



## Caracterização de novas formulações de dentifrícios contendo nanopartículas de tricálcio fosfato através de análises físico-químicas dos seus ingredientes ativos

**Palavras-Chave:** dentifrícios; tricálcio fosfato; biomaterial

**André de Castro Yamashiro\***, **Danielle Ferreira Sobral de Souza**, **Flávio Henrique Baggio Aguiar**, **Débora Alves Nunes Leite Lima**.

*Departamento de Odontologia Restauradora - Área de Dentística, Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP/UNICAMP, Piracicaba, São Paulo, Brasil.*

### INTRODUÇÃO:

Dentifrícios são produtos utilizados na higiene oral diária (Lippert 2013) e existe uma gama disponíveis no mercado com diferentes princípios ativos, indicações e tecnologias. Sendo dessa forma, cabe ao cirurgião dentista compreender as particularidades dos dentifrícios para fazer a indicação correta de acordo com a necessidade de cada paciente.

Os dentifrícios são constituídos por uma matriz de hidrocolóide incorporada com diversos ingredientes como: surfactantes, corantes, adoçantes, conservantes, aromatizantes, tamponantes, espessantes, princípios ativos e outros excipientes (González-Cabezas et al. 2013; Lippert 2013). Na literatura são encontrados os princípios ativos categorizados em diferentes classes como: agentes fluoretados, anticálcio, bactericidas, dessensibilizantes, branqueadores, opacificantes e atualmente encontramos os agentes remineralizantes biomiméticos (Meyers et al. 2000; Santos et al. 2000; Lima et al. 2008; Sanz et al. 2013; Vieira-Junior et al. 2016; Tomaz et al. 2020).

Novos dentifrícios têm sido desenvolvidos com outros tipos de ingredientes que possuem ação remineralizantes e possuem tecnologias com várias ações associadas como os efeitos anti-erosivos ou dessensibilizantes e até com abordagem biomiméticas. Esse tipo de abordagem é um mecanismo alternativo que utiliza nanopartículas de determinados compostos para impulsionar a remineralização dental (Kielbassa et al. 2005; Ganss et al. 2016; João-Souza et al. 2017). O tricálcio fosfato ( $\beta$ -TCP) se enquadra nessas especificações e é um componente considerado remineralizante (Viana et al. 2020) de baixa solubilidade (Jin et al., 2013), que em contato com a saliva dissocia-se em íons cálcio e fosfato ou seja é fonte constante desses minerais.

Porém, a formulação dos dentifrícios pode influenciar a atuação de seus ingredientes ativos, onde a eficácia dos mesmos nem sempre é a esperada. Os abrasivos podem reagir com os ingredientes ativos, dificultando a viabilidade e o efeito destes, pode alterar o pH e até aumentar a perda de superfície do esmalte devido a associação de forças excessivas durante a escovação (Lima et al. 2008; Pascaretti-Grizon et al. 2013; Ganss et al. 2016; João-Souza et al. 2017; Tomaz et al. 2020). O pH dos produtos vendidos sem receita varia entre ácido, neutro e básico, dependendo dos aditivos contidos. Sendo assim, se faz necessário investigar o pH dos dentifrícios a fim de avaliar se há ou não um potencial erosivo, bem como estudar seu teor de sólidos e a morfologia e tamanho de suas partículas para avaliar o grau de sua abrasividade (Kielbassa et al. 2005; Pascaretti-Grizon et al. 2013; Ganss et al. 2016).

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar as características físico-químicas de novos dentifrícios comercializados com a tecnologia de nanopartículas de tricálcio fosfato ( $\beta$ -TCP), a fim de conhecer essas propriedades e poder compreender como os ingredientes desses dentifrícios podem ser benéficos ou não a estrutura dental. Além de poder fornecer resultados de qualidade à comunidade científica, para correlacionar com os achados de futuros estudos *in vitro* utilizando este material.

### METODOLOGIA:

Para este estudo *in vitro* foram utilizados 07 diferentes tipos de dentifrícios comercializados no mercado brasileiro (n=5), para a análise e caracterização físico-química. Todo o design experimental está exemplificado na figura 1.

#### Análise Descritiva

Para esta análise, todos os dentifrícios foram descritos e categorizados como proposto no estudo de Joiner 2010. Seguindo as informações fornecidas pelos fabricantes.

#### Análise de pH

A análise de pH foi realizada seguindo os princípios descritos na ISO 11609 – 2017 (Dentistry - Dentifrices - Requirements, test methods and marking). Sendo assim, foi utilizado um aparelho medidor de pH calibrado com

suas soluções padrões de pH = 4,0 e 7,0. O eletrodo do aparelho foi submergido em uma solução homogênea de 1 parte de dentífrico para 3 partes de água destilada (*slurry*) e o pH foi aferido dentro de um período de 10 minutos.

### Análise do Teor de sólidos

Para o cálculo da porcentagem do teor de sólido de cada dentífrico foram utilizados 40 ml de *Slurry* do dentífrico foram pesados e posteriormente centrifugados (20 min, 3000 rcf, 25 °C). O sobrenadante foi cuidadosamente removido e os sólidos restantes foram deixados para secar a temperatura de 40 °C (Tomaz et al. 2020). Posteriormente, as partículas sólidas secas foram pesadas e a porcentagem em peso de partículas sólidas foi calculada em relação ao peso total dentífrico (% em peso de partículas sólidas).



**Figura 1.** Fluxograma experimental.

### Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para avaliação qualitativa da morfologia e tamanho das partículas dos dentífricos foi utilizado um Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV (Jeol, JSM 5600LV, Tóquio, Japão) que operou em alto vácuo e em uma voltagem de 15 kV. As amostras foram fixadas em disco de acrílico e metalizadas (Balzers-SCD 050 Sputter Coter, Alemanha) com uma fina camada de ouro-paládio equivalente a 10–6 nm. Foram obtidas imagens representativas de cada grupo, na magnificação de 1000x.

### Análises Estatísticas

Inicialmente foram efetuadas análises descritivas e exploratórias dos dados de teor de sólidos e pH. Em seguida, os dados de pH foram analisados por análise de variância (ANOVA) *one way* e teste de Tukey. Os dados de teor de sólido não atenderam as pressuposições da ANOVA e por isso foram analisados por modelos lineares generalizados para o efeito de dentífrico. As análises foram realizadas no programa R, sendo considerado um nível de significância de 5%.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

### Análise descritiva

Na tabela 1 podemos observar os componentes dos dentífricos categorizados de acordo com Joiner 2010. Ao analisar a descrição é possível identificar que a sílica é o componente abrasivo mais comum, entre os dentífricos estudados. Podemos encontrar a mesma isolada ou associada a diferentes abrasivos como: ao carbonato de cálcio, no dentífrico Elmex Sensitive Professional; ou a mica, nos dentífricos Bianco Advanced Repair e no Pro Clinical; ou também ao Carvão em pó no dentífrico Bianco Detox Pró-esmalte Carbon.

Todos os dentífricos da Bianco possuem o Benzoato de sódio como conservante, enquanto que o Colgate máxima proteção anticáries e o Elmex Sensitive Professional apresentam o Álcool benzílico. Os conservantes são um importante componente para a manutenção da fórmula ativa dos dentífricos, diminuindo a degradação dos mesmos (Lippert, 2013).

Dentre os dentífricos estudados apenas o Bianco Detox Pró-esmalte Carbon, não apresenta um fluoreto em sua composição. Isso se deve a incompatibilidade do flúor ao pó de carvão presente em sua composição. Apenas o

Bianco Oxigênio Ativo tem peróxido de hidrogênio em sua composição, sendo categorizado como agente químico. Como agentes ópticos foi encontrado apenas o dióxido de titânio nos dentífricos Bianco Advanced Repair e Bianco Pro Clinical. O dióxido de titânio é responsável pela modificação da reflexão de luz do dente, permitindo uma sensação de dentes “mais brancos” (Vaz et al. 2019).

**Tabela 1.** Categorização dos ingredientes dos dentífricos utilizados no estudo.

Dentífrico	Abrasivos	Agentes químicos	Agentes ópticos	Umectante	Aglutinante	Conservante	Agente anti-cáries	Agente remineralizante	Outros componentes
Colgate máxima proteção anticáries	Carbonato de cálcio, Bicarbonato de sódio	Pirofosfato Tetrassódico	-	Glicerina	Goma de celulose	Alcool benzílico	Monofluorofosfato de sódio	-	Aroma, Hidróxido de sódio, Lauril sulfato de sódio e Água
Elmex Sensitive Professional	Carbonato de cálcio, Silica hidratada, Bicarbonato de sódio	Pirofosfato de Tetrassódico, Sacarina de sódio	-	Sorbitol	Goma de celulose	Alcool benzílico	Monofluorofosfato de sódio	Tricálcio fosfato (TCP)	Bicarbonato de arginina, Aroma, Hidróxido de sódio, Lauril sulfato de sódio e Água
Bianco Advanced Repair TCP 1.0	Mica, Silica	Sacarina de sódio	Dióxido de titânio	Sorbitol, Glicerina	Carboximetil celulose	Benzoato de sódio	Fluoreto de sódio	Tricálcio fosfato (TCP)	Água, Aroma, Mentol e Lauril sulfato de sódio
Bianco Pro Clinical TCP 3.0	Mica, Silica	Sacarina de sódio	Dióxido de titânio	Sorbitol, Glicerina	Goma de celulose	Benzoato de sódio	Fluoreto de sódio	Tricálcio fosfato (TCP)	Água, Aroma e Mentol
Bianco Oxigênio Ativo TCP 3.0	Silica hidratada	Sacarina de sódio, Peróxido de hidrogênio	-	Glicerina	Goma de celulose	Benzoato de sódio	Fluoreto de sódio	Tricálcio fosfato (TCP)	Água, PVP, Mel, Cocamidopropyl betaina, Goma xantana, Poligliceril-3 caprilato, Ácido cítrico, Carragenina, Acetato de tocoferol, Panteno, CL74160 e Lauril sulfato de sódio
Bianco Protefresh nano TCP	Carbonato de cálcio	Sacarina de sódio	-	Glicerina, Sorbitol	Carboximetil celulose	Benzoato de sódio	Monofluorofosfato de sódio	Tricálcio fosfato (TCP)	Água, Aroma, Formaldeído, Mentol e Lauril sulfato de sódio
Bianco Detox Pró Esmalte Carbon TCP 3.0	Silica hidratada, Carvão em pó	-	-	Glicerina	Goma de celulose	Benzoato de sódio	-	Tricálcio fosfato (TCP)	Água, Xilitol, Maltodextrina, Lactato de zinco, Lauril sulfato de sódio, Sucralose, Extrato de frutas cítricas de limão, laranja e gengibre.

\* de acordo com as especificações fornecidas pelo fabricante.

### Análise de teor de sólidos

Os resultados de teor de sólidos dos dentífricos são mostrados na tabela 2. Os dentífricos estudados variam significativamente quanto ao teor de sólidos ( $p < 0,05$ ). Os dentífricos Colgate máxima proteção anti-cáries e Bianco Protefresh apresentaram o maior teor de sólidos que Elmex sensitive, Bianco Pro Clinical e Bianco Oxigênio Ativo ( $p < 0,05$ ). Já o Elmex Sensitive possui maior teor de sólidos quando comparado aos dentífricos Bianco Pro Clinical e Bianco Oxigênio Ativo ( $p < 0,05$ ). O menor teor de sólidos encontrado foi no Bianco Oxigênio Ativo, quando comparado aos demais dentífricos ( $p < 0,05$ ).

Ao avaliar 07 dentífricos diferentes, foram encontradas variações altamente significativas entre os produtos, isso se deve devido a variação dos ingredientes da fórmula e da interação entre si (Lippert 2013, Ganss et al, 2016). Também não se pode afirmar que quanto o maior o teor de sólidos, maior será a abrasividade do dentífrico. Uma vez que, a abrasividade de um dentífrico não está relacionada apenas ao teor de sólidos, mas também ao tamanho, forma e dureza da partícula utilizada (Meyers et al, 2000; Lippert, 2013).

**Tabela 2.** Média (desvio padrão), mediana (valor mínimo e máximo) do teor de sólidos (%) em função do dentífrico.

Dentífrico	Média (desvio padrão)	Mediana (valor mínimo e máximo)
Colgate máxima proteção anti-cáries	52,93 (4,53) a	54,41 (45,08; 56,34)
Elmex Sensitive	40,48 (1,36) b	40,02 (39,65; 42,88)
Bianco Advanced repair	44,73 (8,77) ab	48,23 (29,81; 52,16)
Bianco Pro clinical	33,01 (10,99) c	28,24 (24,98; 51,21)
Bianco Oxigênio ativo	23,97 (0,09) d	23,94 (23,89; 24,13)
Bianco Protefresh	52,99 (4,11) a	53,83 (46,47; 57,52)
Bianco Detox pró-esmalte Carbon	48,01 (9,05) ab	51,45 (32,29; 55,28)

$p < 0,0001$ . Letras distintas indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

## Análise de pH

Para o pH (Figura 2) também foi observada diferença significativa entre os dentifrícios ( $p < 0,05$ ). O Colgate máxima proteção anti-cáries apresentou um valor pH significativamente maior que os demais dentifrícios (pH médio de 10,19), sendo considerado um dentifrício básico. Já o Bianco Oxigênio Ativo apresentou pH significativamente menor que os demais (pH médio de 5,70) ( $p < 0,05$ ). Acredita-se que o baixo valor de pH do Bianco Oxigênio Ativo seja devido a presença do peróxido de hidrogênio em sua formulação. O peróxido de hidrogênio é altamente reativo e ao se dissociar forma radicais livres tende a formação de um meio ácido (Kwon and Wertz, 2015). O pH é um importante fator a ser avaliado, pois relaciona-se com o potencial erosivo de um produto ou solução, segundo Dawes (2003) os valores de pH considerados como críticos para a solubilidade dos tecidos dentais (desmineralização) variam de acordo com o fluxo salivar, capacidade tampão e concentração de fosfato e cálcio da saliva humana, de cada indivíduo.

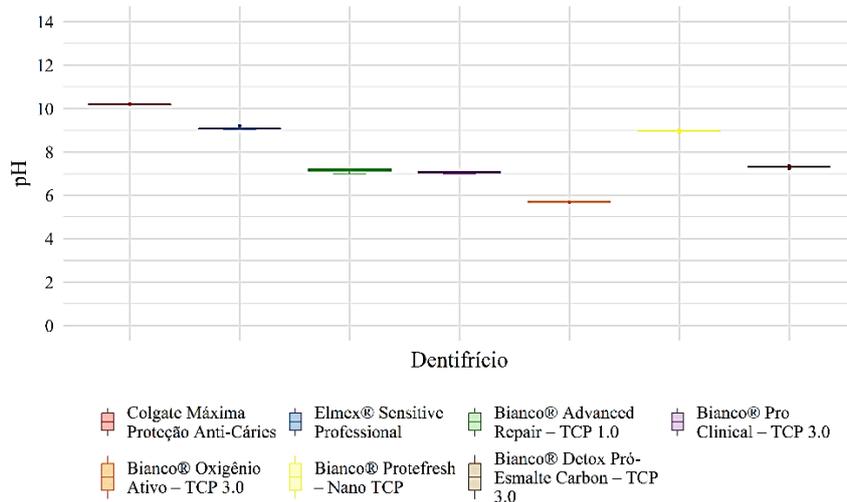


Figura 2. Box plot do pH em função do dentifrício.

## Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

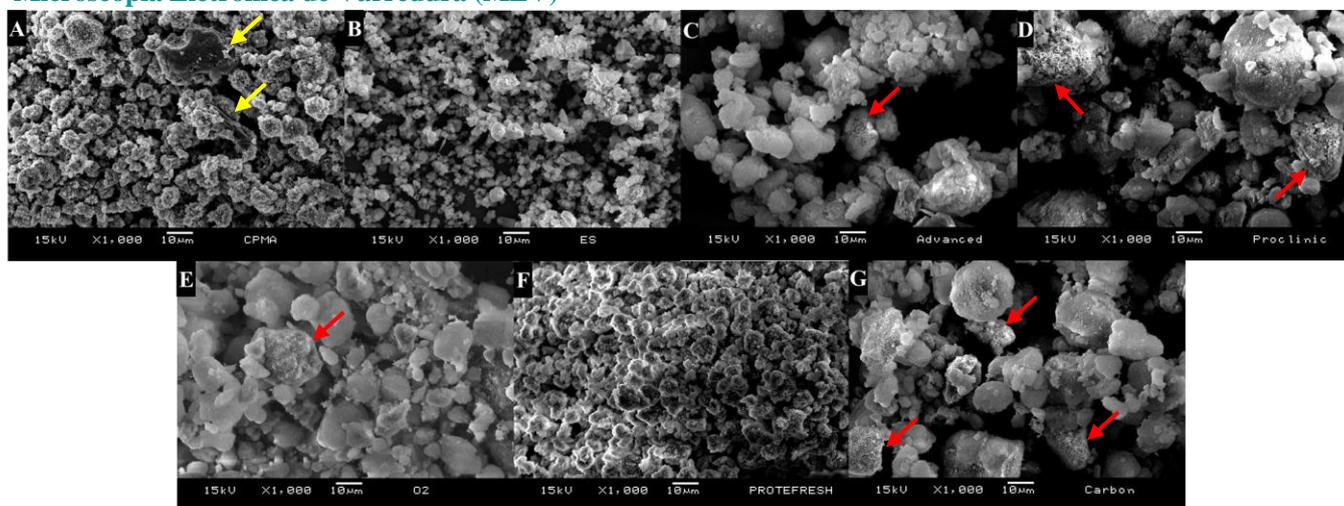


Figura 3. Imagens representativas em MEV. **A** – CPMA (Colgate e máxima proteção anticáries); **B** – ES (Elmex Sensitive); **C** – Advanced (Bianco advanced Repair); **D** – Proclinc (Bianco Pro clinical); **E** – O2 (Bianco Oxigênio ativo); **F** – Protefresh (Bianco Protefresh); **G** – Carbon (Bianco Detox Pró-esmalte Carbon).

Na figura 3A e 3F pode-se observar pouca variação nas formas das partículas usinadas com maior prevalência de partículas esféricas com espículas e aglomeradas. Em 3A também é possível observar a presença de formações que se assemelham a cristais (setas amarelas). Já na figura 3B é possível perceber a presença de partículas de tamanho menores e formas diversas quando comparadas com as demais.

Nas figuras 3C, 3D, 3E e 3G nota-se a presença de partícula com forma e textura semelhante, apontada pelas setas vermelhas. Pode-se levantar a hipótese que essa seria a partícula do tricálcio fosfato, uma vez que estes dentifrícios são do mesmo fabricante e todos eles contêm em sua composição esse ingrediente. Ainda nessas figuras (3C, 3D, 3E e 3G), nota-se que as partículas são esferoidais de tamanhos variando de pequeno a grande e formando aglomerados.

## CONCLUSÕES

Dentre os dentifrícios analisados *in vitro* pode-se concluir que,

- O Colgate máxima proteção anticáries e o Bianco Protetfresh apresentaram o maior teor de sólidos;
- O Bianco Oxigênio ativo foi o dentifrício que apresentou o menor valor de pH.
- O dentifrício Colgate máxima proteção anticáries apresentou o pH mais alcalino em comparação aos outros grupos.
- Todos os dentifrícios com exceção do Colgate máxima proteção anticáries e o Bianco Protetfresh, apresentaram partículas de morfologias e tamanhos distintos.

## AGRADECIMENTOS

Ao Serviço de Apoio ao Estudante- SAE pela concessão de bolsa e a empresa Bianco® Oral Care, pela doação dos dentifrícios utilizados neste estudo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Dawes, Colin. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid?. Journal-Canadian Dental Association, v. 69, n. 11, p. 722-725, 2003.
2. Ganss C, Marten J, Hara AT, Schlueter N. Toothpastes and enamel erosion/abrasion – Impact of active ingredients and the particulate fraction. J Dent. 2016 Nov;54:62–7.
3. González-Cabezas C, Hara AT, Hefferen J, Lippert F. Abrasivity Testing of Dentifrices - Challenges and Current State of the Art. In: Monographs in Oral Science. 2013. p. 100–7.
4. Jin J, Xu X, Lai G, Kunzelmann KH. Efficacy of tooth whitening with different calcium phosphate-based formulations. Eur J Oral Sci. 2013;121:382-388.
5. João-Souza SH, Lussi A, Baumann T, Scaramucci T, Aranha ACC, Carvalho TS. Chemical and physical factors of desensitizing and/or anti-erosive toothpastes associated with lower erosive tooth wear. Sci Rep. 2017 Dec 20;7(1):17909.
6. Kielbassa AM, Gillmann L, Zantner C, Meyer-Lueckel H, Hellwig E, Schulte-Mönting J. Profilometric and microradiographic studies on the effects of toothpaste and acidic gel abrasivity on sound and demineralized bovine dental enamel. Caries Res. 2005;39(5):380–6.
7. Kwon SR, Wertz PW. Review of the Mechanism of Tooth Whitening. J Esthet Restor Dent. 2015;27(5):240–57.
8. Lima DANL, Silva ALF e, Aguiar FHB, Liporoni PCS, Munin E, Ambrosano GMB, et al. In vitro assessment of the effectiveness of whitening dentifrices for the removal of extrinsic tooth stains. Braz Oral Res. 2008;22(2):106–11.
9. Lippert F. An Introduction to Toothpaste - Its Purpose, History and Ingredients. In: Monographs in oral science. 2013. p. 1–14.
10. Marinho VC, Higgins J, Logan S, Sheiham deceased A. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Syst Rev. 2003 Jan 20;
11. Meyers IA, McQueen MJ, Harbrow D, Seymour GJ. The surface effect of dentifrices. Aust Dent J. 2000 Jun;45(2):118–24.
12. Santos S, Conforti N, Mankodi S, Kohut B, Yu D, Wu M, et al. Anticalculus effect of two zinc citrate/essential oil-containing dentifrices. Am J. 2000;13:11C-13C.
13. Sanz M, Serrano J, Iniesta M, Santa Cruz I, Herrera D. Antiplaque and Antigingivitis Toothpastes. In: Monographs in Oral Science. 2013. p. 27–44.
14. Tomaz PLS, Sousa LA De, Aguiar KF De, Oliveira TDS, Matochek MHM, Polassi MR, et al. Effects of 1450-ppm Fluoride-containing Toothpastes Associated with Boosters on the Enamel Remineralization and Surface Roughness after Cariogenic Challenge. Eur J Dent. 2020 Feb 13;14(01):161–70.
15. Vaz VTP, Jubilato DP, Oliveira MRM, Bortolatto JF, Floros MC, Dantas AAR, et al. Whitening toothpaste containing activated charcoal, blue covarine, hydrogen peroxide or microbeads: which one is the most effective? J Appl Oral Sci. 2019 Jan 14;27:e20180051.
16. Viana ÍEL, Lopes RM, Silva FRO, Lima NB, Aranha ACC, Feitosa S, Scaramucci T. Novel fluoride and stannous -functionalized  $\beta$ -tricalcium phosphate nanoparticles for the management of dental erosion. J Dent. 2020 Jan;92:103263
17. Vieira-Junior WF, Lima DANL, Tabchoury CPM, Ambrosano GMB, Aguiar FHB, Lovadino JR. Effect of Toothpaste Application Prior to Dental Bleaching on Whitening Effectiveness and Enamel Properties. Oper Dent. 2016;41(1):E29-38.