do clareamento.

Ao verificar a normalidade e homogeneidade dos dados de microdureza, empregaram-se testes estatísticos paramétricos de análise de variância (ANOVA) seguido do Bonferroni para comparações múltiplas com nível de significância de 5%.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) sob o protocolo de nº79/2010.

### Resultados

Houve diminuição da microdureza do esmalte imediatamente após o clareamento, sendo que o grupo em que se utilizou o agente clareador sem cálcio (G1), esta diminuição foi mais acentuada. Os valores da microdureza retornaram aos valores iniciais após 7 dias do término do clareamento em ambos grupos (Tabela 1).

**Tabela 1** - Média dos valores de microdureza do esmalte dental dos grupos experimentais nos tempos estudados (antes do clareamento – inicial; imediatamente e 7 dias após o clareamento).

Tempo	Grupos	
	G1	G2
Inicial	319,02 ± 40,08a	329,04 ± 34,71a
Imediatamente após o clareamento	200,01 ± 25,32c	236,03 ± 34,23b
7 dias após a finalização do clareamento	256,02 ± 25,01a	267,03 ± 40,53a

### Discussão

O clareamento dental tem sido amplamente difundido e procurado pelos pacientes como forma de melhorar a cor de seus dentes<sup>2,3,7</sup>. Nesse sentido, as empresas têm se preocupado cada vez mais em lançar novos produtos que conservem ao máximo a estrutura dental sadia, preservando esmalte e dentina<sup>10</sup>.

Com o intuito de buscar métodos de prevenir a estrutura dental clareada, pesquisadores testaram o efeito da aplicação de géis remineralizantes, como o flúor neutro e o flúor associado ao cálcio após o clareamento e encontraram uma melhora significativa na microdureza do esmalte clareado<sup>11</sup>.

Novos estudos surgiram para investigar se a adição de agentes remineralizantes, como o cálcio e o

flúor, aos agentes clareadores protegem a estrutura dental contra os efeitos desmineralizantes<sup>14,19</sup> ocasionados durante o clareamento. O fato do cálcio ser adicionado ao peróxido de hidrogênio pode ser justificado pelas reações químicas que ocorrem no substrato dental durante o clareamento em consultório<sup>21</sup> e que tornam interessante a presença de minerais, como os íons de cálcio, durante a queda de pH e possível desmineralização do esmalte.

São vários os estudos que analisam os efeitos adversos provocados pelos agentes clareadores a base de peróxido de hidrogênio em altas concentrações (25-38%), podendo influenciar negativamente na rugosidade da superfície ou erosão do esmalte dental<sup>10,12-14,19,25</sup>.

Alguns autores concluíram que os agentes clareadores, dentre eles o peróxido de hidrogênio a 35% podem alterar não só a rugosidade e a morfologia superficial do esmalte dental, como também a microdureza superficial desse substrato<sup>7,10,12,14,22</sup>. Os resultados do presente estudo *in vitro* também evidenciaram que nos dois grupos experimentais houve uma redução dos valores de microdureza imediatamente após o clareamento dental, sendo maior no grupo em que o cálcio não estava presente.

Segundo estudos para que o processo remineralizador seja otimizado, além da presença de flúor no ambiente oral, deve haver também a disponibilidade de cálcio e fosfato<sup>23,24</sup>. As reações químicas que ocorrem durante a desmineralização são determinadas pela supersaturação de cálcio e fosfato e a presença ou não de flúor no biofilme.

Deste modo, têm-se desenvolvido produtos com a intenção de fornecer cálcio e fosfato para o ambiente oral e neste trabalho no grupo em que se utilizou um agente clareador sem cálcio na sua composição, os valores de microdureza imediatamente após o clareamento foram significativamente menores.

Ainda que na avaliação de 07 dias após o clareamento os valores de microdureza tenham retornado aos valores iniciais, a perda mineral imediatamente após a exposição ao peróxido de hidrogênio a 35% foi menor para o grupo em que o cálcio estava presente. Esse efeito protetor no grupo em que se utilizou o agente clareador com cálcio em sua composição estão de acordo com o trabalho de Cavalli et al.,<sup>19</sup>.

Esse dado se torna relevante quando se observa o aspecto clínico, momento em que as abordagens e as orientações aos pacientes podem ser distintas para cada um dos agentes clareadores utilizados.

Substrato mais desmineralizado em virtude da utilização de um agente clareador sem cálcio na sua composição pode, diante de uma nova queda de pH, desmineralizar ainda mais. Quanto mais um gel desmineraliza, mais susceptível fica este substrato a ser removido durante o polimento ou até mesmo dissolvido durante ingestão de bebidas ácidas. No entanto, outros estudos *in situ* e *in vivo* devem ser realizados para esclarecer o real papel do cálcio no período imediatamente após o clareamento dental.

Assim como diversos estudos da literatura<sup>7,11</sup>, os valores de microdureza final – após 07 dias de conclusão do clareamento – foram recuperados, sendo similares aos valores iniciais. Isso se deve ao armazenamento em saliva artificial, comprovando o efeito remineralizador da saliva<sup>25,26</sup>.

Freitas<sup>26</sup> *et al.*, reporta que a saliva exerce um papel importante na manutenção e recuperação do conteúdo mineral do dente, não só durante o clareamento, mas sempre que o pH intrabucal cair abaixo do nível crítico. A saliva neutraliza substâncias ácidas, inibindo a desmineralização e fornece íons minerais para substituir aqueles que foram perdidos, favorecendo a remineralização do esmalte e da dentina<sup>25</sup>.

Quanto à opção de não utilização de luz durante o clareamento, não se torna necessária quanto à efetividade, vários autores mostram que resultados semelhantes são encontrados com ausência de luz<sup>4,13,27</sup> e os fabricantes dos agentes clareadores utilizados neste trabalho não indicam a utilização de nenhum tipo de fonte de luz para acelerar a reação química de degradação do gel clareador.

É importante que os clínicos estejam sempre se atualizando antes de utilizarem em seus pacientes algum produto

novo baseado apenas nas recomendações dos fabricantes, pois, conforme os resultados deste trabalho e de acordo com Carvalho *et al.*,<sup>22</sup> o simples fato do agente clareador apresentar o cálcio na sua composição não inibe totalmente o dente contra a desmineralização inicial provocada pelo clareamento. Além disso, não se deve esquecer de algumas limitações encontradas em pesquisas *in vitro*, pois elas não refletem exatamente as situações *in vivo* encontradas uma vez que não reproduzem com fidelidade todas as situações presentes na cavidade oral de um indivíduo e nele como um todo.

Dessa forma, foi possível concluir que a microdureza do esmalte dental humano diminuiu imediatamente após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% com e sem cálcio. No entanto, esses valores de microdureza do esmalte são recuperados 7 dias após o término do clareamento.

## Referências

1. Cadenaro M, Navarra CO, Mazzoni A, Nucci C, Matis BA, Di Lenarda R *et al.* An in vivo study of the effect of a 38 percent hydrogen peroxide in-office whitening agent on enamel. *J Am Dent Assoc.* 2010; 141(4): 449-454.
2. Lago ADN, Freitas PM, Netto NG. Evaluation of the bond strength between a composite resin and enamel submitted to bleaching treatment and etched with Er:YAG laser. *Photomed and Laser Surg.* 2011; 29(2): 91-95.
3. Lago ADN, Garone-Netto N. Microtensile bond strength of enamel after bleaching. *Indian J Dent Res.* 2013; 24(1): 104-109.
4. Nutter BJ, Sharif MO, Smith AB, Brunton PA. A clinical study comparing the efficacy of light activated in-surgery whitening versus in-surgery whitening without light activation. *J Dent.* 2013; 41(Suppl.5): 3-7.
5. Goldstein RE, Garber DA. *Complete dental bleaching.* 1a. Ed. Chicago: Quintessence Books; 1995.
6. Lynch E, Sheerin A, Samarawickrama DY, Atherton MA, Claxson AW, Hawkes J *et al.* Molecular mechanisms of the bleaching actions associated with commercially-available whitening oral health care products. *J Ir Dent Assoc.* 1995; 41(4): 94-102.
7. Silva-Ferreira S, Araujo JL, Morhy ON, Tapety CM, Youssef MN, Sobral MA. The effect of fluoride therapies on the morphology of bleached human dental enamel. *Microsc Res and Tech.* 2011; 74(6): 512-516.
8. Francci C, Marson FC, Briso ALF, Gomes MN. Clareamento dental - técnicas e conceitos atuais. *Rev Assoc Paul Cir Dent.* 2010; (Ed Esp): 78-89.
9. Joiner A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *J Dent.* 2007; 35(12): 889-896.
10. Oliveira R, Paes Leme AF, Giannini M. Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. *Braz Dent J.* 2006 Feb; 16(2): 103-106.
11. Attin T. Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006; 20(0): 152-172.
12. Soldani P, Amaral CM, Rodrigues JA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching and thickening agents on human dental enamel. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2010; 30(2): 203-211.
13. Bortolatto JF, Pretel H, Neto CS, Andrade MF, Moncada G, Junior OB. Effects of LED-laser hybrid light on bleaching effectiveness and tooth sensitivity: a randomized clinical study. *Laser Phys.* 2013; 10(8): 085601.
14. Soares DG, Ribeiro AP, Sacono NT, Loguercio AD, Hebling J, Costa CA. Mineral loss and morphological changes in dental enamel induced by a 16% carbamide peroxide bleaching gel. *Braz Dent J.* 2013; 24(5): 517-521.
15. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. Micromorphology and surface roughness of sound and desmineralized enamel and dentin bleached with a 10% carbamide peroxide bleaching agent. *Am J Dent.* 2007; 20(2): 97-102.
16. Lee C. Effect of bleaching on microhardness, morphology and color enamel. *Gen Dent.* 1995; 43(2): 158-62.
17. Maia E, Baratieri LN, Caldeira de Andrada MA, Monteiro S Jr, Vieira LC. The influence of two home applied bleaching agents on enamel microhardness: An in situ study. *J Dent.* 2008; 36(1): 2-7.
18. Berger SB, Cavalli V, Ambrosano GM, Giannini M. Changes in surface morphology and mineralization level of human enamel following in-office bleaching with 35% hydrogen peroxide and light irradiation. *Gen Dent.* 2010; 58(2): 74-79.
19. Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Brancalion ML, Arruda MA, Berger SB, Giannini M. Effects of bleaching agents containing fluoride and calcium on human enamel. *Quintessence Int.* 2010; 41(8): 157-165.
20. Soprano V. *Estudo de parâmetros para ensaios de microdureza em amálgama de prata, resina composta, dentina e esmalte bovino* [Tese] São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2007 141 p.
21. Eimar H, Siciliano R, Abdallah MN, Nader SA, Amin WM, Martinez PP *et al.* Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure. *J Dent.* 2012; 40 (Suppl): 25-33.
22. Carvalho FG, Brasil VL, Silva-Filho TJ, Carlo HL, Santos RL, Lima BA. Protective effect of calcium nanophosphate and CPP-ACP agents on enamel erosion. *Braz Oral Res.* 2013; 27(6): 463-470.
23. Wegehaupt FJ, Tauböck TT, Stillhard A, Schmidlin PR, Attin T. Influence of extra- and intra-oral application of CPP-ACP and fluoride on re-hardening of eroded enamel. *Acta Odontol Scand.* 2012; 70(3): 177-183.
24. Reynolds EC. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res.* 2009; 21(1): 25-29.
25. Abouassi T, Wolkewitz M, Hahn P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. *Clin Oral Investig.* 2011; 15(5): 673-80.

26. Freitas PM, Teixeira ÉCN, Hara AT, Ritter AV, Serra MC. Efeito do clareamento caseiro sobre o equilíbrio mineral dos tecidos dentais: revisão da literatura. *Clinica Int J Braz Dent*. 2006; 2(2): 136-143.
27. Giachetti L, Bertini F, Bambi C, Nieri M, Scaminaci-Russo D. A randomized clinical trial comparing at-home and in-office tooth whitening techniques: A nine-month follow-up. *J Am Dent Assoc*. 2010; 141(11): 1357-1364.