



**UNICAMP**

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

**CAROLINE MATHIAS CARVALHO DE SOUZA**

**INFLUÊNCIA DE PARTÍCULAS BIOATIVAS E SAL DE ÔNIO NAS  
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE INFILTRANTES EXPERIMENTAIS**  
***INFLUENCE OF BIOACTIVE PARTICLES AND ONIUM SALT ON PHYSICAL-  
CHEMICAL PROPERTIES OF EXPERIMENTAL INFILTRANTS***

Piracicaba, 2019

**CAROLINE MATHIAS CARVALHO DE SOUZA**

**INFLUÊNCIA DE PARTÍCULAS BIOATIVAS E SAL DE ÔNIO NAS  
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE INFILTRANTES EXPERIMENTAIS**

***INFLUENCE OF BIOACTIVE PARTICLES AND ONIUM SALT ON PHYSICAL-  
CHEMICAL PROPERTIES OF EXPERIMENTAL INFILTRANTS***

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a 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 fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Clinical Dentistry, in Operative Dentistry area.

Orientadora: Prof. Dra. Giselle Maria Marchi Baron

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA CAROLINE MATHIAS CARVALHO DE SOUZA E ORIENTADA PELA PROF. DRA. GISELLE MARIA MARCHI BARON.

Piracicaba, 2019

**Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s):** CNPq, 140950/2017-6; CAPES, 88881.188490/2018-1; FAPESP, 2017/14378-6  
**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0718-1137>

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

So89i Souza, Caroline Mathias Carvalho de, 1989-  
Influência de partículas bioativas e sal de ônio nas propriedades físico-químicas de infiltrantes experimentais / Caroline Mathias Carvalho de Souza. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Giselle Maria Marchi Baron.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Hidroxiapatita. 2. Materiais dentários. 3. Polimerização. I. Marchi, Giselle Maria, 1970-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Influence of bioactive particles and onium salt on physical-chemical properties of experimental infiltrants

**Palavras-chave em inglês:**

Hydroxyapatite  
Dental materials  
Polymerization

**Área de concentração:** Dentística

**Titulação:** Doutora em Clínica Odontológica

**Banca examinadora:**

Giselle Maria Marchi Baron [Orientador]  
Luís Roberto Marcondes Martins  
Regina Maria Puppin Rontani  
Larissa Sgarbosa de Araújo Matuda  
Cristiane Rumi Fujiwara Yanikian

**Data de defesa:** 22-02-2019

**Programa de Pós-Graduação:** Clínica Odontológica

---

**Identificação e informações acadêmicas e profissionais da aluna**

- Orcid: 0000-0002-0718-1137

- Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5907479884314890>



**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 22 de Fevereiro de 2019, considerou a candidata CAROLINE MATHIAS CARVALHO DE SOUZA aprovada.

PROFª. DRª. GISELLE MARIA MARCHI BARON

PROFª. DRª. CRISTIANE RUMI FUJIWARA YANIKIAN

PROFª. DRª. LARISSA SGARBOSA DE ARAÚJO MATUDA

PROF. DR. LUÍS ROBERTO MARCONDES MARTINS

PROFª. DRª. REGINA MARIA PUPPIN RONTANI

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.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior, processo n° 88881.188490/2018-1. Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo n° 2017/14378-6. Agradeço à FAPESP pela concessão do auxílio pesquisa para esse projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo n° 140950/2017-6. Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado, durante a vigência deste no país.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e Extensão (FAEPEX), processo n° 3064/17.

Agradeço ao apoio do Laboratório Multiusuário do Centro de Combustível Nuclear do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP) pela utilização do equipamento Difratorômetro de raios X.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), na pessoa do Magnífico Reitor, **Prof. Dr. Marcelo Knobel**.

À direção da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Diretor **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto** e do Diretor Associado **Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar**.

À **Profa. Dra. Karina Gonzales Silvério Ruiz**, coordenadora dos cursos de Pós-Graduação e ao **Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão**, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

Agradeço à **Profa. Dra. Giselle Maria Marchi** pelos anos de amizade e orientação durante a pós-graduação. Foram muitos momentos especiais que serão lembrados sempre com carinho.

Agradeço à Oregon Health and Science University (OHSU) pela oportunidade de vivenciar a pesquisa e poder colaborar com vários projetos dessa instituição.

Agradeço à **Profa. Dra. Carmem Pfeifer** por ter me aceitado e orientado durante o período de estágio no exterior. Agradeço por toda a disponibilidade, paciência em ensinar e ouvir. Foi um período de intenso aprendizado que certamente agregará muito na minha carreira profissional.

Agradeço ao **Prof. Dr. Jack Ferracane** por todos os ensinamentos, a paciência, gentileza e generosidade. Um ser humano admirável e grande exemplo a todos.

Agradeço ao **Prof. Dr. Harry Davis** pela paciência, ensinamentos e disponibilidade em ajudar sempre.

Agradeço aos professores **Dra. Fernanda Pascon, Dr. Américo Correr, Dra. Raissa Machado e Dr. Fávio Aguiar** pela colaboração como banca de qualificação desse trabalho.

Agradeço aos professores **Dra. Larissa Matuda, Dra. Cristiane Yanikian, Dr. Luis Roberto Marcondes Martins, Dra. Regina Puppini-Rontani e Dra. Giselle Maria Marchi** pela colaboração como banca titular de defesa dessa tese.

Agradecimento especial à **Rafael Soares Gomes**, por todo apoio, dedicação, companheirismo ao longo desses anos, mas especialmente pela grande colaboração para que esse trabalho fosse possível. Seu profissionalismo e sua dedicação em tudo que faz é incrível!

Agradeço às amigas conquistadas durante o Doutorado Sanduíche e aos parceiros de laboratório: **Ana Paula, Luciana, Marcela, Julia, Rafael, Matt, Oscar, Steven, Yui, Nara, Clarissa, Christina e André**.

Agradecimento especial à **Julia Rontani**, 4 anos cruzando os corredores da FOP sem nenhum "oi" trocado. Quis a vida nos unir, pois ganhei a melhor *roommate* durante o período nos EUA e uma amiga para vida toda! Ninguém imaginaria como somos tão parecidas! Obrigada por compartilhar tantos momentos únicos e especiais!

Agradeço às amigas construídas ao longo dos anos no laboratório da PPR (Prótese parcial removível), meu segundo laboratório onde sempre fui acolhida e vivenciei momentos maravilhosos na pós-graduação. Agradecimento especial aos amigos: **Louise, Edmara, Olívia, Mariana Barbosa, Talita, Raíra, Sameh, Mariana Itaboraí, Mayara, Priscila, Marco, Dimorvan e Gislane**. A PPR é incrível!

Agradecimento especial à **Raissa Machado**, amiga dedicada e companheira de todas as horas, seja nos momentos científicos ou de lazer, está sempre ao meu lado! Obrigada a você e ao Hamilton por formarmos uma família aos finais de semana, pela minha afilhada Grise e por não me deixar me sentir só em Piracicaba.

Agradeço aos professores da Dentística por todos os ensinamentos transmitidos ao longo dos anos, as discussões durante seminários e por acreditarem no potencial dos alunos da pós-graduação. **Obrigada: Prof.<sup>a</sup> Giselle Marchi, Prof. Flávio Aguiar, Prof.<sup>a</sup> Vanessa Cavalli, Prof. Luis Alexandre Paulilo, Prof. Luis Roberto, Prof.<sup>a</sup> Débora Lima, Prof. Marcelo Gianinni**.

Agradeço à minha turma de Doutorado e a todo laboratório da Dentística, por todos

os momentos de troca científica, momentos de descontração e pela amizade durante esses anos. Agradecimento especial aos amigos: **Mariana, Renata, Bruna, Maicon, Rodrigo, Mayara Zaghi, Mayara, Daylana, Laura, Priscila, Janaína, Marcela, Marco Tulio, Daniele, Joyce e Thayla.**

Agradecimento especial à **Suelem**, amiga de todas as horas desde meu primeiro ano na pós-graduação, sempre prestativa e sincera. Muita troca científica e momentos maravilhosos juntas! Obrigada por tudo!

Agradeço a todos os técnicos, funcionários e professores da FOP que contribuem para a excelência da graduação e pós-graduação e um ambiente de trabalho harmônico para todos.

Agradeço aos meus amigos de Salvador, que sempre me incentivaram, torceram e vibraram com minhas conquistas. Estive ausente em muitos momentos importantes da vida de vocês e vocês foram muito compreensíveis e sempre ansiosos pela minha volta! Agradeço especialmente à **Vivianne, Carolina, Marcela, Sarah e Lívia.**

## RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a influência do hexafluorofosfato de difeniliodônio (DFI) e da adição do vidro bioativo 58S (VBA) e nanopartículas de hidroxiapatita (HAp) nas propriedades físicas e bioatividade de infiltrantes experimentais. Seis grupos experimentais e um grupo comercial foram utilizados no estudo (Icon®). Os grupos experimentais foram compostos de 75% TEGDMA e 25% Bis-EMA e o sistema fotoiniciador de 0,5 mol% de canforoquinona (CQ) e 1 mol% dimetilaminoetil benzoato (EDAB). Após a manipulação das bases monoméricas, foram adicionados ou não 0,5mol% de DFI, 10% de BAG produzido pelo método sol-gel ou nanopartículas de HAp. Todas as manipulações foram realizadas em ambiente com temperatura controlada (25 °C). A cristalinidade dos infiltrantes foi avaliada qualitativamente após imersão das amostras em FCS (Fluido Corporal Simulado) em diferentes períodos (6h, 1 dia, 3 dias e 7 dias) por meio da difração de raios X (DRX), espectrometria FT-IR e MEV para caracterização das partículas (n=1). Foram realizadas a avaliação da cinética de polimerização e o grau de conversão (GC, n=3), sorção em água, solubilidade (n=10), e viscosidade (n=3). Todos os corpos de prova foram polimerizados com fonte de luz LED, durante 40 segundos (Valo, Ultradent) para os corpos de prova imersos em FCS e para sorção e solubilidade. O tempo total de fotoativação para a cinética de polimerização foi de 5 minutos. Para as análises quantitativas, comparações estatísticas entre os grupos foram feitas usando análise de variância (ANOVA 1 fator) e teste de Tukey, com significância de 5%. Para todos os tempos de imersão no FCS, não foi detectada presença de cristalinidade nos grupos com VBA. DRX e FT-IR demonstraram presença de fase cristalina da HAp nos grupos com HAp. Icon e grupo com VBA sem DFI apresentaram menor grau de conversão em 40s (< 50%) e taxa de polimerização, enquanto a presença de HAp aumentou esses valores. DFI só aumentou a taxa de polimerização e GC em 40s para o grupo com VBA. Após 5 minutos de fotoativação todos os grupos apresentaram GC acima de 80%. Grupos com HAp apresentaram maior viscosidade, porém DFI diminuiu a viscosidade para os grupos com partículas. As partículas não influenciaram a sorção de água. A maior sorção de água foi apresentada pelo Icon. Não houve diferenças estatísticas para os valores de solubilidade. Pode-se concluir que a adição de 10% de VBA não melhora as propriedades físico-químicas estudadas nem produz efeito bioativo nos infiltrantes testados. Além disso, o DFI reduz a viscosidade gerada pela adição de partículas, bem como atenua a diminuição do GC promovida pela adição de VBA.

**Palavras-chave:** Materiais dentários. Polimerização. Hidroxiapatita.



## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of diphenyliodonium hexafluorophosphate (onium salt - DPI) and the addition of 58S bioactive glass (BAG) and hydroxyapatite nanoparticles (HAp) on physical properties and bioactivity of experimental infiltrants. Six experimental groups and one commercial control (Icon®) were studied. The experimental groups were composed by 75% wt TEGDMA and 25% wt Bis-EMA, the photoinitiator system was 0.5 mol% camphorquinone (CQ) and 1 mol% dimethylaminoethyl benzoate (EDAB). After manipulation of the blends, 0.5 mol% DPI, 10% BAG produced by the sol-gel method or HAp nanoparticles were added or not. Icon was used as a commercial control. All manipulations were performed in an environment with temperature (25 °C). The crystallinity of the infiltrants was qualitatively evaluated after immersion of the samples in SBF (Stimulated Body Fluid) at different periods (6h, 1 day, 3 days and 7 days) by means of X-ray diffraction (XRD), FT-IR spectrometry and SEM for characterization of the particles (n=1). Polymerization kinetics and degree of conversion (DC, n= 3), water sorption and solubility (n= 10) and viscosity (n = 3) were performed. All specimens were polymerized with LED light source for 40 seconds (Valo, Ultradent) for samples immersed in SBF and water sorption and solubility. For polymerization kinetics the total time of photoactivation was 5 minutes. Statistical comparisons between groups were made using analysis of variance (one-way ANOVA) and Tukey's test with significance of 5%. After all periods of immersion in the SBF, no crystallinity was detected in the groups with BAG. XRD and FT-IR demonstrated presence of HAp crystalline phase in HAp groups. Icon and group B-BAG showed a lower degree of conversion (DC) in 40s (<50%) and polymerization rate, while the presence of HAp increased these values. DPI only increased the polymerization rate and DC in 40s for the BAG group. After 5 minutes of photoactivation, all groups presented DC above 80%. HAp groups showed higher viscosity, but DPI decreased the viscosity for groups with particles. The particles did not influence the sorption. The highest water sorption was presented by Icon. There were no statistical differences for solubility values. It can be concluded that the addition of 10% 58S BAG does not improve the physical-chemical properties studied nor produce bioactive effect. DPI reduces the viscosity presented by particles addition besides attenuate the DC decreasing promoted by BAG addition.

**Key-words:** Dental materials. Polymerization. Hydroxyapatites.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 ARTIGO: Influence of bioactive particles and onium salt on physical-chemical properties of experimental infiltrants.	15
3 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39
APÊNDICE 1: Metodologia ilustrada	43
ANEXOS	51
ANEXO 1: Submissão do artigo ao periódico	51
ANEXO 2: Verificação de originalidade e prevenção de plágio	52

## 1 INTRODUÇÃO

O diagnóstico precoce das lesões de cárie permite abordagens minimamente invasivas para o tratamento proposto, uma vez que lesões incipientes que atingem até o terço externo da dentina podem ser tratadas por meio da utilização de infiltrantes resinosos, em detrimento do tratamento restaurador, que inevitavelmente resulta em remoção de tecido dentário sadio (Schwendicke et al., 2015; Paris et al. 2007a). O tratamento remineralizador das lesões de cárie, por meio da utilização de fluoretos e medidas de orientação de higiene bucal tem limitações em relação à colaboração do paciente (Meyer-Lueckel e Paris, 2010; Meyer-Lueckel et al., 2015, Araújo et al. 2015). Dessa forma, a utilização de infiltrantes resinosos com o objetivo de preencher os poros da lesão e a difusão dos ácidos bacterianos, evitando a progressão da lesão cariosa, tem sido realizada com sucesso, de acordo com estudos (Paris et al., 2007b; Jia et al., 2012; Belli et al, 2011; Meyer-Lueckel et al., 2012; Paris et al., 2010a; Ekstrand et al. 2010).

A utilização de infiltrantes em lesões cariosas no esmalte e até terço externo da dentina pode ser feita em superfícies lisas ou na região interproximal, e também tem sido testada nas superfícies oclusais que são submetidas à cargas mastigatórias (Araújo et al., 2013; Paris et al., 2014; Lausch et al., 2017). Uma vez que o infiltrante é composto basicamente pelo monômero TEGDMA (trietilene glicol dimetacrilato), que apresenta alta hidrofília e é susceptível à degradação hidrolítica no meio oral, modificações de modo a melhorar as propriedades do material têm sido sugeridas (Paris et al., 2010b; Brambilla et al., 2014; Khalichi et al., 2004). Desse modo, a associação do TEGDMA ao monômero BisEMA (etoxifenol-A dimetacrilato de glicidilo) foi proposta, devido a sua característica mais hidrofóbica comparada ao TEGDMA e, ainda, por permitir alcançar propriedades mecânicas adequadas, necessárias para ampliar sua indicação para superfícies oclusais (Araújo et al., 2013).

Além disso, estudos relatam que a utilização de sistemas fotoiniciadores ternários em metacrilatos, com a incorporação de sais de ônio no sistema, têm capacidade de aumentar o grau de conversão, resultando em materiais com propriedades mecânicas superiores quando comparados aqueles utilizando sistemas fotoiniciadores binários (Ogliari et al., 2007; Ogliari et al., 2008; Ely et al., 2012;

Gonçalves et al., 2013). A influência do uso do sal de hexafluorofosfato de difeniliodônio (DFI) tem sido demonstrada para materiais resinosos como adesivos e cimentos, onde o mesmo se decompõe em radical fenil por meio da quebra da ligação entre o carbono e iodo do sal, após receber um elétron gerado pelo estado excitatório da canforoquinona, sendo esse radical capaz de iniciar a reação de polimerização dos monômeros. Os radicais gerados podem reagir com as aminas residuais por meio da liberação de prótons, gerando mais radicais amina livres e aumentando a reatividade do sistema (Ogliari et al., 2007; Dressano et al., 2016; Andrade et al., 2016; Crivello e Lam, 1977).

Diante dos desafios encontrados na cavidade oral, como o ciclo desmineralizador-rem mineralizador e o processo da doença cárie, é desejável que infiltrantes resinosos utilizados para impedir a progressão da lesão cáries tenham propriedades antimicrobianas e remineralizadoras, por meio da liberação de íons previamente selecionados, sem no entanto aumentar a degradação hidrolítica do material, uma vez que para liberação dos íons ocorre o fenômeno da solubilidade.

Portanto, o desenvolvimento de materiais restauradores com atividade antimicrobiana e remineralizadora tem sido objetivo de estudo nos últimos anos, uma vez que essas propriedades são importantes para reduzir o risco de cárie recorrente (Chiari et al., 2015). A bioatividade de um material refere-se a um processo biológico, com diversas características, entre as quais se destaca a presença de componentes que se dissolvem em um processo químico passivo, gerando precipitação de fosfatos de cálcio e materiais semelhantes à bioapatita (Frank Pfefferkorn et al., 2019).

Considerando a utilização dos infiltrantes resinosos em superfícies oclusais, estudos sugerem que a adição de partículas bioativas melhorariam as propriedades físico-químicas do material e, ainda, inibiria a formação de cárie recorrente na região infiltrada (Sfalcin et al., 2016; Khvostenko et al., 2016). Dessa forma, alguns tipos de partículas bioativas têm sido testadas em materiais resinosos, incluindo vidros bioativos de variadas composições e partículas de nano-hidroxiapatita (Sfalcin et al., 2016; Khvostenko et al., 2016; Hyun et al., 2015).

Os vidros bioativos são materiais à base de silicato, altamente biocompatíveis, inicialmente utilizados na área ortopédica, os quais são capazes de

estimular uma resposta biológica no corpo humano, sem, no entanto, produzir inflamação e toxicidade (Boccaccini et al., 2010; Abbasi et al., 2015). Na Odontologia, os biovidros desenvolvidos são importantes para a implantodontia, uma vez que auxiliam na manutenção da crista óssea alveolar após exodontias, por meio da ligação da hidroxiapatita formada na superfície do biovidro com o osso, de forma osteointegrada (Zhong e Greenspan, 2000; Hench, 2006).

A formação da camada de hidroxiapatita na superfície do material ocorre quando o vidro bioativo é exposto ao meio aquoso; assim, há uma troca iônica com o meio oral que permite a remineralização dental quando o vidro bioativo está incorporado em materiais restauradores, além de também estar relacionado à atividade antimicrobiana (Hyun et al., 2015). A produção de vidros bioativos pelo método convencional da fundição atinge altas temperaturas (1250-1400°C) e possui desvantagens, uma vez que alta pureza da partícula é requerida para uma ótima bioatividade, e o método convencional resulta em biovidros com impurezas, prejudicando sua bioatividade (Abbasi et al., 2015). O vidro bioativo 58S (60mol% SiO<sub>2</sub>, 36mol% CaO e 4mol% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) é um vidro bioativo conhecido produzido pelo método sol-gel. No método sol-gel a hidrólise dos componentes do vidro bioativo ocorre em meio aquoso favorecendo o controle de impurezas e produzindo vidros com bioatividade aumentada em comparação àqueles produzidos por meio de fundição (Sepulveda et al., 2001).

Outra partícula utilizada em compósitos é a Hidroxiapatita [HAp = Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>] devido a sua biocompatibilidade, osteocondutividade e bioatividade, com estudo demonstrando que nanopartículas de HAp têm desempenho superior que HAp de outros tamanhos. Assim, esta poderia ser incluída em infiltrantes sem prejudicar a penetração do material nos poros da lesão e, ainda, aumentaria o grau de conversão e a resistência contra desafios ácidos (Andrade Neto et al., 2016).

Além de poucos estudos demonstrarem que a incorporação de partículas bioativas melhoram as propriedades mecânicas de infiltrantes experimentais (Sfalcin et al., 2016; Andrade Neto et al., 2016), ainda faltam informações na literatura acerca do comportamento químico, físico e da bioatividade de infiltrantes contendo o vidro bioativo 58S ou nanopartícula de HAp. Além disso, há poucas informações a respeito dos sistemas fotoiniciadores ternários contendo DFI serem capazes de evitar uma

maior degradação hidrolítica de infiltrantes contendo partículas bioativas, uma vez que este sal melhora as propriedades mecânicas dos materiais resinosos. O objetivo do estudo foi avaliar a influência do hexafluorofosfato de difeniliodônio e da adição do vidro bioativo 58S e nanopartículas de hidroxiapatita nas propriedades físicas e bioatividade de infiltrantes experimentais. As hipóteses investigadas foram: 1 – Os infiltrantes contendo partículas bioativas seria capaz de exibir bioatividade demonstrada pela cristalinidade após a imersão em fluido corporal simulado; 2 – A adição de partículas bioativas aumentaria o grau de conversão de infiltrantes; 3 – O DFI seria capaz de diminuir a sorção de água e solubilidade e a viscosidade dos infiltrantes.

## **2 ARTIGO: Influence of bioactive particles and onium salt on physical-chemical properties of experimental infiltrants.**

Caroline Mathias<sup>a</sup>, Rafael Soares Gomes<sup>b</sup>, Carmem Silvia Pfeifer<sup>c</sup>, Giselle Maria Marchi<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Department of Restorative Dentistry, Piracicaba Dental School, University of Campinas, Piracicaba, São Paulo, 13414-903, Brazil.

<sup>b</sup> Department of Prosthodontics and Periodontology, Piracicaba Dental School, University of Campinas, Piracicaba, São Paulo, 13414-903, Brazil.

<sup>c</sup> Department of Restorative Dentistry, Division of Biomaterials and Biomechanics, Oregon Health & Science University, 97201, Portland, OR, USA.

### **Corresponding Author:**

#### **Caroline Mathias**

Department of Restorative Dentistry, Av. Limeira, 901, Piracicaba Dental School, University of Campinas, Piracicaba, São Paulo, 13414-903, Brazil.

Phone: +55 (019) 2106-5341

Email: caroline.mathias@hotmail.com

\*Este trabalho foi realizado no formato alternativo conforme Deliberação da Congregação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba No 306/2010 da Universidade Estadual de Campinas e submetido ao periódico Journal of Dentistry (Anexo 1).

## **Influence of bioactive particles and onium salt on physical-chemical properties of experimental infiltrants.**

### **ABSTRACT**

**Objectives:** To evaluate physicochemical properties of experimental infiltrants after addition of hydroxyapatite nanoparticles (HAp) or 58S bioactive glass (BAG) and diphenyliodonium hexafluorophosphate (DPI).

**Methods:** The resin matrix were composed by TEGDMA/Bis-EMA (3:1), 0.5 mol% camphorquinone (CQ) and 1 mol% dimethylaminoethyl benzoate (EDAB). Half of the blends received 0.5 mol% DPI, 10% wt BAG or HAp. Icon was used as commercial control. The groups were characterized by XRD, FT-IR spectrometry and SEM before and after SBF immersion in up to 7 days. Polymerization kinetics (n=3), water sorption and solubility (n=10) and viscosity (n=3) were performed. The samples were polymerized for 40 seconds, or 5 minutes for polymerization kinetics. Statistical analysis were made using one-way ANOVA and Tukey's test ( $\alpha=0.05$ ).

**Results:** XRD and FT-IR demonstrated presence of HAp crystalline phase only in HAp groups even after 7 days of SBF immersion. Icon and the binary BAG group showed lower degree of conversion (DC) in 40s (<50%) and polymerization rate, while the presence of HAp increased these values. DPI only increased polymerization rate and DC in 40s for BAG group. After 5 minutes, all groups presented DC above 80%. HAp groups showed higher viscosity, but DPI decreased the viscosity for groups with particles. The particles did not influence water sorption. Icon had the highest water sorption. There was no difference for solubility values.

**Conclusions:** BAG did not improve physical-chemical properties studied nor produced bioactive effect. DPI reduced viscosity promoted by particles addition besides attenuate the DC decreasing promoted by BAG addition.

**Clinical Significance:** The addition of bioactive particles in infiltrants should be seen with caution since they increase viscosity and may not bring major clinical improvements that justify their use. DPI might have indication only if any component is added to the infiltrant to act as a compensation mechanism.

**Key-words:** Infiltrant. 58S Bioactive glass. Hydroxyapatites. Icon.



## 1. INTRODUCTION

The use of infiltrant to treat initial caries lesions as white spots has been reported successfully [1-3]. This approach is used to create a mechanical barrier into the body lesion to avoid its progression, blocking the paths of bacterial acids [3]. Studies have been done evaluating the infiltrant application in pit and fissures lesions, besides the previously indication of its use on interproximal lesions [4-6]. However, the main concern about sealing this area is the retention of sealants over time, therefore the infiltration technique would be advantageous [6]. Considering that the occlusal surface is submitted to masticatory loadings [4-6] and the main component of the infiltrant is TEGDMA, a monomer with low mechanical properties and high hydrolytic degradation, modifications have been suggested in order to improve the properties of these materials [7-9].

One of these modifications is in the monomeric matrix of the infiltrants. The addition of BisEMA has been suggested, due to its hydrophobic characteristic compared to TEGDMA, providing materials with adequate mechanical properties [4]. Besides this, the incorporation of onium salts as diphenyliodonium hexafluorophosphate (DPI) in methacrylates has been reported as a strategy to improve the mechanical properties [10-12] due to its ability to increase the reactivity of polymerization system [13].

The functionalization of restorative materials has been studied, where antimicrobial and remineralizing properties are desirable to reduce the recurrent caries risk [14]. One of the limitations of the infiltrant is the absence of microfillers, which are important to promote mechanical strength, which limits the use of the material for occlusal surfaces [6]. Studies suggest the addition of bioactive particles in the resin-based materials would improve the physical-chemical properties of materials and also would inhibit the caries recurrence in the infiltrated region [15,16]. In this way, some compositions of bioactive glasses and nanohydroxyapatite particles have been tested in infiltrants and resin composites [15-17].

The bioactive glasses are silicate based materials, highly biocompatible, able to stimulate a biological response in the human body, without producing inflammation and toxicity [18-19]. The hydroxyapatite deposition on the material surface occurs

when the bioactive glass is exposed to aqueous environment. Thereby, there is an ionic exchange with the oral medium that allows dental remineralization when the bioactive glass is incorporated in restorative materials, besides also being related to the antimicrobial activity [20]. The production of bioactive glasses by the conventional method, melting process, which reaches high temperatures (1250-1400 °C) has numerous disadvantages, since high purity of the particle is required for an optimal bioactivity, and the conventional method results in impure bioactive glass, affecting its bioactivity [19]. The bioactive glass 58S (60 mol% SiO<sub>2</sub>, 36 mol% CaO and 4 mol% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) is the best known bioactive glass produced by the sol-gel method. In this way, the sol-gel method favors the control of impurities and produces glasses with increased bioactivity compared to those produced by melting [21].

Another particle incorporated in composites is Hydroxyapatite [Hap, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>] due to its biocompatibility, osteoconductivity and bioactivity, with a study demonstrating that HAp nanoparticles perform better than HAp of other sizes [17]. Thus, it could be included in infiltrants without impairing the penetration of the material into the lesion pores and, furthermore, increase the degree of conversion and resistance against acidic challenges [17].

Faced with the challenges to which dental materials are exposed in the oral cavity, such as the demineralizer-remineralizing cycle and the caries disease process, it is desirable that resin infiltrants have antimicrobial and remineralizing properties, through the release of previously selected ions. However, this release of ions may be affect the hydrolytic degradation of the material, considering that the water sorption and solubility are necessary for ion leaching [15].

Few studies have shown that the incorporation of bioactive particles improves the mechanical properties of experimental infiltrants [15,17]. Therefore, there is a lack of information in the literature about the chemical, physical and bioactivity performance of infiltrants containing 58S bioactive glass or HAp nanoparticle. In addition, few information is found about the capacity of DPI to prevent further hydrolytic degradation of infiltrants containing bioactive particles, since this salt improves the mechanical properties of resin materials.

The objective of this study was to evaluate the influence of the onium salt diphenyliodonium hexafluorophosphate and the addition of 58S bioactive glass and nanoparticles of hydroxyapatite on the physical properties and bioactivity of experimental infiltrants. The hypotheses of the study are: 1- the infiltrants containing bioactive particles would be able to exhibit bioactivity, showing crystallinity after SBF immersion; 2- the addition of bioactive particles would increase the degree of conversion of infiltrants; 3- DPI would be able to decrease the water sorption and solubility and viscosity of infiltrants.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

### **2.1 Synthesis of 58S bioactive glass by sol-gel method**

The 58S bioactive glass (BAG) was composed by 60mol % SiO<sub>2</sub>, 36mol % CaO and 4mol % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. A solution of tetraethoxysilane (TEOS, Si(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>, 98%, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany), dionized water (H<sub>2</sub>O), triethylphosphate (TEP, (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 99,8%, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) and calcium nitrate tetrahydrate (CaN<sub>2</sub>O<sub>6</sub> \* 4H<sub>2</sub>O) was made under continuous stirring until gelation. For this, 13.2 ml TEOS, used as precursor for silica (SiO), was added in 1.6 ml nitric acid and 9.5 ml water, stirred for 30 min. Then, 0.7 ml TEP, used as precursor for phosphate, was added in the mixture and after 20 min of stirring 5.8 g calcium nitrate tetrahydrate was added. To achieve the complete dissolution of calcium nitrate and hydrolysis reaction the stirring was maintained until forming a gel. The solution was oven dried at 180 °C for 6 h followed by the stabilization cycle in a furnace for 18 h at 700 °C. The dried products were pulverized in an agate mortar with a pestle and sieved to powders (particle size < 45 µm) [19,22].

### **2.2 Experimental infiltrants formulation**

Experimental infiltrants were made based on previous studies [10], in a controlled light and temperature room (25 °C). The resin blends were made by mixing 75 wt% triethylene-glycol-dimethacrylate (TEGDMA), 25 wt% ethoxy bisphenol A glycidyl dimethacrylate (BisEMA), 0.5 mol% camphoroquinone (CQ), 1 mol% ethyl 4-dimethylaminebenzoate (EDAB). This blend was divided into 6 experimental groups according to the photoinitiator system and unsilanized bioactive particles and the

infiltrant Icon (DMG, Hamburg, Germany) was used as commercial control, as shown in table 1.

After addition of 10 wt% Hydroxyapatite (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany, <200 nm) or 10 wt% 58S bioactive glass ( $\leq 45 \mu\text{m}$ ), the experimental infiltrants were mixed in a magnetic stirrer for 24 h. After, the mixtures were placed in a tub attached to a vacuum pump (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., Diadema, SP, Brazil) for 20 minutes to eliminate air bubbles. Subsequently, they were placed in an ultrasonic bath for 30 minutes to avoid agglutination of the particles. All experimental infiltrants were stored under refrigeration at 4 °C.

Table 1. Composition of groups according to photoinitiator system and bioactive particles used.

<b>Groups</b>	<b>Composition</b>
<b>B-Neat</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB
<b>T-Neat</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB/ 0.5 mol% DPI
<b>B-HAp</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB + 10 wt% Hydroxyapatite
<b>T-HAp</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB/ 0.5 mol% DPI + 10 wt% Hydroxyapatite
<b>B-BAG</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB + 10 wt% 58S Bioactive glass
<b>T-BAG</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB/ 0.5 mol% DPI + 10 wt% 58S Bioactive glass
<b>Icon</b>	TEGDMA resin-based

All materials were from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). TEGDMA: triethylene glycol dimethacrylate; Bis-EMA: ethoxy bisphenol A glycidyl dimethacrylate; CQ: camphorquinone; EDAB: ethyl 4- (dimethylamino) benzoate; DPI: diphenyliodonium hexafluorophosphate; B: binary; T: ternary.

### 2.3 SBF immersion

To evaluate the ability of forming hydroxyapatite on the surface of the infiltrant, resin disks were made (9.5 mm x 2 mm; n=1) using a metallic matrix and photoactivated for 40 seconds (Valo corded, 1000 mW/cm<sup>2</sup>, Ultradent, South Jordan, UT, USA) under a mylar strip. The samples were initially qualitatively characterized using XRD, FT-IR and SEM (JSM-5600LV, Jeol, Boston, Massachusetts, EUA). Then, the samples were immersed in SBF solution (in 10<sup>-3</sup> mol: 142 Na<sup>+</sup>, 5 K<sup>+</sup>, 1.5 Mg<sup>2+</sup>, 2.5 Ca<sup>2+</sup>, 147.8 Cl<sup>-</sup>, 4.2

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 1.0 HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, 0.5 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, pH=7.4) during 6h, 1, 3 and 7 days, using 7ml of SBF for sample at 37 °C. The SBF solution was replaced every 3 days to avoid increasing the concentration of cations in the solution. After these periods, the samples were washed with distilled water and dried to XRD. The FT-IR and SEM analysis were performed using the samples non-submitted to SBF and samples submitted to SBF for 7 days.

The XRD assay was performed using an X-ray powder diffractometer Bruker D8 Advance 3kW (Karlsruhe, Germany) equipped with Cu K $\alpha$  tube, 40 kV voltage and a 30 mA. For FT-IR spectroscopy analysis, the specimens were grounded on an agate mortar and pressed in a disks with KBr at a ratio between 1:30 (sample:KBr). The spectra were recorded in the range 4000-400 cm<sup>-1</sup> with 32 scans at 4 cm<sup>-1</sup> resolution using the FT- IR (Nicolet 6700 FTIR, Thermo Scientific, Pittsburgh, PA, USA).

## 2.5 Photopolymerization reaction kinetics and degree of conversion

Degree of conversion and polymerization kinetics were monitored by near-infrared in a spectrometer (Nicolet 6700 FTIR, Thermo Scientific, Pittsburgh, PA, USA). Infiltrant samples were placed in silicone rubber molds ( $n = 3$ ;  $\varnothing = 5.0$  mm;  $h = 0.5$  mm) sandwiched between glass slides and positioned inside the FT-IR. FT-IR spectra (2 scans per spectrum, 4cm<sup>-1</sup> resolution, with collection speed of two spectra/s) were collected during 330 s, in which the first 30 seconds were without photoactivation and the remaining 300 seconds were performed with photoactivation. The materials were photoactivated with 390 mW/cm<sup>2</sup>, due to the distance of 3 cm from the LED device to the sample surface (Valo cordless, Ultradent, South Jordan, UT, USA). The peak area corresponding to vinyl stretching (6165 cm<sup>-1</sup>) was used. Degree of conversion (DC) was calculated from the ratio of peak area according the formula:  $DC = \left(1 - \frac{\text{monomer area}}{\text{polymer area}}\right) \times 100$

The rate of polymerization (Rp) was calculated as the first derivative of the conversion vs. time curve. Kinetics parameters as maximum rate of polymerization Rp<sub>max</sub> (%/s) and DC at Rp<sub>max</sub> (%) were determined.

## 2.6 Viscosity assessment before curing

All groups were subject to rheological analysis using a cone-plate rheometer (ARES, TA Instruments, New Castle, DE, USA). Approximately 1 g of each material was placed between 20-mm diameter plates, tested at 1Hz with a gap of 0.3mm and shear rate ranging from 0.1 to 100s<sup>-1</sup> (n=3).

## 2.7 Water Sorption and Solubility

The water sorption (WS) and solubility (Sol) tests were performed based on ISO 4049:2009, except for sample dimensions. Resin infiltrant disks were made (n=10) using a polyvinyl siloxane mold (Express XT Putty Soft-VPS; 3M ESPE, St. Paul, MN, USA), (5 mm x 1 mm), covered with a polyester strip and photoactivated for 40 seconds (Valo corded, 1000 mW/cm<sup>2</sup>; Ultradent, South Jordan, UT, USA). The samples were dried in a desiccator containing silica gel (37 °C) and weighed daily on a precision analytical balance (AUW220D Shimadzu, Kyoto, Japan) until a constant mass (*m1*) be obtained (i.e. when the weight varied less than 0.1 mg in 24 hours). The volume (*v*) of all of the disks was calculated using a digital caliper (Mitutoyo, Kanagawa, Japan) and then the specimens were immersed in 1.5 ml of deionized water at 37 °C using microtubes (Flex-tube; Eppendorf, Hamburg, Germany). After 7 days, the samples were washed in running distilled water, blot-dried, weighed (*m2*), and then returned to the desiccator (silica gel, 37 °C). These samples were weighed daily until a new constant mass be achieved (*m3*). The values of water sorption and solubility were calculated using the following formulas respectively:

$$WS = \frac{(m2-m3)}{v} \text{ and } Sol = \frac{(m1-m3)}{v}.$$

## 2.8 Statistical analysis

The normality and homogeneity of the studied parameters were checked for the for quantitative analyzes using Shapiro-Wilk and Levene's test, respectively. All groups presented normal distribution and homogeneity of variance. Statistical comparisons between the groups were made for the for quantitative analyzes using analysis of variance (one-way ANOVA) and post hoc comparisons by Tukey's test with a significance level of  $\alpha=0.05$  using SPSS 23 (IBM Corp., Somers, NY, USA).

# 3 RESULTS

## 3.1 SBF immersion

The XRD pattern of the infiltrants at baseline are showed in figure 1. The XRD pattern of the groups without particles, as expected, shows no crystalline peaks. Instead, they show a characteristic pattern of polymers with a broad hump distributed in a wide range ( $2\theta$ ) indicating an amorphous state, instead of high intensity narrower peaks. The BAG groups present similar pattern compared to no-particle groups since the 58s particles present also a disorderly and amorphous nature when not submitted to a crystallization process. Differently, the HAp groups show several sharp peaks typical from HAp, indicating also a high crystallinity by presenting a similar ratio between  $2\theta$  position of 32.166 (112 plane) and 32.92 (300 plane). No difference was observed in the XRD patterns after 7 days of SBF immersion (figure 2), nor any of the evaluated days (6h, 1 day and 3 days), for all groups.

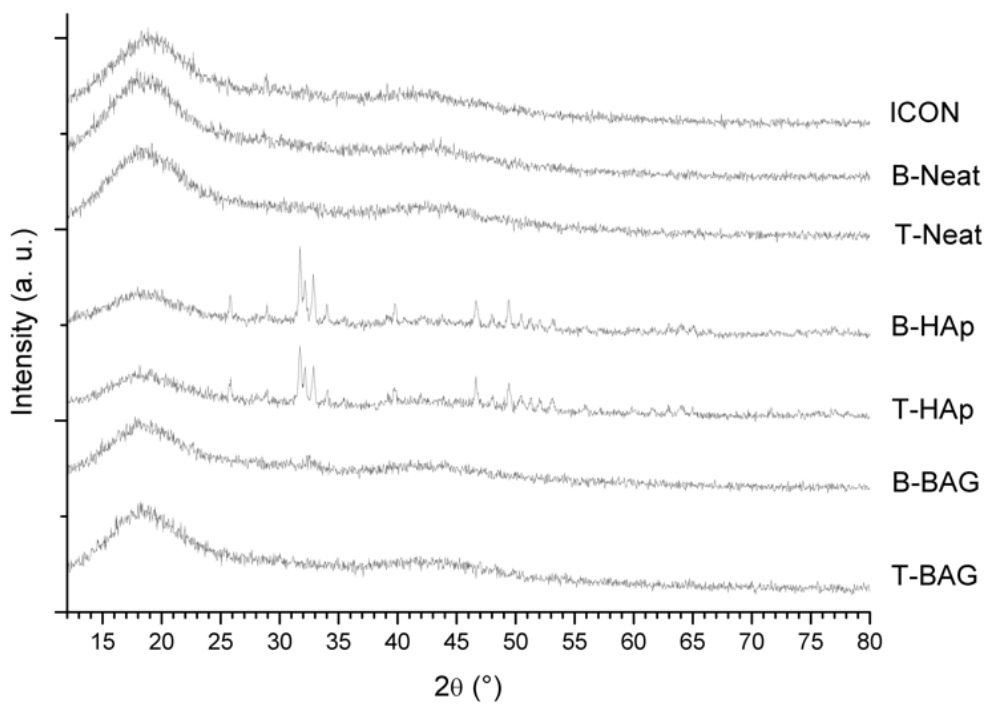


Figure 1. XRD patterns obtained from all groups at baseline (no SBF immersion).

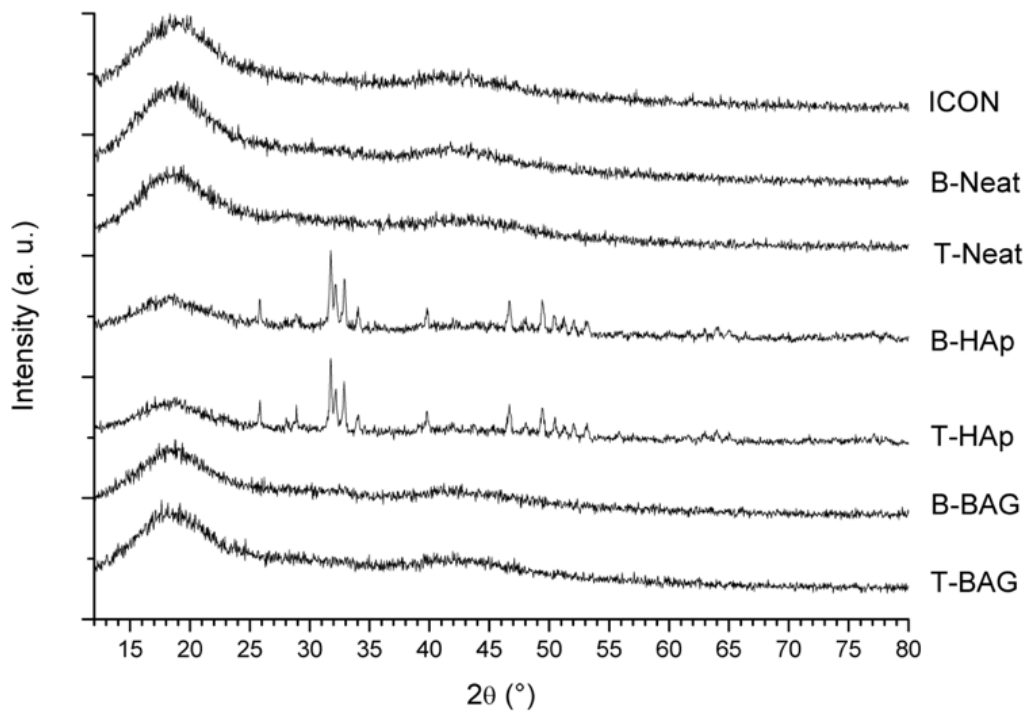


Figure 2. XRD patterns obtained from all groups after 7 days of SBF immersion.

The infrared transmittance spectra of the samples before and after 7 days in immersion in SBF are showed in figure 3. The BAG groups did not show crystallinity after SBF immersion due to the absence of the  $\text{PO}_4^{3-}$  functional group, following the same results of XRD analysis. The broad band in spectral region  $3100\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  is caused by the adsorbed water with a peak at  $3448\text{ cm}^{-1}$  assigned to the hydroxyl group stretching mode [23]. The other main peak is presented in  $1730\text{ cm}^{-1}$  assigned to C=O stretch. The groups with particles showed a slight difference in the peaks. HAp groups showed peaks at the region of  $1040\text{ cm}^{-1}$  and  $560\text{ cm}^{-1}$  assigned to asymmetric stretching mode of the  $\text{PO}_4^{3-}$  functional group [24] while BAG groups showed a peak at  $1080\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$  that corresponds to Si-O-Si stretching.



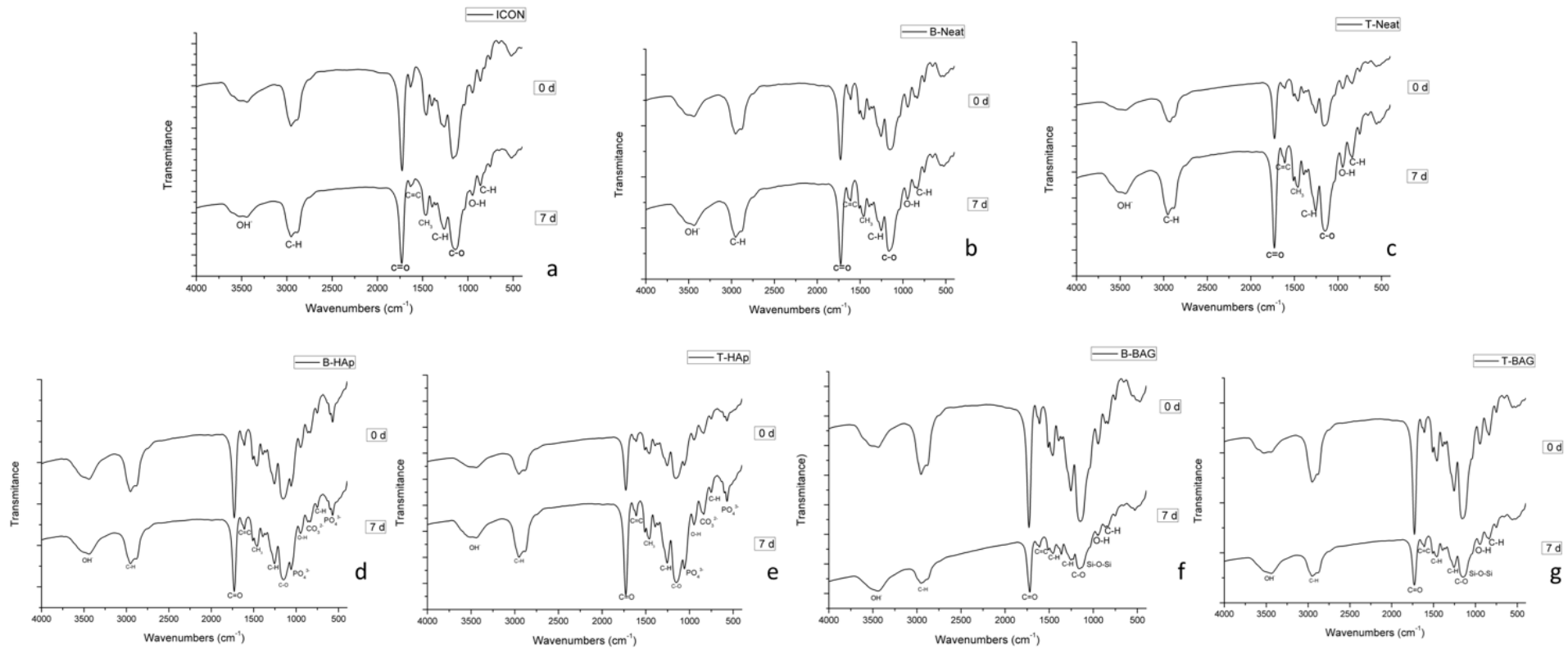


Figure 3. FT-IR patterns obtained from all groups at baseline and after 7 days of SFB immersion. a – represents FT-IR patterns for Icon group; b - represents FT-IR patterns for B-Neat group; c - represents FT-IR patterns for T-Neat group; d - represents FT-IR patterns for B-HAp group; e - represents FT-IR patterns for T-HAp group; f - represents FT-IR patterns for B-BAG group; g - represents FT-IR patterns for T-BAG group.

The representative SEM images (figure 4) show the surface of Icon and infiltrants disks before (left images) and after 7 days of SBF immersion (right images). The images 4e and 4f show the distribution of HAp nanoparticles. Some agglomerates can be seen, but in general the distribution of HAp is more homogeneous than 58S BAG distribution. However, no difference was noticeable in the HAp particles after 7 days of SBF immersion. Less particles can be seen in the 4g and 4h images, representing 58S BAG. There were more agglomeration of these particles if compared to HAp, and also more size variation. It was observed a slight increase in the concentration of these particles after 7 days of SBF immersion.

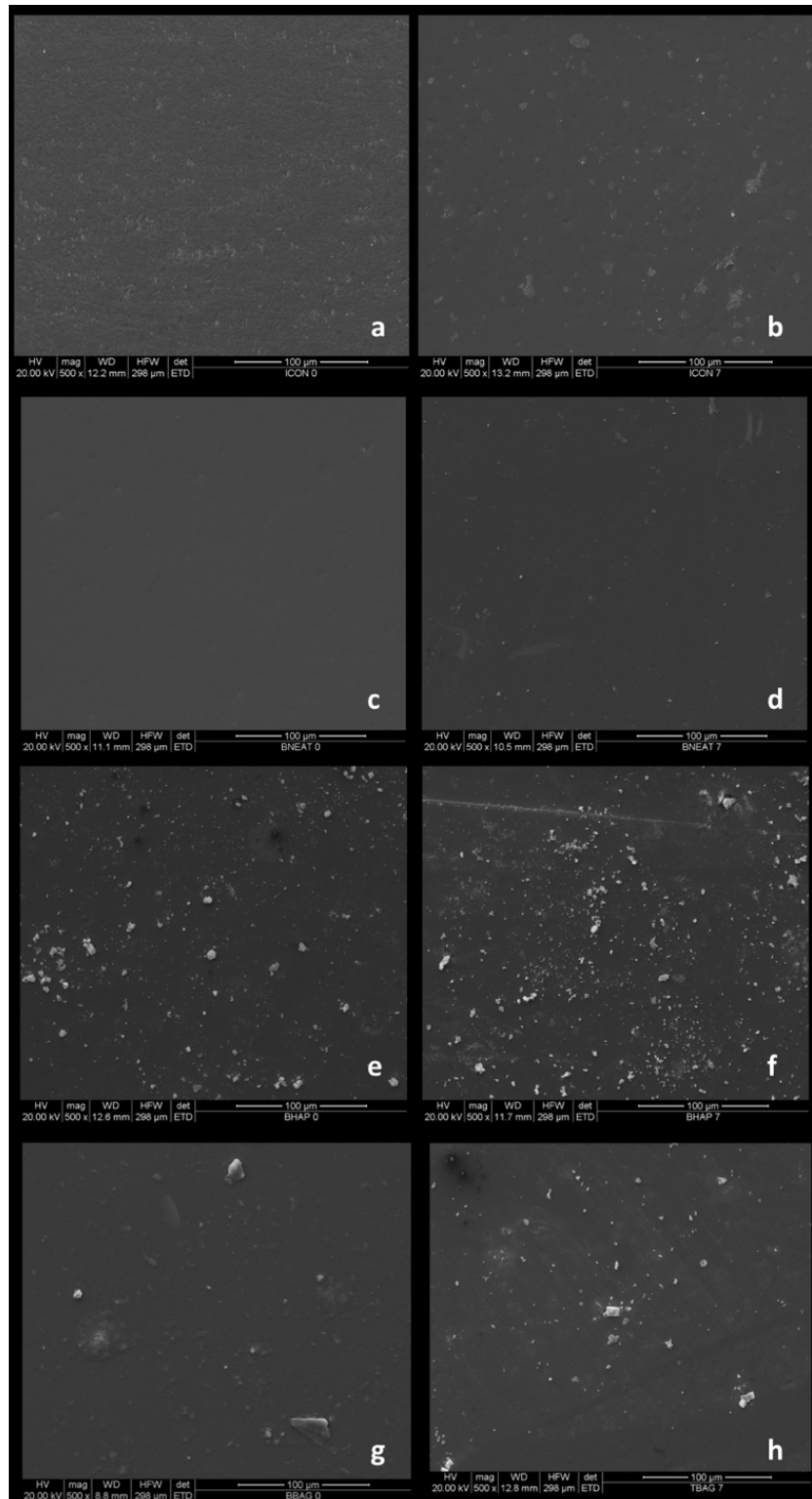


Figure 4. SEM representative images of the groups at baseline and after 7 days of SBF immersion. It can be noted the absence of particles in the groups Icon at baseline (a) and after 7 days of SBF immersion (b) and Neat group at baseline (c) and after 7 days of SBF immersion (d). Images (e) and (f) show the small aggregates of HAP particles, dispersed in the resin before and after SBF immersion, respectively. Images (g) and (h) show the BAG particles dispersed in the resin, with a slight increase in the concentration of particles after 7 days of SBF immersion (h).

### 3.2 Photopolymerization reaction kinetics and degree of conversion

At 40 seconds of photoactivation, Icon and B-BAG groups had the lowest conversion values, which were below 50% (DC at 40s, table 2). At the same time, the Neat and HAp groups did not differ significantly in the degree of conversion values, ranging from 70.86 to 77.60%. After 5 minutes of photoactivation, all groups presented conversion values higher than 80% (figure 5).

Table 2. Mean and standard deviation of maximum rate of polymerization (Rpmax), degree of conversion at maximum rate of polymerization (DC at Rpmax), DC at 40s and Final DC according to the groups.

	<b>Rpmax (% s-1)</b>	<b>DC at Rpmax (%)</b>	<b>DC at 40s (%)</b>	<b>Final DC (%)</b>
<b>Groups</b>	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)
<b>Icon</b>	1.59E-02 (8.41E-04) <sup>c</sup>	46.26 (2.02) <sup>b</sup>	44.94 (1.85) <sup>c</sup>	84.32 (1.15) <sup>a</sup>
<b>B-Neat</b>	3.66E-02 (2.41E-03) <sup>a</sup>	50.31 (1.74) <sup>ab</sup>	74.01 (3.28) <sup>a</sup>	84.05 (0.84) <sup>ab</sup>
<b>T-Neat</b>	3.45E-02 (1.61E-03) <sup>a</sup>	47.98 (1.30) <sup>b</sup>	70.86 (1.28) <sup>a</sup>	84.63 (0.62) <sup>a</sup>
<b>B-HAp</b>	3.42E-02 (3.44E-03) <sup>a</sup>	54.97 (4.38) <sup>a</sup>	77.60 (3.12) <sup>a</sup>	83.70 (0.88) <sup>ab</sup>
<b>T-HAp</b>	4.01E-02 (2.92E-03) <sup>a</sup>	46.97 (2.41) <sup>b</sup>	75.58 (3.87) <sup>a</sup>	84.65 (1.13) <sup>a</sup>
<b>B-BAG</b>	1.36E-02 (1.66E-03) <sup>c</sup>	33.73 (1.59) <sup>c</sup>	47.12 (2.95) <sup>c</sup>	81.42 (1.01) <sup>b</sup>
<b>T-BAG</b>	2.35E-02 (9.35E-04) <sup>b</sup>	48.21 (2.23) <sup>a</sup>	57.95 (2.36) <sup>b</sup>	83.93 (1.02) <sup>ab</sup>

Values followed by the same letter in the same column are statistically similar (One-way ANOVA/Tukeys test,  $p \leq 0.05$ ).

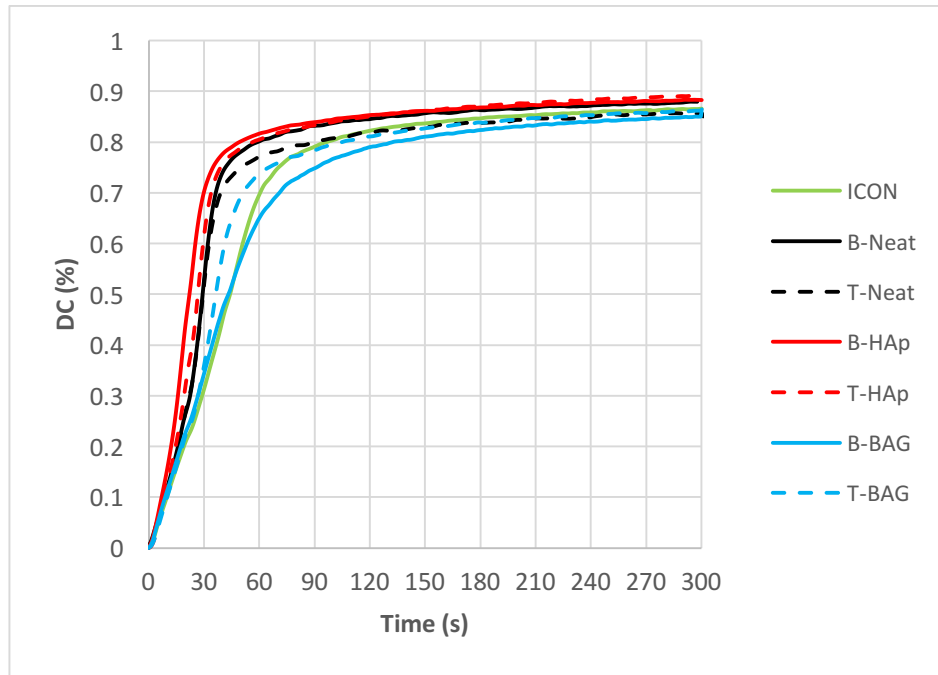


Figure 5. Degree of conversion (DC) x time of all groups.

The maximum rate polymerization ( $R_{pmax}$ , table 2) had a same trend of DC at 40s, Icon and B-BAG group had slower rates, B-BAG presenting the lowest DC at  $R_{pmax}$ . All groups presented the double kinetic profile (figure 6).

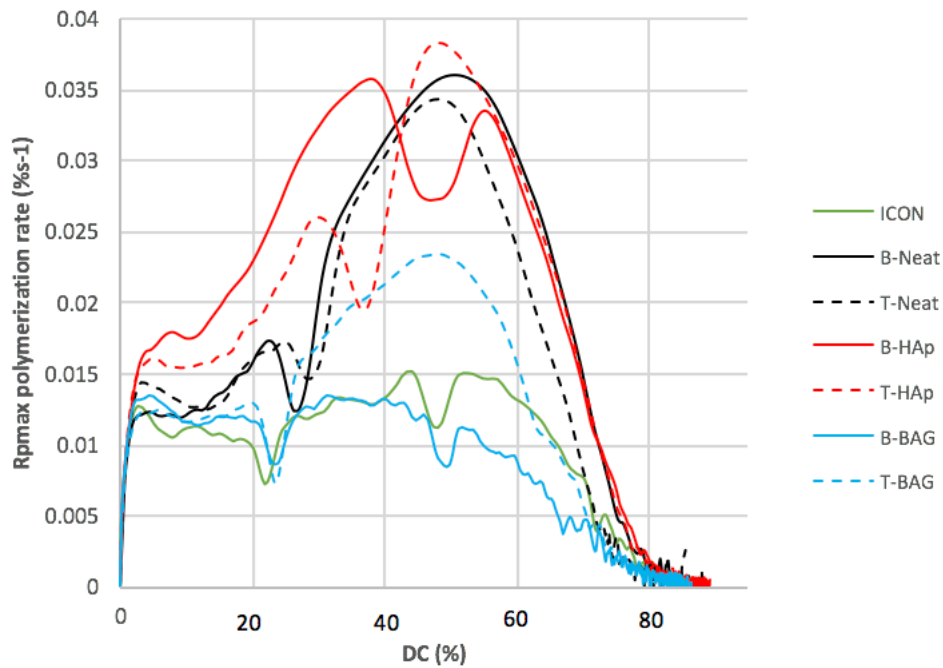


Figure 6. Rate polymerization ( $R_{pmax}$ ) x degree of conversion (DC) of all groups.

### 3.3 Viscosity assessment before curing

All experimental infiltrants presented significant increase in viscosity compared to Icon (Figure 7) that showed the statistically lower viscosity. B-HAp group presented the highest value among the groups and no statistical difference was found between the groups without filler. DPI decreased the viscosity for groups containing the particles, rendering T-BAG similar to Neat groups.

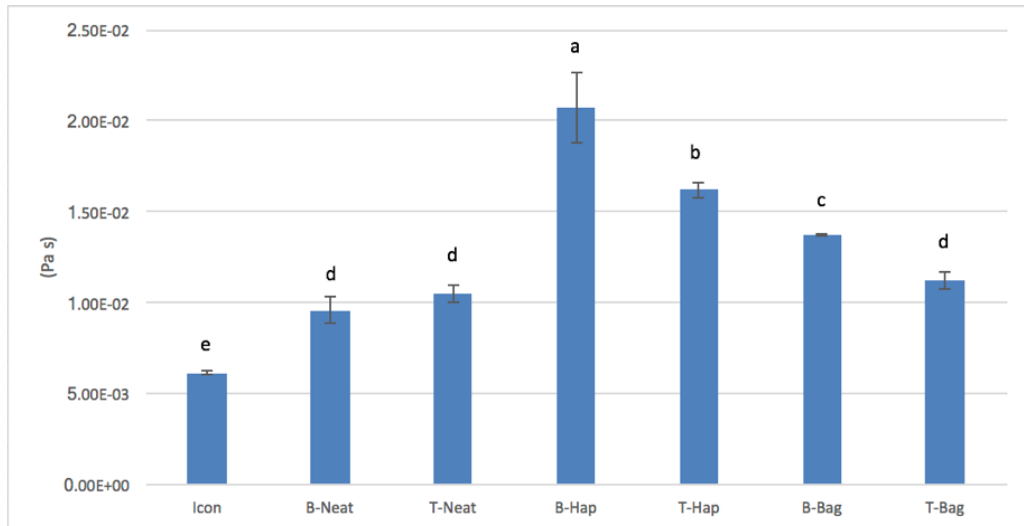


Figure 7. Mean and standard deviation for viscosity according to the groups. Values followed by the same letter are statistically similar (One-way ANOVA/Tukeys test,  $p \leq 0.05$ ).

### 3.4 Water Sorption and Solubility

Icon presented the highest value of water sorption among the tested groups. The lowest value of water sorption was found for B-Neat (Table 3). No statistically significant difference was found for the solubility values (Table 3).

Table 3. Mean and standard deviation of water sorption and solubility according to the groups ( $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ ).

Groups	Water Sorption (SD)	Solubility (SD)
Icon	49.58 (5.84) <sup>a</sup>	5.16 (3.03) <sup>a</sup>
B-Neat	30.55 (3.63) <sup>c</sup>	6.13 (2.01) <sup>a</sup>
T-Neat	38.63 (3.88) <sup>b</sup>	5.35 (1.96) <sup>a</sup>
B-HAp	35.18 (3.76) <sup>bc</sup>	7.55 (1.64) <sup>a</sup>
T-HAp	38.48 (4.36) <sup>b</sup>	8.14 (3.10) <sup>a</sup>
B-BAG	36.29 (4.37) <sup>bc</sup>	7.22 (1.96) <sup>a</sup>
T-BAG	38.78 (4.13) <sup>b</sup>	6.39 (2.33) <sup>a</sup>

Values followed by the same letter in the same column are statistically similar (One-way ANOVA/Tukeys test,  $p \leq 0.05$ ).

#### 4. DISCUSSION

The experimental infiltrants in this study presented variable changes in the physical properties tested after incorporation of bioactive particles and few changes after adding DPI. The first hypothesis of this study can not be accept, once was not possible to confirm the bioactivity of 58S bioactivity glass. The incorporation of bioactive particles in infiltrants is innovative and enables its use in pit and fissures lesions, once the occlusal surface requires a material with better mechanical properties. Few studies have investigated the addition of particles in infiltrants [6,15,17]. One study has tested the incorporation of many types of bioactive particles, but only mechanical properties were performed [15]. Additionally, the crystalline phase of HAp nanorods investigated by Andrade et al. (2016) was characterized by XDR and FT-IR only before its incorporation into the material. At our knowledge, no information was found in the literature regarding the functionality of the bioactive particles after incorporation into the infiltrants.

Considering studies that investigated the antimicrobial effect of bioactive glasses in dimethacrylate-based dental resin, perhaps the addition of only 10% of BAG in the infiltrants may not be sensible enough to have its bioactivity demonstrated by XDR and FT-IR in this study [16,19,25]. According a study, which tested the incorporation of 10% or 20%wt of BAG in experimental adhesives, at 20%wt concentration, the nanoparticles presented bioactivity while 10%wt concentration seems to be low to induce the expected effect in the material [25], this fact was also observed in the present study. Once the addition of particles in infiltrants increase its viscosity, the authors recommend the incorporation of at most 15%wt particles to not harm the penetrability of the infiltrant [26].

The monomer size, mobility and functionality are factors that can influence the rate of polymerization of the material [27]. The rate of polymerization of all groups presented a double kinetic profile formed by two phases. This could be occurred due to the presence of microgels resulting in the polymerization-induced phase separation [28]. Also, TEGDMA-rich mixtures can form island of heterogeneity and tends to primary cyclization, where the pendant double bond reacts intramolecularly [28-30]. This two factors may be result in a synergistic effect leading to the double kinetic profile presented, once all groups were composed by at least 75% of TEGDMA.

Icon presented the lowest DC after at least 40 seconds of photoactivation, which is the time of curing recommended by the manufacturer. However, the irradiance used in this study has to be considered. Studies have found about 50-56% of degree of conversion, considering 60s photoactivation time for Icon [15,31]. The low DC of Icon could be explained by the high amount of TEGDMA (> 90%) in the material [15]. Therefore, the addition of other low viscosity monomers as Bis-EMA could improve the polymerization of dimethacrylates, resulting in a cross-linked polymer that is related to better mechanical properties [15,27].

The presence of HAp increased the DC at 40s compared to Icon and BAG particles, therefore the second hypothesis of this study was partially accepted. This found could be explained by the crystallinity of HAp, its diffraction and less scattering effects may increase the rate of polymerization [17]. However, the addition of BAG worsened polymerization kinetics, so possibly the vitrification happened earlier, resulting in lower overall DC. It can be explained by the inhibition of free-radical polymerization by electron transfer to oxides on the surface of particles [32]. This may occur when the particles are unsilanized, so the oxide radicals formed are not able to continue the reaction at the near-room temperature [32]. The particles were unsilanized to allow an improved ion release.

Regarding DC at 40s, binary and ternary groups are similar, except when BAG is present. It seems that the addition of DPI was not much helpful if the rate is lower, because as DPI is a third component of the photoinitiator system, the reaction becomes more sensitive and needs more activation energy to occur. In the reaction, DPI decomposes into a phenyl radical by breaking the bond between the carbon and iodine of the salt after receiving an electron generated by the excitatory state of camphorquinone. The generated radicals can react with the residual amines by releasing protons, generating more free amine radicals [13].

The lowest viscosity was found to Icon, due to the low molecular weight of TEGDMA. Some rheology studies showed that viscosity increase exponentially when smaller particles are added in the matrix [33]. Therefore, the presence of HAp and BAG increased the viscosity as expected, being that B-HAp presented the higher viscosity due to its smaller size (< 200nm). However, DPI was able to compensate for this increasing, reducing the viscosity and rendering T-BAG group similar to Neat groups.



Although the higher viscosity has been found for HAp groups, this fact did not influence DC, as well as, B-BAG that presented lowest DC did not have higher viscosity than HAp groups. It is known that the higher the viscosity of the material the lower DC reached by this, because of the reduced chain mobility in free-radical polymerization. However, it is possible to obtain similar DC from blends with different viscosities, once the blends have different structures and reactivities. Moreover, the intermolecular and intramolecular interactions in the uncured material and during the photopolymerization are not the same [34]. In this study, it seems that the interaction between the particles and the light had more influence in the DC than the viscosity of the material.

Considering that the partition coefficient in water ( $\log P$ ) of TEGDMA is 1.42 and BisEMA is 6.01 and that the more  $\log P$  is near zero the higher the hydrophilicity of the monomer, it is clear that Icon presented higher water sorption due to higher concentration of TEGDMA in its composition. The water sorption is usually related to the conversion achieved by the polymer besides the nature of its network [30], what it was true for Icon. However, the B-BAG group also presented lowest DC at 40s (time of photoactivation for WS/Sol tests), but it was not the one with the greatest WS. Therefore, the  $\log P$  seemed to have been more influential in water uptake. It is important to note that low DC does not mean high concentration of unreacted monomer, once the low DC could mean a lot of pendant bonds or presence of oligomers that were not extracted in water [32].

When DPI is present, WS was slightly greater for Neat groups. However, no difference was found for solubility results regardless presence of the bioactive particles or DPI. These results corroborate with another study that have tested the same matrix composition and the addition of 0.5mol% DPI increased the WS but not the solubility [10]. According to studies, the amount and hydrophilicity of the leachable present in the material also has influence in the solubility values, not only the amount of water uptake into the network. So, pendant double bonds that favor WS, might not contribute to monomers and oligomers leachable, which are tied to the network [30]. Therefore, the third hypothesis of this study was partially rejected, once DPI did not decrease WS and solubility and only decrease the viscosity when bioactive particles are present.

This study provided useful outcomes to guide new formulations of infiltrants. The trend to achieve bioactive materials having remineralizing or antibacterial effect

need to be investigated to expand the infiltrants indications, as pit and fissures lesions, and provide better restorative materials in general. Further studies should demonstrate the bioactivity of other types of particles to find the better balance between these effects in the oral cavity, physical-mechanical properties and also the penetrability of the infiltrants.

#### **4 CONCLUSIONS**

According to the results of the present study, it can be concluded that BAG did not improved physical-chemical properties nor produced bioactivity. The HAp particle improved DC and presented crystallinity. The addition of particles resulted in higher viscosity, which was decreased by DPI addition. HAp groups presented best balance among the properties tested. SW/Sol were not affected by the presence of the particles.

#### **Acknowledgments**

This work was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP) [2017/14378-6]; the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – Brazil (CAPES) [88881.188490/2018-01]; and the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) [140950/2017-6]. We thank the support given by the Nuclear Fuel Center at IPEN-CNEN/SP.

#### **REFERENCES**

- [1] L. Jia, B. Stawarczyk, P.R. Schmidlin, T. Attin, A. Wiegand, Effect of caries infiltrant application on shear bond strength of different adhesive systems to sound and demineralized enamel, *J. Adhes. Dent.* 14 (6) (2012) 569-574.
- [2] R. Belli, C. Rahiotis, E.W. Schubert, L.N. Baratieri, A. Petschelt, U. Lohbauer, Wear and morphology of infiltrated white spot lesions, *J. Dent.* 39 (5) (2011) 376-385. [3] H. Meyer-Lueckel, K. Bitter, S. Paris, Randomized controlled clinical trial on proximal caries infiltration: three-year follow-up, *Caries. Res.* 46 (6) (2012) 544-548.
- [4] G.S. Araújo, R.A. Sfalcin, T.G. Araújo, R.C. Alonso, R.M. Puppim-Rontani, Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of experimental infiltrants, *J. Dent.* 41 (11) (2013) 1014-1019.

- [5] S. Paris, J. Lausch, T. Selje, C.E. Dörfer, H. Meyer-Lueckel, Comparison of sealant and infiltrant penetration into pit and fissure caries lesions in vitro, *J. Dent.* 42 (4) (2014) 432-438.
- [6] J. Lausch, H. Askar, S. Paris, H. Meyer-Lueckel, Micro-filled resin infiltration of fissure caries lesions in vitro, *J. Dent.* 57 (2017) 73-76.
- [7] S. Paris, H. Meyer-Lueckel, Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ, *Caries. Res.* 44 (1) (2010) 47-54.
- [8] E. Brambilla, A. Ionescu, A. Mazzoni, M. Cadenaro, M. Gagliani, M. Ferraroni, F. Tay, D. Pashley, L. Breschi, Hydrophilicity of dentin bonding systems influences in vitro *Streptococcus mutans* biofilm formation, *Dent. Mater.* 30 (8) (2014) 926-935.
- [9] P. Khalichi, D.G. Cvitkovitch, J.P. Santerre, Effect of composite resin biodegradation products on oral streptococcal growth, *Biomaterials.* 25 (24) (2004) 5467-5472.
- [10] C. Mathias, R.S. Gomes, D. Dressano, R.R. Braga, F.H.B. Aguiar, G.M. Marchi, Effect of diphenyliodonium hexafluorophosphate salt on experimental infiltrants containing different diluents, *Odontology.* (2018).
- [11] D. Dressano, A.R. Palialol, T.A. Xavier, R.R. Braga, J.D. Oxman, D.C. Watts, G.M. Marchi, A.F. Lima, Effect of diphenyliodonium hexafluorophosphate on the physical and chemical properties of ethanolic solvated resins containing camphorquinone and 1-phenyl-1,2-propanedione sensitizers as initiators, *Dent. Mater.* 32 (6) (2016) 756-764.
- [12] K.M. Andrade, A.R. Palialol, A.C. Lancellotti, F.H. Aguiar, D.C. Watts, L.S. Gonçalves, A.F. Lima, G.M. Marchi, Effect of diphenyliodonium hexafluorophosphate on resin cements containing different concentrations of ethyl 4 (dimethylamino)benzoate and 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate as co-initiators, *Dent. Mater.* 32 (6) (2016) 749-755.
- [13] F.A. Ogliari, C. Ely, C.L. Petzhold, F.F. Demarco, E. Piva, Onium salt improves the polymerization kinetics in an experimental dental adhesive resin, *J. Dent.* 35 (7) (2007) 583-587.
- [14] M.D. Chiari, M.C. Rodrigues, T.A. Xavier, E.M. de Souza, V.E. Arana-Chavez, R.R. Braga, Mechanical properties and ion release from bioactive restorative composites containing glass fillers and calcium phosphate nano-structured particles, *Dent. Mater.* 31 (6) (2015) 726-733.

- [15] R.A. Sfalcin, A.B. Correr, L.R. Morbidelli, T.G.F. Araújo, V.P. Feitosa, L. Correr-Sobrinho, T.F. Watson, S. Sauro, Influence of bioactive particles on the chemical-mechanical properties of experimental enamel resin infiltrants, *Clin. Oral. Investig.* 21 (6) (2017) 2143-2151.
- [16] D. Khvostenko, T.J. Hilton, J.L. Ferracane, J.C. Mitchell, J.J. Kruzic, Bioactive glass fillers reduce bacterial penetration into marginal gaps for composite restorations, *Dent. Mater.* 32 (1) (2016) 73-81.
- [17] D.M. Andrade Neto, E.V. Carvalho, E.A. Rodrigues, V.P. Feitosa, S. Sauro, G. Mele, L. Carbone, S.E. Mazzetto, L.K. Rodrigues, P.B. Fecine, Novel hydroxyapatite nanorods improve anti-caries efficacy of enamel infiltrants, *Dent. Mater.* 32 (6) (2016) 784-793.
- [18] A.R. Boccaccini, M. Erol, W.J. Stark, D. Mohn, Z. Hong, J.F. Mano, Polymer/bioactive glass nanocomposites for biomedical applications: A review, *Compos. Sci. Technol.* 70 (2010) 1764–1776.
- [19] Z. Abbasi, B. Me, S. Mh, R. Bagheri, Bioactive Glasses in Dentistry : A Review, *J. Glas. Dent. A Rev.* 2 (2015) 1–9.
- [20] H.K. Hyun, S. Salehi, J.L. Ferracane, Biofilm formation affects surface properties of novel bioactive glass-containing composites, *Dent. Mater.* 31 (12) (2015) 1599-1608.
- [21] P. Sepulveda, J.R. Jones, L.L. Hench, Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses, *J. Biomed. Mater. Res.* 58 (6) (2001) 734-740.
- [22] Z. Abbasi, M.E. Bahrololoum, R. Bagheri, M.H. Shariat, Characterization of the bioactive and mechanical behavior of dental ceramic sol-gel derived bioactive glass mixtures, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* (54) (2016) 115-122.
- [23] L. Berzina-Cimdina, N. Borodajenko, Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Infrared Spectroscopy, Materials Science, Engineering and Technology*, Prof. Theophanides Theophile (Ed.), ISBN: 978-953-51-0537-4. (2012).
- [24] Chandrasekar, Arunseshan, S. Suresh Sagadevan, A. Dakshnamoorthy, Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite ( n-HAP ) using the wet chemical technique, (2013).
- [25] T.T. Tauböck, M. Zehnder, T. Schweizer, W.J. Stark, T. Attin, D. Mohn, Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive, *Dent. Mater.* 2014 30 (8) (2014) 868-875.

- [26] K.L. Van Landuyt, J. Snauwaert, J. De Munck, M. Peumans, Y. Yoshida, A. Poitevin, E. Coutinho, K. Suzuki, P. Lambrechts, B. Van Meerbeek, Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives, *Biomaterials*. 28 (2007) 3757–3785.
- [27] E. Asmussen, A. Peutzfeldt, Influence of composition on rate of polymerization contraction of light-curing resin composites, *Acta. Odontol. Scand.* 60 (3) (2002) 146-150.
- [28] C.S. Pfeifer, Z.R. Shelton, R.R. Braga, D. Windmoller, J.C. Machado, J.W. Stansbury, Characterization of dimethacrylate polymeric networks: a study of the crosslinked structure formed by monomers used in dental composites, *Eur. Polym. J.* 47 (2) (2011) 162-170.
- [29] J.E. Elliott, C.N. Bowman, Kinetics of Primary Cyclization Reactions in Cross-Linked Polymers: An Analytical and Numerical Approach to Heterogeneity in Network Formation, *Macromolecules*. 32 (25) (1999) 8621–8628.
- [30] V.E. Gajewski, C.S. Pfeifer, N.R. Fróes-Salgado, L.C. Boaro, R.R. Braga RR, Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility, *Braz. Dent. J.* 23 (5) (2012) 508-514.
- [31] L.T. Inagaki, R.C. Alonso, G.A. Araújo, E.J. de Souza-Junior, P.C. Anibal, J.F. Höfling, F.M. Pascon, R.M. Puppim-Rontani, Effect of monomer blend and chlorhexidine-adding on physical, mechanical and biological properties of experimental infiltrants, *Dent. Mater.* 32 (12) (2016) 307-313.
- [32] M. Par, Z. Tarle, R. Hickel, N. Ilie, Polymerization kinetics of experimental bioactive composites containing bioactive glass, *J. Dent.* 76 (2018) 83-88.
- [33] J.H. Lee, C.M. Um, I.B. Lee, Rheological properties of resin composites according to variations in monomer and filler composition, *Dent. Mater.* 22 (2006) 515–526.
- [34] F. Gonçalves, Y. Kawano, C. Pfeifer, J.W. Stansbury, R.R. Braga, Influence of BisGMA, TEGDMA, and BisEMA contents on viscosity, conversion, and flexural strength of experimental resins and composites, *Eur. J. Oral. Sci.* 117 (4) (2009) 442-446.

### 3 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente estudo, pode-se concluir que os padrões da difração de raios X e os espectros do FT-IR dos infiltrantes experimentais contendo partículas bioativas não demonstraram a presença da HAp após 7 dias de imersão no SBF para os grupos contendo biovidro 58S. O grau de conversão, viscosidade e sorção em água e solubilidade foram afetadas pela adição das partículas, onde a HAp teve melhor desempenho para o GC, apesar de maior viscosidade. O biovidro 58S diminuiu a taxa de polimerização e GC, no entanto, a sorção em água e solubilidade não foram afetadas pela adição do biovidro. A presença de DFI diminuiu a viscosidade apenas para grupos contendo partículas, mas não foi vantajoso para sorção e solubilidade. Icon teve o menor grau de conversão em 40s e maior sorção de água.

## REFERÊNCIAS\*

- Abbasi Z, Me B, Mh S, Bagheri R. Bioactive Glasses in Dentistry : A Review. *J Glas Dent A Rev*. 2015;2: 1–9.
- Andrade KM, Palialol AR, Lancellotti AC, Aguiar FH, Watts DC, Gonçalves LS, Lima AF, Marchi GM. Effect of diphenyliodonium hexafluorophosphate on resin cements containing different concentrations of ethyl 4-(dimethylamino)benzoate and 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate as co-initiators. *Dent Mater*. 2016 Jun;32(6):749-55. doi: 10.1016/j.dental.2016.03.014.
- Andrade Neto DM, Carvalho EV, Rodrigues EA, Feitosa VP, Sauro S, Mele G, Carbone L, Mazzetto SE, Rodrigues LK, Fachine PB. Novel hydroxyapatite nanorods improve anti-caries efficacy of enamel infiltrants. *Dent Mater*. 2016 Jun;32(6):784-93. doi: 10.1016/j.dental.2016.03.026.
- Araújo GS, Sfalcin RA, Araújo TG, Alonso RC, Puppini-Rontani RM. Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of experimental infiltrants. *J Dent*. 2013 Nov;41(11):1014-9. doi: 10.1016/j.jdent.2013.08.019.
- Araújo TG, Sfalcin RA, de Araújo GS, Alonso RC, Puppini-Rontani RM. Bond Strength of Experimental Low-viscosity Resin Materials to Early Enamel Caries Lesions: Effect of Diluent/Solvent Addition. *J Adhes Dent*. 2015 Apr;17(2):117-23. doi: 10.3290/j.jad.a33972.
- Belli R, Rahiotis C, Schubert EW, Baratieri LN, Petschelt A, Lohbauer U. Wear and morphology of infiltrated white spot lesions. *J Dent*. 2011 May;39(5):376-85. doi: 10.1016/j.jdent.2011.02.009.
- Boccaccini AR, Erol M, Stark WJ, Mohn D, Hong Z, Mano JF. Polymer/bioactive glass nanocomposites for biomedical applications: A review. *Compos Sci Technol*. 2010;70 :1764–76. doi:10.1016/j.compscitech.2010.06.002.
- Brambilla E, Ionescu A, Mazzoni A, Cadenaro M, Gagliani M, Ferraroni M, Tay F, Pashley D, Breschi L. Hydrophilicity of dentin bonding systems influences in vitro *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Dent Mater*. 2014 Aug;30(8):926-35.

\*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 do PubMed

doi: 10.1016/j.dental.2014.05.009.

Chiari MD, Rodrigues MC, Xavier TA, de Souza EM, Arana-Chavez VE, Braga RR.

Mechanical properties and ion release from bioactive restorative composites containing glass fillers and calcium phosphate nano-structured particles. *Dent Mater.* 2015 Jun;31(6):726-33. doi: 10.1016/j.dental.2015.03.015.

Crivello J V., Lam JHW. Diaryliodonium Salts. A New Class of Photoinitiators for Cationic Polymerization. *Macromolecules.* 1977;10 :1307–15.

doi:10.1021/ma60060a028.

Dressano D, Palialol AR, Xavier TA, Braga RR, Oxman JD, Watts DC, Marchi GM,

Lima AF. Effect of diphenyliodonium hexafluorophosphate on the physical and chemical properties of ethanolic solvated resins containing camphorquinone and

1-phenyl-1,2-propanedione sensitizers as initiators. *Dent Mater.* 2016 Jun;32(6):756-64. doi: 10.1016/j.dental.2016.03.010.

Ekstrand KR, Bakhshandeh A, Martignon S. Treatment of proximal superficial caries lesions on primary molar teeth with resin infiltration and fluoride varnish versus fluoride varnish only: efficacy after 1 year. *Caries Res.* 2010;44(1):41-6. doi: 10.1159/000275573.

Ely C, Schneider LF, Ogliari FA, Schmitt CC, Corrêa IC, Lima Gda S, Samuel SM, Piva E. Polymerization kinetics and reactivity of alternative initiators systems for use in light-activated dental resins. *Dent Mater.* 2012 Dec;28(12):1199-206.

doi: 10.1016/j.dental.2012.08.009.

Pfefferkorn F, Blunck U, Ilie N. Northern Lights 2018. *Quint Dent.* 2019 Jan; 70(1).

Gonçalves LS, Moraes RR, Ogliari FA, Boaro L, Braga RR, Consani S. Improved polymerization efficiency of methacrylate-based cements containing an iodonium salt. *Dent Mater.* 2013 Dec;29(12):1251-5. doi: 10.1016/j.dental.2013.09.010.

Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med.* 2006 Nov;17(11):967-78.

Hyun HK, Salehi S, Ferracane JL. Biofilm formation affects surface properties of novel bioactive glass-containing composites. *Dent Mater.* 2015 Dec;31(12):1599-608. doi: 10.1016/j.dental.2015.10.011.



Jia L, Stawarczyk B, Schmidlin PR, Attin T, Wiegand A. Effect of caries infiltrant application on shear bond strength of different adhesive systems to sound and demineralized enamel. *J Adhes Dent*. 2012 Dec;14(6):569-74. doi: 10.3290/j.jad.a25685.

Khalichi P, Cvitkovitch DG, Santerre JP. Effect of composite resin biodegradation products on oral streptococcal growth. *Biomaterials*. 2004 Nov;25(24):5467-72.

Khvostenko D, Hilton TJ, Ferracane JL, Mitchell JC, Kruzic JJ. Bioactive glass fillers reduce bacterial penetration into marginal gaps for composite restorations. *Dent Mater*. 2016 Jan;32(1):73-81. doi: 10.1016/j.dental.2015.10.007.

Lausch J, Askar H, Paris S, Meyer-Lueckel H. Micro-filled resin infiltration of fissure caries lesions in vitro. *J Dent*. 2017 Feb;57:73-76. doi: 10.1016/j.jdent.2016.12.010.

Meyer-Lueckel H, Paris S. Infiltration of natural caries lesions with experimental resins differing in penetration coefficients and ethanol addition. *Caries Res*. 2010;44(4):408-14. doi: 10.1159/000318223.

Meyer-Lueckel H, Bitter K, Paris S. Randomized controlled clinical trial on proximal caries infiltration: three-year follow-up. *Caries Res*. 2012;46(6):544-8. doi: 10.1159/000341807.

Meyer-Lueckel H, Wierichs RJ, Schellwien T, Paris S. Remineralizing efficacy of a CPP-ACP cream on enamel caries lesions in situ. *Caries Res*. 2015;49(1):56-62. doi: 10.1159/000363073.

Ogliari FA, Ely C, Petzhold CL, Demarco FF, Piva E. Onium salt improves the polymerization kinetics in an experimental dental adhesive resin. *J Dent*. 2007 Jul;35(7):583-7.

Ogliari FA, Ely C, Lima GS, Conde MC, Petzhold CL, Demarco FF, Piva E. Onium salt reduces the inhibitory polymerization effect from an organic solvent in a model dental adhesive resin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008 Jul;86(1):113-8.

Paris S, Meyer-Lueckel H, Cölfen H, Kielbassa AM. Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. *Dent Mater J*. 2007 Jul;26(4):582-8.

Paris S, Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Resin infiltration of natural caries lesions. *J Dent Res*. 2007 Jul;86(7):662-6.

Paris S, Hopfenmuller W, Meyer-Lueckel H. Resin infiltration of caries lesions: an efficacy randomized trial. *J Dent Res*. 2010 Aug;89(8):823-6. doi: 10.1177/0022034510369289.

Paris S, Meyer-Lueckel H. Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ. *Caries Res*. 2010;44(1):47-54. doi: 10.1159/000275917.

Paris S, Lausch J, Selje T, Dörfer CE, Meyer-Lueckel H. Comparison of sealant and infiltrant penetration into pit and fissure caries lesions in vitro. *J Dent*. 2014 Apr;42(4):432-8. doi: 10.1016/j.jdent.2014.01.006.

Schwendicke F, Brouwer F, Paris S, Stolpe M. Detecting Proximal Secondary Caries Lesions: A Cost-effectiveness Analysis. *J Dent Res*. 2016 Feb;95(2):152-9. doi: 10.1177/0022034515617937.

Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. *J Biomed Mater Res*. 2001;58(6):734-40. Sfalcin RA, Correr AB, Morbidelli LR, Araújo TGF, Feitosa VP, Correr-Sobrinho

L, Watson TF, Sauro S. Influence of bioactive particles on the chemical-mechanical properties of experimental enamel resin infiltrants. *Clin Oral Investig*. 2017 Jul;21(6):2143-2151. doi: 10.1007/s00784-016-2005-y.

Zhong J, Greenspan DC. Processing and properties of sol-gel bioactive glasses. *J Biomed Mater Res*. 2000;53(6):694-701.

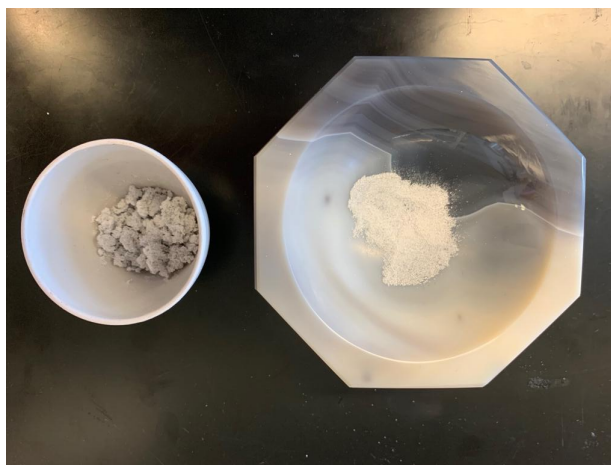
## APÊNDICE 1

### METODOLOGIA ILUSTRADA

#### 1.1 Síntese do vidro bioativo 58S pelo método sol-gel

O vidro bioativo 58S foi composto por 60mol %  $\text{SiO}_2$ , 36mol %  $\text{CaO}$  and 4mol %  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Para síntese desse material, foram misturados em um becker de vidro os componentes tetraetil orto silicato (TEOS), água destilada, trietil fosfato (TEP) e nitrato de cálcio tetrahidratado e essa solução foi agitada em um agitador magnético até a formação de um gel. O TEOS foi adicionado em 1,6 ml de ácido nítrico e 9,5 ml de água destilada, em uma concentração de 13,2 ml, e foi utilizado como precursor para a sílica. Essa solução foi agitada durante 30 minutos em agitador magnético. Em seguida, 0,7 ml de TEP, que foi utilizado como precursor para o fosfato, foi adicionado na solução, e, após 20 minutos de agitação magnética, 5,8 g de nitrato de cálcio tetrahidratado foi adicionado. A agitação ocorreu durante um tempo suficiente para dissolver completamente o nitrato de cálcio e até formar um gel. O gel foi seco em forno a uma temperatura de 180 °C, durante 6 horas, seguido pela secagem do material no forno durante 17 horas em 700 °C. O aspecto do material após a secagem pode ser observado na imagem 1, lado esquerdo, onde esse produto foi triturado em almofariz de ágata e peneirado de forma a se obter partículas de tamanho inferior à 45  $\mu\text{m}$ , prontas para serem incorporadas nos infiltrantes experimentais.

Figura 1 – Aspecto do biovidro 58S após secagem em forno, antes e após trituração mecânica em almofariz de ágata.



## 1.2 Formulação dos grupos experimentais

Os infiltrantes experimentais tiveram sua composição definida baseada em estudos prévios (Mathias et al., 2018) e foram manipulados em ambiente com luz amarela e temperatura controlada (25 °C). As matrizes foram obtidas misturando-se 75% em peso de trietilene glicol dimetacrilato (TEGDMA) e 25% em peso de etoxi bisfenol A glicidil dimetacrilato (BisEMA). À essas matrizes foram adicionadas 0,5 mol% de canfororquinona e 1 mol% de etil 4-dimetilaminobenzoato (EDAB). Essa mistura foi dividida em 6 grupos experimentais de acordo com o sistema fotoiniciador e as partículas bioativas utilizadas. O infiltrante Icon foi utilizado como controle comercial (tabela 1).

Após a adição de 10% em peso de hidroxiapatita (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha, <200 nm) ou 10% em peso de vidro bioativo 58S ( $\leq 45 \mu\text{m}$ ), os infiltrantes experimentais foram agitados em agitador magnético durante 24 horas para incorporação das partículas. Após esse período, as misturas foram colocadas em um dispositivo à vácuo durante 20 minutos para eliminação de bolhas de ar do material. Após esse procedimento, as misturas foram submetidas a banho ultrasônico durante 30 minutos para evitar a aglutinação das partículas. Todos os infiltrantes foram armazenados sob refrigeração (4°C).

Tabela 1. Composição dos grupos de acordo com o sistema fotoiniciador e partículas bioativas utilizadas.

<b>Grupos</b>	<b>Composição</b>
<b>B-Neat</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB
<b>T-Neat</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB/ 0.5 mol% DFI
<b>B-HAp</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB + 10 wt% Hidroxiapatita
<b>T-HAp</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB/ 0.5 mol% DFI + 10 wt% Hidroxiapatita
<b>B-BAG</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB + 10 wt% vidro bioativo 58S
<b>T-BAG</b>	(3:1) TEGDMA/BisEMA, 0.5 mol% CQ/ 1 mol% EDAB/ 0.5 mol% DFI + 10 wt% vidro bioativo 58S
<b>Icon</b>	Resina à base de TEGDMA

Todos os materiais foram obtidos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). TEGDMA: trietilene glicol dimetacrilato; Bis-EMA: etoxi bisfenol A glicidil dimetacrilato; CQ: canforoquinona; EDAB: etil 4-(dimetilamino) benzoato; DFI: hexafluorofosfato de difeniliodônio; B: grupos binários; T: grupos ternários.

### 1.3 Imersão de corpos de prova no FCS e caracterização por DRX e FT-IR

Para avaliar a capacidade de formação de hidroxiapatita (bioatividade) pelos grupos que continham partículas bioativas, um disco de cada grupo foi confeccionado com as dimensões de 9,5mm de diâmetro e 2 mm de altura, utilizando uma matriz metálica (Figura 2a), para posterior imersão em FCS. Os discos foram fotoativados com luz LED por 40 segundos, e uma tira de poliéster foi utilizada para garantir a lisura da superfície a ser analisada.

Para formulação do FCS foram utilizados os seguintes reagentes: (1) cloreto de sódio, (2) bicarbonato de sódio, (3) cloreto de potássio, (4) fosfato dipotássico tetrahidratado, (5) cloreto de magnésio hexahidratado, (6) cloreto de cálcio, (7) sulfato de sódio, (8) tris-hidroximetil aminometano, (9) 1M (mol/l) ácido clorídrico e (10) solução padrão de pH (pH 4, 7 e 9). Para preparação de 1l de SBF, foram colocados 700 ml de água deionizada e destilada em um recipiente plástico de 1000ml, com uma barra de agitação. O frasco foi coberto com tampa e colocado em banho-maria no agitador magnético. A água foi aquecida no frasco até  $36,5 \pm 1,5$  °C sob agitação. Os reagentes de 1 a 8, nessa ordem, foram dissolvidos um a um na solução a  $36,5 \pm 1,5$  °C. Os reagentes 9 e 10 (pequena quantidade de ácido clorídrico) foram dissolvidos para o ajuste do pH. O pH foi ajustado a 7,4 exatamente a 36,5 °C, na condição de que a taxa de aumento ou diminuição da temperatura da solução fosse menor do que 0,1 °C/min. Após o ajuste do pH, a solução foi despejada em balão volumétrico de 1000 ml (Figura 2b), que foi mantido na água para arrefecer até 20 °C. Água deionizada e destilada foi adicionada até a linha demarcada do balão e a solução foi então preservada em garrafa plástica sob refrigeração (5-10 °C). Os corpos de prova foram imersos em 7 ml de SBF por amostra, durante 6 horas, 1, 3 e 7 dias. A solução de SBF foi renovada em 3 dias para evitar o aumento da concentração de cátions na solução. Ao final de cada período de avaliação, as amostras foram removidas do SBF, lavadas com água destilada e secadas para avaliação no difratômetro de raios X (Figura 3).

Figura 2 – a – Matriz metálica utilizada para confecção dos corpos de prova para caracterização por meio do DRX, FT-IR e MEV após imersão em SBF; b – Aspecto transparente da solução SBF utilizada no estudo, imediatamente antes a graduação final.

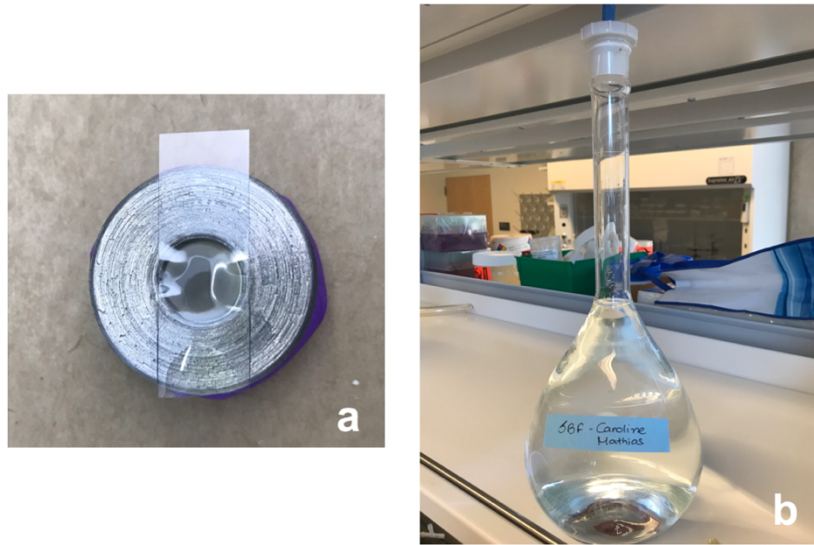
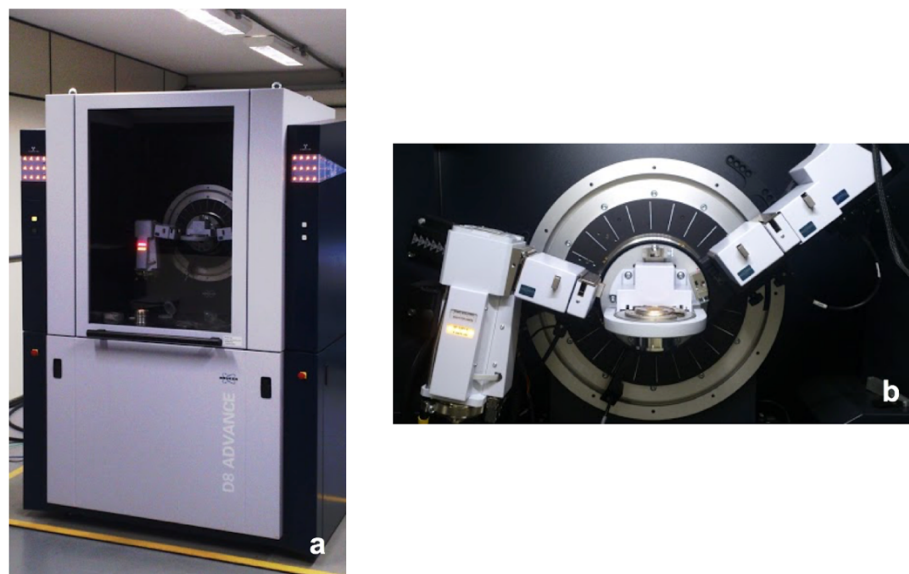
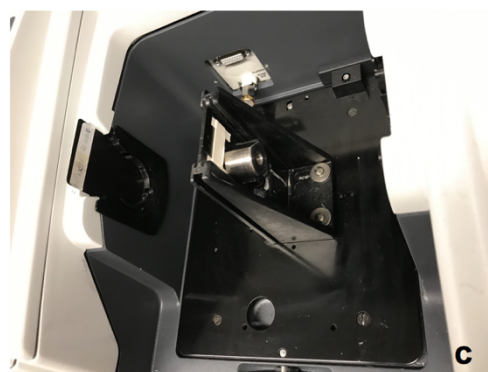
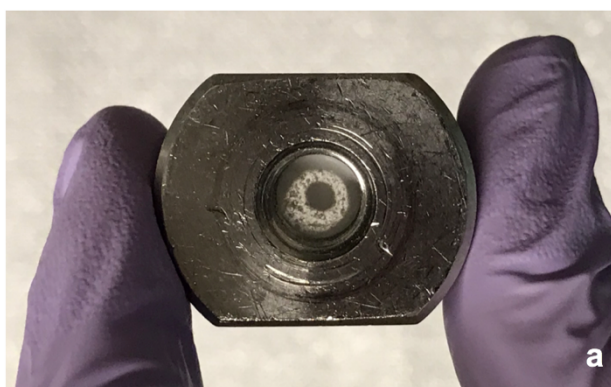


Figura 3 – Difratorômetro de raios X. a – visão externa do equipamento, b – visão interna do equipamento. (Imagem disponível em <https://sites.google.com/view/drxccn/informações>).



Para análise das amostras em FT-IR (Figura 4b), as amostras que foram submetidas ao SBF por 7 dias e amostras de cada grupo não submetidas ao SBF (controle) foram seccionadas ao meio e individualmente trituradas em almofariz de ágata. O pó resultante foi pesado e misturado ao brometo de potássio (KBr) em uma proporção de 1:30. A mistura em pó foi pressionada em um dispositivo metálico em formato de disco, durante 10 minutos (Figura 4a). Após, o dispositivo foi posicionado no suporte no interior do FT-IR de modo que o feixe de luz infravermelho passasse no centro da amostra (Figura 4c). O espectro foi registrado em um intervalo entre 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  com 32 escaneamentos e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

Figura 4 – a – Dispositivo utilizado para confecção da amostra em estudo triturada e acrescida de brometo de potássio; b – Equipamento de espectroscopia por transformada de Fourier (FT-IR) utilizado para caracterização do material estudado; c – Posicionamento da amostra no interior do FT-IR.



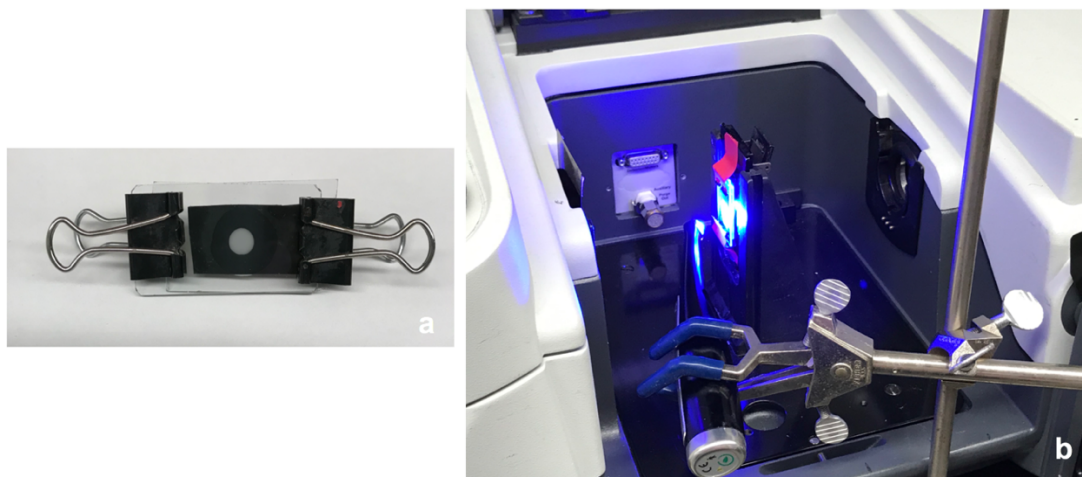
### 1.3 Cinética de polimerização

Para a realização da cinética de polimerização, amostras em formato de disco ( $n=3$ ) foram confeccionadas, com as dimensões de 5 mm de diâmetro e 0,5mm de altura, utilizando borrachas pré-cortadas. As amostras foram confeccionadas entre duas lâminas de vidro (Figura 5a). Esse conjunto foi fixado verticalmente no porta-amostras

do FT-IR, de modo que o feixe infravermelho passasse no centro da amostra. O aparelho fotoativador Valo foi fixado em um suporte metálico externo ao FT-IR e posicionado à 3 cm da amostra, de modo a não se sobrepor ao feixe do infravermelho (Figura 5b). Os espectros foram coletados durante 330 segundos, nos quais nos 30 primeiros segundos a amostra não estava sendo polimerizada, e após 30 segundos a luz LED foi acionada e a amostra foi polimerizada durante 300 segundos. Foram realizados 2 escaneamentos por espectro, com resolução de  $4\text{cm}^{-1}$  e o pico considerado foi  $6165\text{cm}^{-1}$ . O grau de conversão foi calculado a partir da razão da área do pico examinado de acordo com a fórmula:  $GC = \left(1 - \frac{\text{área do monômero}}{\text{área do polímero}}\right) \times 100$

A taxa de polimerização foi calculada de acordo com a curva da conversão x tempo. Os parâmetros de máxima taxa de polimerização e grau de conversão na taxa máxima de polimerização também foram determinados.

Figura 5 – a – Confecção das amostras para cinética de polimerização, utilizando duas lâminas de vidro e matriz de borracha preta; b – posicionamento da amostra e do aparelho fotopolimerizador (Valo) para realização da cinética de polimerização no FT-IR.



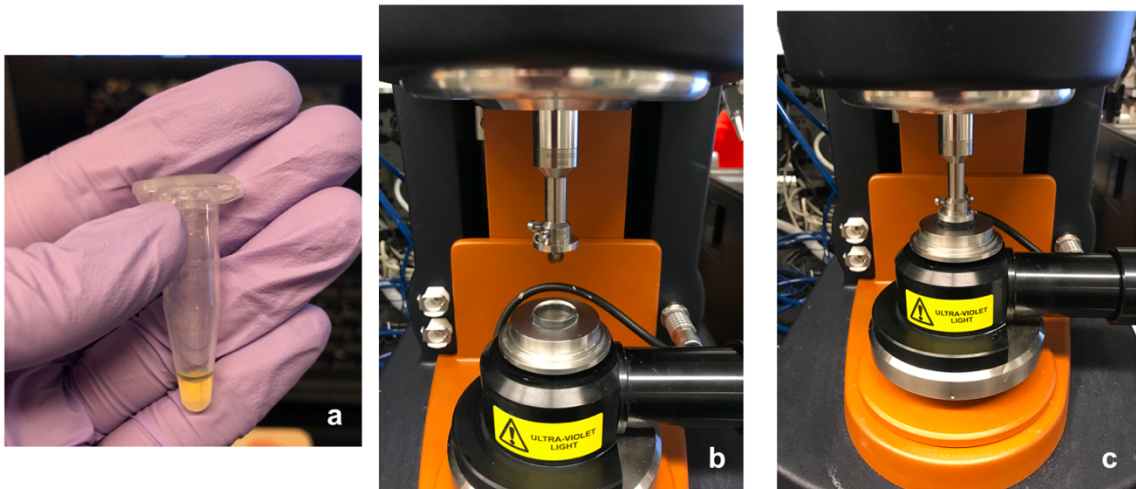
#### 1.4 Viscosidade

A análise reológica da viscosidade ( $n = 3$ ) dos materiais testados foi realizada em reômetro. O prato de acrílico de 20 mm foi utilizado devido à presença de partículas em alguns grupos. Aproximadamente 1 g de cada material previamente pesado (Figura 6a) foi depositado sobre o prato de acrílico com auxílio de uma espátula



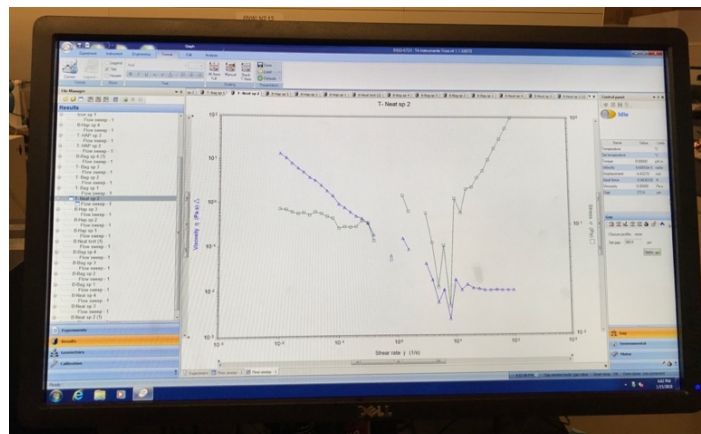
(Figura 6b). Após a aproximação dos pratos, formando 300 $\mu$ m entre eles (Figura 6c), o excesso de material foi limpo com papel absorvente. A taxa de velocidade utilizada variou entre 0,1 to 100s<sup>-1</sup>.

Figura 6 – Metodologia para teste de viscosidade; a – Aproximadamente 1g de cada infiltrante experimental e o infiltrante comercial foi utilizado para aferição da propriedade reológica; b – prato de acrílico acoplado ao reômetro, onde os materiais foram depositados para medição da rugosidade; c – pratos exibindo gap de 300 $\mu$ m entre si, contendo o material testado.



Durante o experimento, o gráfico da viscosidade x taxa de velocidade foi sendo formado no software TRIOS acoplado ao reômetro (Figura 7). Para o cálculo da viscosidade foi considerada a média dos 3 pontos mais lineares da linha azul do gráfico para cada amostra.

Figura 7 – Gráfico de viscosidade exibido pelo software TRIOS (TA Instruments, New Castle, DE, USA).



## 1.5 Dado utilizado na discussão

Foi utilizado o software ChemBioDrawn Ultra para desenho e cálculo do *partition coefficient in water* ( $\log P$ ) para os monômeros Bis-EMA e TEGDMA (Figuras 8 e 9).

Figura 8 – Cálculo do  $\log P$  para o Bis-EMA executado pelo software ChemBioDrawn Ultra (PerkinElmer, Waltham, MA, EUA).

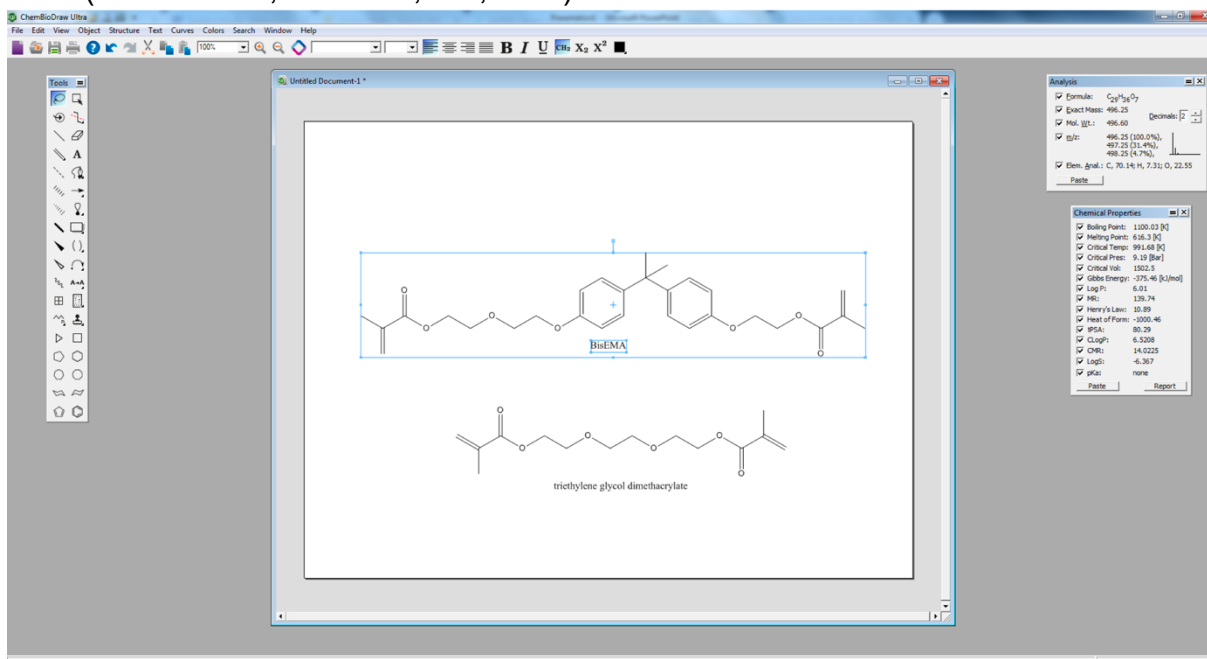
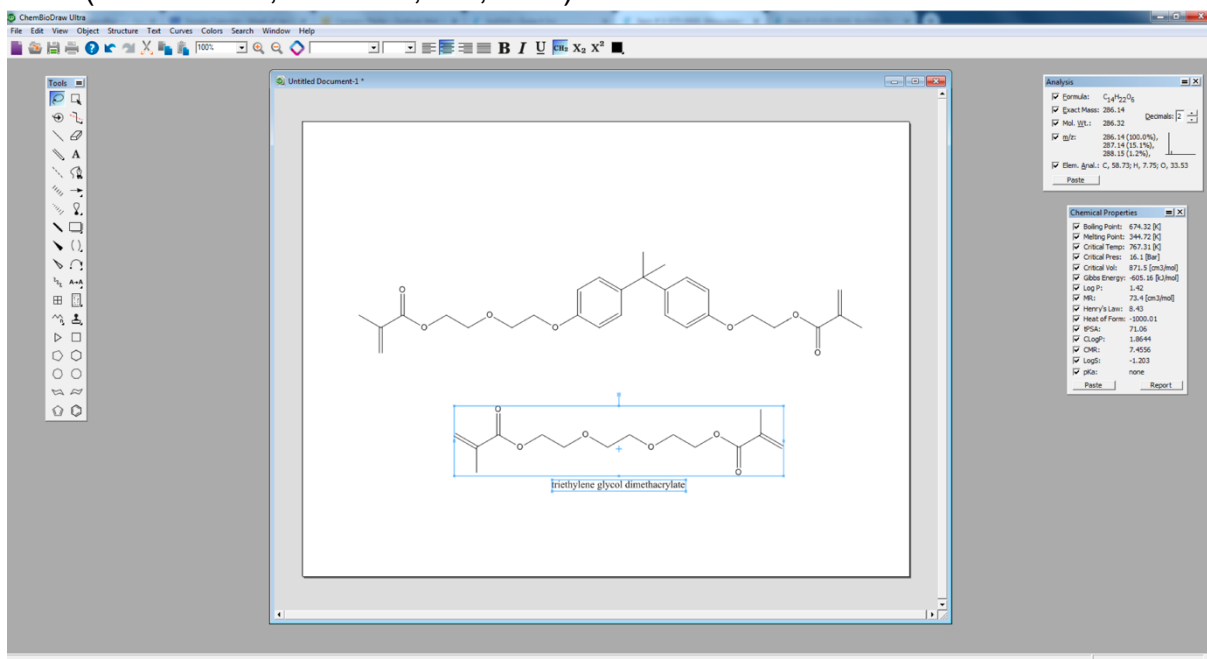



Figura 9 – Cálculo do  $\log P$  para o TEGDMA executado pelo software ChemBioDrawn Ultra (PerkinElmer, Waltham, MA, EUA).



## ANEXOS

### ANEXO 1 – SUBMISSÃO DO ARTIGO AO PERIÓDICO

#### Submissão do artigo no periódico Journal of Dentistry

**Journal of Dentistry** Contact us Help ? 

home | main menu | submit paper | guide for authors | register | change details | log out Username: caroline.mathias@hotmail.com  
Switch To: Author Go to: My EES Hub Version: EES 2019.2

**Submissions Being Processed for Author Caroline Mathias**

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
<a href="#">View Submission</a> <a href="#">Send E-mail</a>		INFLUENCE OF BIOACTIVE PARTICLES AND ONIUM SALT ON PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES OF EXPERIMENTAL INFILTRANTS	15 Feb 2019	15 Feb 2019	Submitted to Journal

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

[<< Author Main Menu](#)

#### Carta de submissão do artigo no periódico Journal of Dentistry:

##### Submission Confirmation for Journal of Dentistry



Journal of Dentistry <eesserver@eesmail.elsevier.com>  
Sex, 15/02/2019 02:39  
Você



\*\*\* Automated email sent by the system \*\*\*

Dear Ms. Mathias,

Your submission entitled "INFLUENCE OF BIOACTIVE PARTICLES AND ONIUM SALT ON PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES OF EXPERIMENTAL INFILTRANTS" has been received by the Journal of Dentistry.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Elsevier Editorial System as an author. The URL is <https://ees.elsevier.com/jjod/>

#### Elsevier Editorial System™

Full-Function Web-Enabled Manuscript Submission and Tracking System for Peer Review  
ees.elsevier.com

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

## ANEXO 2 – VERIFICAÇÃO DE ORIGINALIDADE E PREVENÇÃO DE PLÁGIO

### INFLUÊNCIA DE PARTÍCULAS BIOATIVAS E SAL DE ÔNIO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE INFILTRANTES EXPERIMENTAIS

#### RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE



#### FONTES PRIMÁRIAS

- 1** Yasaman Delaviz, Yoav Finer, J. Paul Santerre. "Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: A rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges", *Dental Materials*, 2014  
Publicação **1%**
- 2** Inagaki, Luciana Tiemi, Vanessa Benetello Dainezi, Roberta Caroline Bruschi Alonso, Andréia Bolzan de Paula, Franklin Garcia-Godoy, Regina Maria Puppim-Rontani, and Fernanda Miori Pascon. "Evaluation of sorption/solubility, softening, flexural strength and elastic modulus of experimental resin blends with chlorhexidine", *Journal of Dentistry*, 2016.  
Publicação **1%**
- 3** Andrea Soares Q.S. Fonseca, Allana Dutra **1%**