

Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento

LUÍS EDUARDO SILVA SOARES

“Aplicações da Espectroscopia Raman em Dentística”

São José dos Campos, SP

2006

LUÍS EDUARDO SILVA SOARES

“Aplicações da Espectroscopia Raman em Dentística”

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade do Vale do Paraíba, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Airton Abrahão Martin

Orientador: Prof. Dr. Aldo Brugnera Júnior

São José dos Campos, SP

2006

S655a

Soares, Luís Eduardo Silva

Aplicações da Espectroscopia Raman na Dentística / Luís Eduardo Silva Soares. São José dos Campos : Univap, 2006.

1 Disco laser. Color.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2006.

1. Análise espectral Raman /Aplicações 2. Resinas compostas 3. Lasers 4. Dentina 5. Odontologia I. Martin, Airton Abrahão. Orient. II. Brugnera Júnior, Aldo. Orient III. Título.

CDU:616.314:543.42

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processo fotocopiadores ou transmissão eletrônica.

Assinatura do aluno: *Luís Eduardo Silva Soares*

Data: 20 de Dezembro, de 2006

“APLICAÇÕES DA ESPECTROSCOPIA RAMAN EM DENTÍSTICA”

Luis Eduardo Silva Soares

Banca Examinadora:

Prof. Dr. **MARCOS TADEU TAVARES PACHECO** (UNIVAP) 

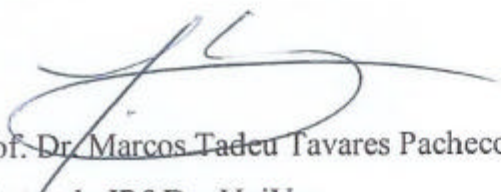
Prof. Dr. **AIRTON A. MARTIN** (UNIVAP) 

Prof. Dr. **ALDO BRUGNERA JUNIOR** (UNIVAP) 

Profª. Dra. **DENISE M. ZEZELL** (USP)

Prof. Dr. **JOSÉ CLAUDIO GALZERANI** (UFSCar) 

Prof. Dr. **MARCELO GIANNINI** (UNICAMP) 


Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco
Diretor do IP&D – UniVap

São José dos Campos, 20 de Dezembro de 2006.

*Dedico este trabalho,
a Deus, por me guiar nesta longa jornada...*

*Aos meus pais, Nino e Maria do Carmo, por tudo que me proporcionaram
durante minha vida e minha formação, permitindo chegar até aqui, sempre com
dignidade e simplicidade...*

*Aos meus irmãos, Luís Fernando, Ana Flávia e Ana Lúcia,
por terem me apoiado durante esta etapa de minha vida.....*

À minha sobrinha Letícia, por seu carinho angelical...

AGRADECIMENTOS

A meus pais, Nino e Maria do Carmo, minha eterna gratidão por todo empenho, apoio e amor dedicados à minha formação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Airton A. Martin, por todos os ensinamentos, pela amizade, orientação e dedicação, sem a qual seria impossível atingir todos os meus objetivos. Exemplo de trabalho e dedicação, meus sinceros agradecimentos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Aldo Brugnera Júnior, pela atenção, pela amizade, pelo apoio incondicional em todos os momentos, por seu incentivo e motivação e pelo exemplo a ser seguido na vida acadêmica.

Ao Reitor da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Prof. Dr. Baptista Gargione Filho, e ao Diretor do IP&D, Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco, pela bolsa a mim concedida para a realização do Curso de Doutorado em Engenharia Biomédica.

Ao Diretor da Faculdade de Ciências da Saúde, Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro, pela confiança em mim depositada, desde o início do Curso de Mestrado, e no trabalho na Faculdade de Ciências da Saúde no Curso de Odontologia.

À Profa. Dra. Ana Maria do Espírito Santo, por toda a ajuda na correção dos trabalhos e da tese, por sua amizade, carinho e atenção, sempre disposta a colaborar e atender, meus sinceros agradecimentos.

À Profa. Dra. Fátima Antônia Aparecida Zanin, pela dedicação e apoio na realização deste trabalho, por sua amizade e por todos os ensinamentos neste período.

À Profa. Dra. Priscila Christiane Suzy Liporoni por todos os seus ensinamentos, pelo apoio na realização deste trabalho, pela sua amizade e compreensão em todos os momentos difíceis.

Aos meus amigos Cibelle Barbosa Lopes, Ilene Cristine Rosia Cesar, Rick Rocha e Sidnei Nahorny por sua amizade, por toda a força e ajuda durante a realização deste trabalho.

A todos os co-autores dos artigos componentes deste trabalho de tese.

Aos colegas de laboratório, Erick Bruno Rezende e Walter Andrés Avendaño Jara, pelo apoio durante o trabalho e pela realização da análise no programa MatLab.

À Dra. Maria Cristina F. da Silva Giacom Ribeiro, Chefe do Laboratório de Qualificação e Confiabilidade do Laboratório de Integração de Testes (LIT) do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) por autorizar a utilização do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e ao técnico Rodrigo Silva Rodrigues pelo auxílio na análise de MEV.

Ao Instituto Brugnera e Zanin, pelo apoio e colaboração para a realização deste trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica (LEVB) que sempre estiveram ao meu lado durante a realização deste trabalho me dando força para não desistir e continuar.

À Profa. Dra. Sônia Khouri Crosariol e ao técnico Guilherme Rodrigues Teodoro do Laboratório de Microbiologia do Curso de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Univap pela realização da autoclavagem das amostras de dentina.

Ao funcionário da oficina da UNIVAP, José Unterkircher, pela confecção das matrizes de teflon e dealumínio utilizadas neste trabalho.

Aos funcionários do IP&D e da Biblioteca, por todo o auxílio e atenção durante o desenvolvimento desta tese.

*“Se a realidade é inesgotável, temos sempre que começar de novo.
Nenhuma teoria acaba a discussão, apenas a repõe ou direciona”.*

Pedro Demo

“Aplicações da Espectroscopia Raman em Dentística”

RESUMO

A técnica de espectroscopia Raman permite obter informações sobre a estrutura molecular, níveis de energia e ligações químicas das moléculas de uma amostra. O presente trabalho é um conjunto de estudos que apresentam as possíveis aplicações da espectroscopia Raman em Dentística. A primeira parte deste estudo incluiu a análise por espectroscopia FT-Raman do grau de conversão (GC) produzido na resina Z100[®] pela fotoativação por luz halógena e por um LED de baixa irradiância (1^a geração) com tempos de ativação de 20, 40 e 60 segundos. A fotoativação pelos tempos de 40 e 60 segundos não apresentou diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$) no GC entre as fontes de luz, apesar da diferença na irradiância. O tempo de 20 segundos para o LED produziu um menor GC em ambas as faces da resina comparado com a luz halógena ($P < 0,05$). A fotoativação por LED de 1^a geração necessita de um maior tempo de irradiação para produzir um GC adequado na resina. A segunda parte deste estudo incluiu a análise por espectroscopia FT-Raman do GC produzido na resina Charisma[®] fotoativada por um aparelho de luz halógena, um aparelho de LED de alta irradiância (2^a geração) e um aparelho de LED de baixa irradiância (1^a geração) no modo normal e progressivo. Foi estudada também a influência do tipo de ponteira do aparelho de fotoativação no GC. Os maiores valores do GC foram produzidos pela luz halógena e pelo LED de 2^a geração no modo normal e progressivo ($P < 0,001$) comparando-se com o LED de 1^a geração. O LED de 2^a geração mostrou ser uma alternativa segura para a fotoativação de resinas. O tipo de ponteira não influenciou no GC final produzido na resina ($P > 0,05$). A terceira parte deste estudo apresentou duas avaliações importantes: a avaliação, por espectroscopia Raman, dos efeitos do condicionamento pelo laser de Er: YAG nos componentes da dentina humana e o estudo dos efeitos da esterilização de dentes em autoclave ou armazenagem em Timol nos componentes da dentina. O conteúdo mineral e orgânico da dentina foi mais alterado nos dentes autoclavados do que nos dentes armazenados em Timol. A esterilização em autoclave e as energias de pulso de 120 e 180mJ do laser de Er:YAG alteraram o conteúdo orgânico e inorgânico da dentina, associado à uma maior redução das áreas dos picos Raman em 968, 1077, 1460 e 1670 cm^{-1} . A quarta parte deste estudo apresentou a avaliação, por espectroscopia FT-Raman e por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), dos efeitos do condicionamento com laser de Er:YAG na dentina. As imagens obtidas por MEV mostraram que a superfície da dentina irradiada apresentou um aspecto pouco favorável para difusão dos monômeros de uma resina. A energia de pulso de 180mJ do laser produziu alterações químicas das proteínas, do fosfato e do carbonato presentes na dentina. A espectroscopia Raman mostrou ser uma técnica de análise versátil em aplicações na Dentística. A preparação das amostras é relativamente simples, não necessitando de nenhum método específico. É uma técnica não-destrutiva, possibilitando assim a análise da mesma amostra por outras técnicas de análise.

Palavras chave: espectroscopia Raman, resinas compostas, grau de conversão; dentina; laser de Er:YAG, manipulação dental

“Raman spectroscopy applications in Dentistry”

ABSTRACT

The Raman spectroscopy technique allows obtaining information about the molecular level, energy level and chemical bonds of the molecules of a sample. The present investigation is a group of studies that shows the possible applications of the Raman spectroscopy as an analytical tool in Dentistry. The first part of this study included the analysis, by FT-Raman spectroscopy, on the degree of conversion (DC) produced in the Z100[®] composite resin cured either by halogen light and low irradiance LED (first generation) with activation periods of 20, 40 and 60 seconds. The curing time of 40 and 60 seconds did not show statistically significant difference in the DC between the light sources ($P>0.05$), despite of the difference in the irradiance. The curing period of 20 seconds with the LED produced, in both resin surfaces, lower DC values than with the halogen light curing ($P<0.05$). The curing by the first generation LED needs a higher irradiation time than the halogen light to produce an adequate DC in the resin. The second part of this study included the FT-Raman spectroscopy analysis of the DC produced on the Charisma[®] resin cured by halogen light, high irradiance LED (second generation) and low irradiance LED (first generation) in the soft-start and normal modes. It was also studied the influence of the type of the light guide tip on the DC. Higher DC values were obtained for halogen light and high irradiance LED in the soft-start and normal modes ($P<0.001$) than that obtained for low irradiance LED. The high irradiance LED demonstrated to be a reliable option for curing composite resins. The type of the light guide tip did not influence the final DC produced in the resin ($P>0.05$). The third part of this study presented two important evaluations: the study, by Raman spectroscopy, on the effects of the Er:YAG laser etching in the components of the human dentin and the effects, on the dentin, of the teeth autoclave sterilization or storage in Thymol. The mineral and organic contents were more affected for the autoclaved teeth than in the teeth stored in Thymol. The autoclave sterilization and the Er:YAG laser pulse energies of 120 and 180mJ changed significantly the organic and inorganic dentin content, associated to a more effective reduction of the area of the Raman peak at 968, 1077, 1460 e 1670 cm^{-1} . The fourth part of this study showed the evaluation, by FT-Raman spectroscopy and Scanning Electron Microscopy (SEM), of the Er:YAG laser etching effects in dentin. The SEM images showed that the irradiated dentin surface presented an aspect that was not favorable to the monomer diffusion. The laser pulse energy of 180mJ produced chemical changes of the proteins, phosphate and carbonate constituents of the dentin. Raman spectroscopy showed to be an adequate analytical tool in Dentistry applications. The sample preparation is fairly simple, since it does not require specific method or previous treatment. This technique is non-destructive, and thus samples can be used in multiple analyses.

Keywords: Raman spectroscopy, composite resin, degree of conversion, dentin, Er:YAG laser, dental manipulation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1:** Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de dentina fraturada (NAKABAYASHI, PASHLEY 2000). _____ 22
- Figura 1.2:** Imagem de microscopia eletrônica de varredura da smear layer da face oclusal da dentina. Notam-se algumas bactérias ainda presentes (setas) e os túbulos dentinários ocluídos por resíduos de dentina após preparo (BARATIERI et al., 2001). _____ 22
- Figura 1.3:** Descrição esquemática do diagrama de níveis dos mecanismos de espalhamento. _____ 32
- Figura 1.4:** Descrição esquemática de componentes de um sistema de espectroscopia Raman dispersivo. _____ 34
- Figura 1.5:** Descrição esquemática de um interferômetro de Michelson de um sistema de espectroscopia Raman com transformada de Fourier. _____ 36

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Bis-GMA: Bisfenol A – diglicidil éter dimetacrilato

CCD: *Charge coupled devices*

CDV: Calorimetria Diferencial por Varredura

C=C: ligação química Carbono-Carbono

C=O: ligação química Carbono-Oxigênio

cm⁻¹: unidade do deslocamento Raman

CO₂: Dióxido de Carbono

CO₃²⁻: Carbonato

E: energia (J)

ER: Espectroscopia Raman

Er:YAG: Érbio: Ítrio-Alumínio-Granada

FTIR: Fourier transform infrared

GC: grau de conversão

Hz: hertz

InGaN: Nitrato de Gálio Índio

IR: *infrared*

KBr: Brometo de potássio

LED: *Light Emitting Diode*

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MET: Microscopia Eletrônica de Transmissão

mJ: Milijoules

mW/cm²: milliwatts por centímetro quadrado

N-H: ligação química Nitrogênio-Hidrogênio

Nd:YAG: Neodímio: Ytrio-Alumínio-Granada

nm: Nanômetro (s) (10^{-9} metros)

PO₄³⁻: fosfato

P: Probabilidade estatística

Pa: pressão atmosférica

s: Segundos

TEGDMA: Trietileno glicol dimetacrilato

u.a.: unidade arbitrária

UDMA: Uretano dimetacrilato

°C: Graus Celsius

mm: micrômetro (s)

l : comprimento de onda

r_E: densidade de energia (J/cm²)

SUMÁRIO

| | PÁG. |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1 Resinas compostas e fontes de fotoativação | 16 |
| 1.1.1 Grau de conversão | 18 |
| 1.1.2 Fotoativação progressiva | 19 |
| 1.2 Condicionamento da dentina e adesão | 21 |
| 1.2.1 Condicionamento ácido | 22 |
| 1.2.2 Condicionamento pelo Laser de Er:YAG | 24 |
| 1.3 Condições de armazenamento e descontaminação dental | 26 |
| 1.4 Técnica de análise | 28 |
| 1.4.1 Espectroscopia Raman | 30 |
| 1.4.1.1 Espectroscopia Raman Dispersiva | 33 |
| 1.4.1.2 Espectroscopia Raman com transformada de Fourier (FT-Raman) | 35 |
| 1.4.1.3 Espectroscopia Raman em Dentística | 37 |
| 2. OBJETIVOS | 39 |
| 3. RESULTADOS | 40 |
| 3.1 Publicação 1 | 40 |
| 3.2 Publicação 2 | 41 |
| 3.3 Publicação 3 | 42 |
| 3.4 Publicação 4 | 43 |
| 4. DISCUSSÃO | 44 |
| 4.1 Resinas compostas, fontes de fotoativação e grau de conversão. | 45 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2 Influência das condições de armazenamento e descontaminação dental e da irradiação com laser de Er:YAG nos componentes da dentina. _____ | 51 |
| 5. CONCLUSÕES _____ | 58 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____ | 59 |
| APÊNDICE A – Degree of conversion of composite resin: A Raman study _____ | 70 |
| APÊNDICE B – Vickers hardness and Raman spectroscopy evaluation of a dental composite cured by argon laser and a halogen lamp _____ | 71 |
| APÊNDICE C – Molecular analysis of Er:YAG laser irradiation on dentin _____ | 72 |
| APÊNDICE D – Chemical, morphological and thermal effects of 10.6-mm CO₂ laser on the inhibition of enamel demineralization _____ | 73 |
| APÊNDICE E – Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralized primary enamel: an <i>in vitro</i> study _____ | 74 |
| APÊNDICE F – Influence of fiber-post translucency on the degree of conversion of a dual-cured resin cement _____ | 75 |
| APÊNDICE G – Influence of coffee on reflectance and chemistry of composite resin protected by surface sealant _____ | 76 |
| APÊNDICE H – Degree of cure of composite resins polymerized by light emitting diode: an FT-Raman study _____ | 77 |
| APÊNDICE I – Degree of conversion in dental resins polymerized by Argon laser, halogen lamp and LED: a Raman study _____ | 78 |
| APÊNDICE J – Study of the degree of photoactivation of the Z250 resin by photoacoustics _____ | 79 |
| APÊNDICE K – Raman study of human dentin irradiated with Er:YAG laser. _____ | 80 |
| APÊNDICE L – Er:YAG laser irradiation of human dentin: Raman study of collagen. _____ | 81 |

| | |
|--|-----------|
| APÊNDICE M – Fourier transform Raman spectroscopy study of human dentin irradiated with Er:YAG laser. | 82 |
| APÊNDICE N – Assessment of enamel chemistry composition and its relationship with caries susceptibility | 83 |
| APÊNDICE O – Effects of the CO₂ laser combined with fluoridated toothpaste on human dental enamel demineralization | 84 |
| APÊNDICE P - OUTROS TRABALHOS | 85 |
| ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP | 88 |
| ANEXO B – Carta de aceite do Operative Dentistry Journal | 89 |
| ANEXO C – Carta de aceite do Photomedicine and Laser Surgery Journal | 90 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Resinas compostas e fontes de fotoativação

Atualmente as resinas compostas fotoativadas são amplamente aplicadas na Odontologia como material restaurador em virtude de algumas vantagens sobre as restaurações de amálgama, como, por exemplo, um preparo mais conservador que não necessita de características retentivas além de uma grande demanda por estética na sociedade moderna. Além do desenvolvimento na composição e no melhoramento das propriedades das resinas, as fontes de luz para fotoativação também apresentaram grande evolução em suas características.

Dentre as fontes de fotoativação disponíveis podemos citar os aparelhos de lâmpada halógena, o laser de Argônio, os aparelhos de arco de plasma, as lâmpadas de xenônio e, mais recentemente, os aparelhos de diodo emissor de luz azul (LEDs) (LOHBAUER et al., 2005).

A lâmpada halógena é a fonte de luz mais comumente utilizada para a fotoativação de compósitos em Odontologia. Entretanto, a geração de calor é a maior desvantagem apresentada por esta fonte de fotoativação (TARLE et al., 2002; BENNETT; WATTS, 2004; BALA; OLMEZ; KALAYCI, 2005; NITTA, 2005; MARTINELLI et al., 2006).

Diversos estudos têm mostrado que muitos aparelhos de lâmpada halógena utilizados por clínicos não alcançam a potência mínima especificada pelos fabricantes. A falta de manutenção ou a falta de reposição do bulbo da lâmpada halógena no período correto alteram esta potência mínima (STAHL et al., 2000; MILLS et al., 2002; BENNETT; WATTS, 2004).

Para tentar superar os problemas inerentes das fontes de fotoativação por luz halógena, a tecnologia dos diodos emissores de luz azul (LEDs) foi recentemente adaptada para a fotoativação de materiais dentários (STAHL et al., 2000; KURACHI et al., 2001; DUNN et al., 2002; MILLS et al., 2002; YOON et al., 2002; BENNETT; WATTS, 2004; BALA; OLMEZ; KALAYCI, 2005; NITTA, 2005; MARTINELLI et al., 2006).

Os LEDs apresentam, como vantagem, uma durabilidade de mais de 10.000 horas sem uma significativa degradação da intensidade da luz no decorrer do tempo. Não necessitam de filtros para produzir a luz azul e consomem pouca energia durante a sua utilização (DUNN; BUSH, 2002; YOON et al., 2002; BALA; OLMEZ; KALAYCI, 2005; NITTA, 2005; FELIX; PRICE; ANDREOU, 2006).

A primeira geração de LEDs para fotoativação de resinas, os quais possuem múltiplos LEDs, apresentam baixa irradiância, e não produzem o mesmo desempenho das fontes de luz halógena, resultando em restaurações com propriedades mecânicas deficientes (PRICE; FELIX; ANDREOU, 2003; UHL et al., 2004).

A desvantagem dos LEDs azuis é a baixa irradiância produzida por unidade de LED, o que torna necessário o arranjo de vários LEDs, idealmente concentrados em uma pequena área (UHL et al., 2004). Uma segunda geração de LEDs foi introduzida no mercado para

superar as limitações dos aparelhos de primeira geração. Estes LEDs únicos de Nitrato de Gálio Índio (InGaN) consistem de múltiplos emissores no mesmo substrato produzindo irradiâncias de $900\text{mW}/\text{cm}^2$ (UHL et al., 2004). Recentemente uma terceira geração de LEDs foi desenvolvida, os quais utilizam dois tipos de LEDs emitindo em dois comprimentos de onda diferentes ativando a canforoquinona e outros fotoiniciadores (PRICE; FELIX; ANDREOU, 2006).

Os estudos da polimerização dos compósitos são amplamente realizados na busca de melhores resultados clínicos, pois a profundidade de polimerização dos compósitos utilizados em restaurações estéticas tem grande importância na longevidade clínica das mesmas (SOARES et al., 2002). Dentre as propriedades da resina que são diretamente influenciadas pela fotoativação podemos citar o grau de conversão.

1.1.1 Grau de conversão

O grau de conversão (GC) é a medida da porcentagem das ligações de carbono reduzidas durante a reação de polimerização. A conversão dos monômeros em polímero nos compósitos ativados por luz depende de diversos fatores, tais como, o tipo de luz ativadora, a densidade de energia (ρ_E), o comprimento de onda da luz (λ), a composição da resina, a transmissão da luz através do material e da quantidade de ativador-iniciador e inibidor presentes na resina (KNEZEVIC et al., 2001; SOARES et al., 2003; 2004; 2005).

O grau de conversão exerce um papel importante para determinar o sucesso de uma restauração, pois a extensão da reação de polimerização pode exercer um efeito nas propriedades da resina como a solubilidade, a estabilidade dimensional, a alteração de cor e a biocompatibilidade da restauração de resina (IMAZATO et al., 2001; LOVELL et al., 2001; STANSBURY et al., 2001; YOON et al., 2002; SOARES et al., 2003; 2004;

VANDEWALLE et al., 2004; BALA; OLMEZ; KALAYCI, 2005; STANSBURY et al., 2005; LOHBAUER et al, 2005).

Porém, se a conversão é maximizada para superar deficiências nas propriedades da resina, então problemas como a contração de polimerização e a fratura da resina tornam-se mais críticos (STANSBURY et al., 2005). Durante a fotoativação, a conversão das moléculas de monômero da matriz da resina em uma rede de polímero é acompanhada por um agrupamento mais próximo das moléculas o que leva a aumentar a contração. A redução de volume normalmente é denominada como contração de polimerização (DAVIDSON; FEILZER, 1997; DEWAELE et al., 2006).

1.1.2 Fotoativação progressiva

Embora os aparelhos de fotoativação com alta intensidade de luz produzam altos valores de grau de conversão na resina e propriedades físicas melhores, eles também produzem altos valores de contração durante a fotoativação do compósito (TARLE et al., 2002). Este fato pode resultar no aumento do estresse interno e da microinfiltração. Um processo de fotoativação mais lento permite um relaxamento do estresse de contração durante a reação (SAKAGUCHI; BERGE, 1998).

Um grau de conversão equivalente pode ser alcançado utilizando uma intensidade de luz mais baixa por um maior período de tempo ou utilizando intensidades variáveis por um período de tempo, pois o processo de fotoativação é mais dependente da energia total do que da intensidade da luz somente (SAKAGUCHI; BERGE, 1998; LOHBAUER et al., 2005).

Estudos recentes mostraram que a adaptação marginal das restaurações de compósitos é melhorada quando o período inicial de irradiação é conduzido em uma baixa intensidade. Na

fase pré-gel da polimerização, o compósito é capaz de fluir, o que alivia o estresse dentro da restauração. Após a geleificação, o compósito desenvolve o estresse de contração devido ao avanço do módulo elástico. O estresse de contração interno ocorre devido ao escoamento não ser capaz de compensar a contração. Assim, surgiram no mercado os aparelhos de fotoativação “*soft-start*” os quais possuem a opção de operar com um período inicial de iluminação em baixa intensidade podendo assim, reduzir o estresse desenvolvido durante a fotoativação do compósito (SILIKAS et al., 2000; AMARAL et al., 2002; TARLE et al., 2002; ASMUSSEN; PEUTZFELDT, 2003; WITZEL et al., 2005).

Existem diversos métodos de fotoativação que visam o escoamento das tensões de contração e redução da contração de polimerização. Estes métodos utilizam aparelhos convencionais de fotoativação (luz halógena) com o intuito de reduzir a quantidade de luz inicial, como a associação de baixa e alta energia luminosa (gradual em duas etapas ou *step* e exponencial ou *ramp*) e a forma descontínua (pulso interrompido ou *pulse delay*), a qual a luz é aplicada rapidamente e, depois de uma pausa, uma luz com alta potência e longa duração é efetuada. Estes métodos visam aumentar o período pré-gel para que possibilite o alívio das tensões geradas, com vistas a um melhor selamento marginal, sem alterar as propriedades mecânicas e o grau de conversão (AMARAL et al., 2002; ASMUSSEN; PEUTZFELDT, 2003; LOPES, 2003; LOHBAUER et al., 2005; LU et al., 2005).

Uma das hipóteses para explicar o que ocorre é que o período inicial de baixa intensidade pode facilitar certo grau de relaxamento da cadeia do polímero, tal qual uma porção do estresse de contração relaxa enquanto o sistema ainda não alcançou o estágio de vitrificação (LU et al., 2005). Os estudos relatam que o método de fotoativação progressiva alivia parcialmente o estresse de contração e produz uma melhor integridade marginal na interface dente/resina, sem comprometer a conversão final das ligações duplas de carbono e as propriedades mecânicas da resina (LU et al., 2005).

Outra área que passou por um grande desenvolvimento na Dentística é a área de condicionamento da dentina e da adesividade.

1.2 Condicionamento da dentina e adesão

A dentina é caracterizada como um composto biológico de uma matriz de colágeno preenchida com cristalitos de apatita com tamanhos submicrométricos-nanométricos (Figura 1.1), dispersos entre cilindros ocos paralelos hipermineralizados de tamanho micrométrico, pobre em colágeno (túbulos dentinários contendo dentina peritubular) (NAKABAYASHI; PASHLEY 2000). Observa-se densa matriz dentinária dentro do túbulo dentinário e uma matriz dentinária peritubular altamente mineralizada, mas com pouco colágeno. A matriz dentinária intertubular mineralizada entre os túbulos é fibrosa devido à presença das fibras colágenas (Figura 1.1).

A composição química da dentina é aproximadamente 45% em volume de mineral de apatita carbonatada (cristalitos de espessura aproximada de 5nm), 25% de água e 30% de fibras colágenas tipo I (tipicamente 50-100nm de diâmetro), embora a composição possa mudar com a posição do dente e até mesmo em um mesmo dente (NALLA et al., 2005).

Outra característica da dentina é a presença da *smear layer* que se forma na superfície após instrumentação (Figura 1.2), a qual oclui a entrada dos túbulos dentinários e diminui a permeabilidade dentinária até cerca de 86%. A *smear layer* compõe-se de restos de matéria orgânica e inorgânica produzidos pela redução ou instrumentação da dentina, do esmalte ou do cimento. É composta de hidroxiapatita e colágeno alterado, tendo a superfície externa formada por colágeno desnaturado e geleificado (BARATIERI et al., 2001).

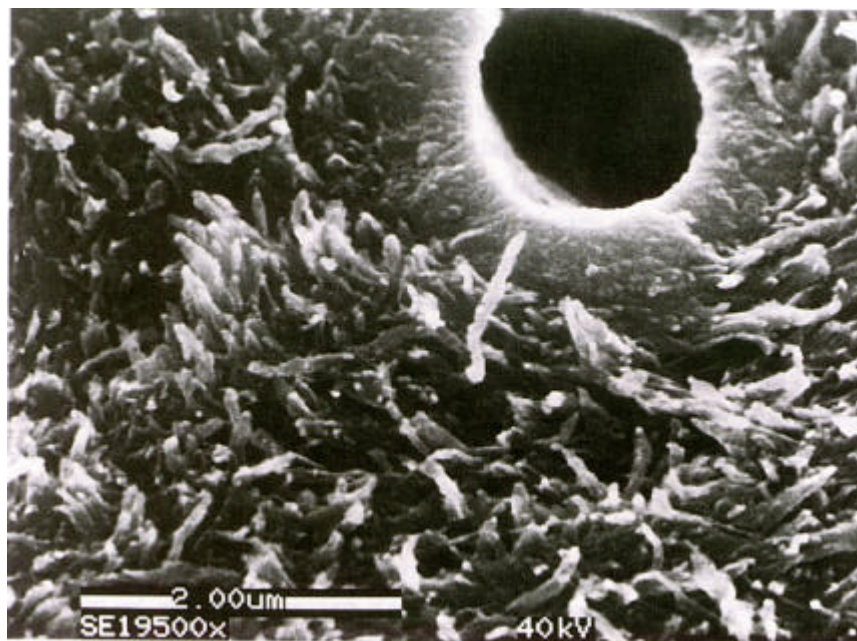


Figura 1.1: Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de dentina fraturada (NAKABAYASHI, PASHLEY 2000).



Figura 1.2: Imagem de microscopia eletrônica de varredura da *smear layer* da face oclusal da dentina. Notam-se algumas bactérias ainda presentes (setas) e os túbulos dentinários ocluídos por resíduos de dentina após preparo (BARATIERI et al., 2001).

1.2.1 Condicionamento ácido

O objetivo fundamental na maior parte dos procedimentos restauradores é criar a união de duas superfícies não similares: a estrutura dental mineralizada e o material restaurador

(MACARI et al., 2002). Em 1955, Buonocore introduziu a técnica do condicionamento ácido, a qual promoveu a união mecânica entre as restaurações de resina acrílica e as superfícies de esmalte tratadas (BUONOCORE, 1955).

Atualmente, apesar dos grandes avanços na Odontologia em relação aos materiais adesivos, a união entre as restaurações de resina e a estrutura dental não tem sido totalmente compreendida ou alcançada (SATO et al., 2005). Uma adesão estável e confiável na dentina é um desafio devido ao alto conteúdo orgânico e de água na dentina, a pressão do fluido proveniente dos túbulos dentinários, juntamente com a densidade, o diâmetro e a orientação dos túbulos dentinários (MACARI et al., 2002; SOUZA et al., 2004; SATO et al., 2005).

Além dos fatores físicos, a adesão na dentina também é dificultada pela formação da *smear layer* quando a mesma é cortada ou polida, ocluindo os orifícios dos túbulos dentinários (MACARI et al., 2002). Portanto há uma constante preocupação em se desenvolver materiais ou métodos que sejam compatíveis a esta superfície favorecendo o devido selamento marginal nas restaurações (ODA et al., 2001).

O procedimento tradicional para a remoção da *smear layer* é o condicionamento ácido. Este procedimento permite a penetração da resina nos túbulos dentinários, e na dentina peritubular e intertubular parcialmente descalcificada, seguido pela polimerização criando a camada híbrida (ARRAIS; GIANNINI, 2002; MACARI et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2003; SCHEIN et al., 2003).

A evidência morfológica da penetração da resina na camada exposta de fibras colágenas foi relatada inicialmente por Nakabayashi e colaboradores (apud SPENCER; WANG, 2002). Os autores denominaram a zona distinta entre o volume do adesivo e a dentina não desmineralizada de camada híbrida. Esta camada é formada quando o adesivo penetra na superfície da dentina desmineralizada e infiltra-se nas fibras colágenas expostas (SPENCER; WANG, 2002; WANG; SPENCER, 2004).

O condicionamento da dentina é utilizado como um passo de preparação da superfície para melhorar a adesão em uma variedade de procedimentos na dentística preventiva e restauradora. A dentina peritubular é rapidamente condicionada e os orifícios dos túbulos dentinários são abertos, enquanto que a morfologia da matriz intertubular permanece relativamente estável. Após o condicionamento, a rede de colágeno intertubular hidratado é exposta e os adesivos hidrofílicos são capazes de penetrar neste espaço e formar a camada híbrida ou a zona de interdifusão resina-dentina (ROSALES et al., 1999).

Atualmente, um dos passos operatórios alternativos para o tratamento dentinário é o uso da irradiação com laser Er:YAG, que vem sendo estudado não somente para a realização de preparo cavitário, remoção de tecido cariado e de restaurações de resina composta, como também, no condicionamento de esmalte e dentina (ODA et al., 2001).

1.2.2 Condicionamento pelo Laser de Er:YAG

Os lasers desenvolveram-se rapidamente como uma ferramenta para o uso em Odontologia clínica. Possivelmente o maior avanço na aceitabilidade dos lasers como ferramentas clínicas foi o desenvolvimento do laser de Érbio:Ítrio-Alumínio-Granada (Er:YAG) ($\lambda = 2,94\mu\text{m}$) e dos lasers híbridos de Érbio similares operando nesta área do espectro infravermelho. Os lasers de Er:YAG possuem a capacidade de remover esmalte, dentina, e tecido cariado com quantidades mínimas de rompimento térmico para o dente (ATTRIL et al., 2004). Excessivo dano térmico tem sido um dos principais problemas associados com outros sistemas laser como o Nd:YAG e CO₂ quando utilizados para o preparo de cavidades devido ao baixo coeficiente de absorção no esmalte e na dentina (ATTRILL et al., 2004).

O laser de Er:YAG apresenta emissão em 2,94 μm que coincide com o máximo da banda de absorção da água neste comprimento de onda ($\sim 3,0\mu\text{m}$). Esta energia emitida é

eficientemente absorvida pela hidroxiapatita e tem demonstrado ser mais efetiva que outros sistemas para remoção de tecidos dentais duros (HOSSAIN et al., 2001; CEBALLOS et al., 2002; CARMELINGO et al., 2004; DUNN; DAVIS; BUSH, 2005; DE SOUZA-GABRIEL et al., 2006; SOUZA et al., 2006). Pequenas alterações de temperatura foram relatadas (KELLER; HIBST, 1990), especialmente quando o laser é utilizado em conjunto com um “spray” de água. Para proteger o tecido pulpar e prevenir a fusão do tecido dentário, a irradiação laser deve ser sempre acompanhada por refrigeração, prevenindo também fissuras no esmalte e na dentina causadas por choque térmico (DE MUNCK et al., 2002). A aplicação deste laser apresenta a vantagem de ser mais confortável para os pacientes do que a preparação convencional em alta rotação com pontas diamantadas (CEBALLOS et al., 2001; DUNN; DAVIS; BUSH, 2005).

Diversas características do tecido dentinário irradiado pelo laser de Er:YAG são consideradas vantajosas para a adesão da resina à dentina. Entre estas incluem-se a formação de um substrato com uma superfície microscopicamente rugosa sem desmineralização, túbulos dentinários abertos sem a produção de *smear layer* e esterilização da superfície dentinária (CEBALLOS et al., 2002; SCHEIN et al., 2003; CARMELINGO et al., 2004). Devido ao processo de ablação, o qual envolve microexplosões do substrato dental e uma maior volatilização da dentina intertubular do que da dentina peritubular, o laser de Er:YAG expõe uma superfície com um padrão típico de embricamento com túbulos dentinários abertos (DE MUNCK et al., 2002).

A efetividade do laser de Er:YAG no condicionamento da dentina depende de vários parâmetros, como a energia incidente, a frequência, o modo do pulso (pulsado ou não-pulsado), a distância focal, a densidade de potência, o tempo de irradiação e refrigeração por água (CORONA et al., 2003; SOUZA et al., 2004; CARMELINGO et al., 2004; DE SOUZA-GABRIEL et al., 2006).

Os estudos pioneiros na aplicação do laser demonstraram uma melhor adesão na dentina irradiada com laser de Er:YAG quando comparado com o procedimento tradicional com ácido fosfórico (VISURI, 1996). Entretanto, diferentes resultados são apresentados por estudos posteriores que mostraram que o laser afetou negativamente a adesão na dentina comparada com o condicionamento ácido (CEBALLOS et al., 2001; 2002; DE MUNCK et al., 2002; GONÇALVES et al., 2002; DUNN et al., 2005; AIZAWA et al., 2006; SOUZA et al., 2006) ou que a irradiação com o laser de Er:YAG seguida do condicionamento ácido, produziu valores similares estatisticamente quando comparado ao condicionamento ácido somente (MARRACCINI et al., 2006).

Os estudos sobre irradiação com o laser de Er:YAG na dentina fornecem diversos parâmetros de irradiação e resultados diferentes entre si, no qual utilizam testes mecânicos e análises morfológicas para avaliar a influência da irradiação laser sobre a dentina. Entretanto, são necessários estudos por técnicas espectroscópicas para esclarecer os efeitos da irradiação laser sobre os componentes inorgânicos e na estrutura da rede de fibras colágenas em nível molecular.

1.3 Condições de armazenamento e descontaminação dental

Com relação aos estudos *in vitro* na Odontologia, diversas pesquisas com o uso de novos sistemas adesivos e com lasers para o tratamento da superfície da dentina têm sido realizadas (WANG; SPENCER, 2004; SATO; BACHMANN et al., 2005a; MIYAZAKI, 2005; AIZAWA et al., 2006; SOUZA et al., 2006; MARRACCINI et al., 2006). Contudo, pouco se tem pesquisado com relação à influência dos métodos de descontaminação prévia dos dentes humanos utilizados em testes de adesão em dentina.

Estudos *in vitro* de materiais dentários e de algumas técnicas restauradoras *in vivo* requerem um número significativo de dentes humanos extraídos. Entretanto, os dentes extraídos podem abrigar diversos microorganismos, causando contaminação cruzada (PANTERA et al., 1990). O risco que o pesquisador se submete ao manipular dentes extraídos é alto, considerando-se o grande número de microorganismos presentes no biofilme, no sangue, no ligamento periodontal, em cavidades de cárie ou na polpa dos dentes extraídos, os quais podem contaminar o pesquisador durante a manipulação dos mesmos (PASHLEY; TAO; PASHLEY, 1993; WHITE et al., 1994; DEWALD, 1997; DOMINICI et al., 2001; JACQUES; HEBLING, 2006). Assim, procedimentos de controle de infecção são utilizados para se manipular dentes humanos para eliminar o risco de transmissão de doenças (SPERANDIO et al., 2001).

Diversas metodologias de armazenamento, descontaminação e esterilização de amostras dentais, como o uso de esterilização por vapor e por calor seco, gás de óxido de etileno e radiação gama, são utilizadas para produzir espécimes dentais livres de microorganismos (WHITE et al., 1994; WHITE; RAYS, 1995; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999; SPERANDIO et al., 2001). A resistência à adesão na dentina é normalmente determinada por testes de cisalhamento e tensão, mas os resultados em dentes humanos submetidos a diferentes métodos de esterilização são controversos (SPERANDIO et al., 2001). Portanto, alterações em nível molecular causadas por métodos de descontaminação e pela irradiação laser, devem ser investigadas para uma melhor avaliação da interação destes fatores com a estrutura dental e seus componentes.

1.4 Técnica de análise

Nos últimos anos a adesão da resina composta à superfície da dentina tem melhorado com a introdução de novos sistemas adesivos (COLI et al., 1999; WANG; SPENCER, 2004; SATO; MIYAZAKI, 2005). O condicionamento ácido da dentina produz uma camada de colágeno exposto na superfície da dentina e permite a penetração subsequente da resina adesiva na dentina desmineralizada rica em colágeno, formando uma camada impregnada de resina, também chamada de camada híbrida (COLI et al., 1999).

Esta camada híbrida tem sido identificada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (WANG; SPENCER, 2004; SATO; MIYAZAKI, 2005) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) em diversos estudos (CEBALLOS et al., 2002), e infiltração do adesivo na dentina é considerada o principal fator da adesão na dentina (COLI et al., 1999). Entretanto, os estudos por MET e MEV requerem uma preparação de amostras apropriada para este tipo de análise, inutilizando a amostra para ensaios posteriores por outras técnicas de caracterização. Além disso, o vácuo necessário para o imageamento do tecido no seu estado natural hidratado pelo microscópio eletrônico é dificultado, chegando a impossibilitar a análise. Este fato aumenta as preocupações com relação à introdução de artefatos durante a dessecação, pois o processo de desidratação pode alterar as estruturas que se deseja avaliar (HABELITZ et al., 2002).

A influência da irradiação do laser de Er:YAG na dentina para condicionamento também é avaliada por técnicas tradicionais como a MEV (KAMEYAMA et al., 2002; SCHEIN et al., 2003; DUNN; DAVIS; BUSH, 2005; MARRACCINI et al., 2005; 2006) e testes de adesividade (MARTÍNEZ-INSUA et al., 2000; KAMEYAMA et al., 2002; SOUZA et al., 2004; DUNN; DAVIS; BUSH, 2005; DE SOUZA-GABRIEL et al., 2006; MARRACCINI et al., 2006). Técnicas espectroscópicas como a espectroscopia Raman

(CARMELINGO et al., 2004; YAMADA et al., 2004) e a técnica de FTIR (BACHMANN et al., 2005a) também são aplicadas no estudo das alterações causadas pela irradiação do laser de Er:YAG na composição química e estrutura do colágeno da dentina. A técnica de espectroscopia no infravermelho (FTIR) também é aplicada no estudo dos efeitos de métodos de esterilização dental na estrutura e componentes da dentina (WHITE et al., 1994) e no estudo dos efeitos do aquecimento da dentina na estrutura do colágeno (BACHMANN et al., 2005b).

Algumas das técnicas utilizadas para a determinação do grau de conversão são espectroscópicas (espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e espectroscopia Raman com transformada de Fourier), enquanto outras têm como base a medida do calor gerado durante a polimerização (calorimetria diferencial por varredura, CDV). Os métodos espectroscópicos avaliam o nível de conversão na superfície estudada, enquanto que a análise por CDV mede a quantidade de calor que é liberada pelo volume do material (ENAMI; SODERHOLM, 2003).

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) tem sido utilizada para avaliar o GC de compósitos, detectando-se diretamente as vibrações de estiramento das ligações C=C antes e depois da fotoativação dos materiais por aparelhos de luz halógena e LEDs (SILIKAS et al., 2000; KNEZEVIC et al., 2001; TARLE et al., 2002; YOON et al., 2002; KAKABOURA et al., 2003; VANDEWALLE et al., 2004; CONTI et al., 2005; BALA; OLMEZ; KALAYCI, 2005; PEUTZFELDT; ASMUSSEN, 2005; LOHBAUER, et al., 2005). Entretanto para medir o GC de todo o volume do compósito por FTIR, este procedimento é demorado, pois a amostra necessita ser pulverizada (IMAZATO et al., 2001). A amostra não polimerizada necessita ser misturada em KBr puro e a amostra polimerizada deve ser prensada antes por uma pressão de 10^7 Pa (KNEZEVIC et al, 2001).

Diante de todos os fatores que interferem no processo de adesão e formação da camada híbrida na dentina, como o tipo de processo de descontaminação dos dentes e o uso de lasers para o condicionamento, surge a necessidade da aplicação de técnicas de microanálise não-destrutivas e que permitam obter mais informações sobre as alterações na dentina. Para a avaliação da efetividade das novas fontes de fotoativação sobre o GC das resinas compostas, técnicas de análise não-destrutivas também são requisitadas. Entre as técnicas que permitem obter informações sobre a estrutura molecular e as ligações químicas, podemos citar a Espectroscopia Raman (ER) e a Espectroscopia no Infravermelho (IR).

1.4.1 Espectroscopia Raman

A radiação espalhada pelas moléculas contém fótons com a mesma frequência da radiação incidente, mas pode conter também um pequeno número de fótons com a frequência alterada ou deslocada. O processo espectroscópico da medida destes fótons deslocados foi chamado de Espectroscopia Raman. Na espectroscopia Raman, uma amostra é irradiada com uma fonte de luz monocromática (normalmente um laser). Neste processo, a maior parte da radiação será espalhada da amostra no mesmo comprimento de onda da radiação laser incidente (espalhamento elástico ou Rayleigh). Entretanto, uma pequena fração da luz incidente, aproximadamente um fóton em um milhão (0,0001%), será espalhado da amostra inelasticamente e, portanto, com um comprimento de onda maior (anti-Stokes) ou menor (Stokes) do que o comprimento de onda original do laser (espalhamento Raman). Este processo de espalhamento inelástico da luz é conhecido como efeito Raman (SALA, 1995).

Os picos Raman resultantes fornecem a “impressão digital” de cada componente bioquímico da amostra, que for Raman ativo. Tendo em vista que a energia luminosa é proporcional à frequência, a mudança de frequência dessa luz espalhada deve ser igual à

frequência vibracional do espalhamento das moléculas. Classicamente, podemos entender a vibração molecular, considerando um sistema massa – mola, no qual, a frequência de vibração de duas moléculas de massa m_1 e m_2 ligados por uma força constante K , é inversamente proporcional a massa reduzida do sistema, ou seja, $\nu^2 \propto K/\mu$. Onde μ , é a massa reduzida

definida por $\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$.

A partir do ponto de vista do nível de energia, o processo de espalhamento Raman pode ser visto como uma transição da molécula de um estado fundamental para um estado vibracional excitado, acompanhado pela absorção simultânea de um fóton incidente e da emissão de um fóton espalhado (Figura 1.3). O estado fundamental da vibração molecular corresponde a uma molécula parada, com energia E_0 (nível fundamental). O outro nível corresponde à energia E_1 que a molécula tem quando está vibrando em um de seus modos normais. Para que isso aconteça, é necessário que a molécula receba uma energia E_f . Quando o fóton incidente tem uma energia E_f muito maior que a energia E_1 do modo normal, a molécula é excitada para um estado cuja energia E_v é muito maior que a energia E_1 do modo de vibração. Esses estados excitados são muito instáveis e a molécula rapidamente cai para estados de menor energia. A molécula pode, por exemplo, voltar ao estado fundamental (0), re-emitindo um fóton com a mesma energia do fóton incidente. O fóton incidente foi espalhado (E_s), sem perder sua energia inicial (espalhamento Rayleigh).

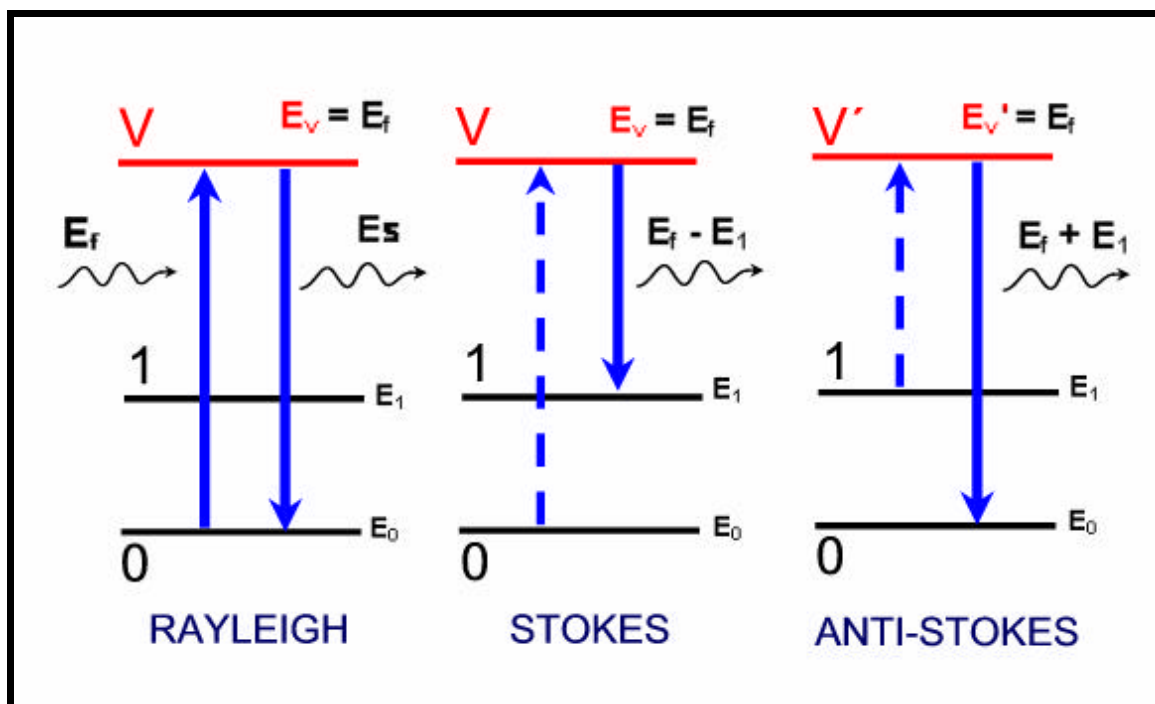


Figura 1.3: Descrição esquemática do diagrama de níveis dos mecanismos de espalhamento.

Entretanto, em alguns casos, a molécula não retorna ao estado fundamental. Depois de decair, ela permanece no estado vibracional (1), com energia E_1 . Nesse caso, o fóton que é re-emitido terá sua energia diminuída para $E_f - E_1$ (espalhamento inelástico Raman Stokes). De outra maneira, a molécula pode já estar vibrando com energia E_1 , quando o fóton incide sobre ela, levando-a a uma energia mais alta $E_{V'}$. Desse estado vibracional (V'), a molécula decai para o estado fundamental (0) e um fóton de energia $E_f + E_1$ é emitido com ganho de energia (espalhamento inelástico Raman anti-Stokes). Portanto, o processo Raman pode produzir fóton com energia maior ou menor que a energia do fóton incidente.

A luz Raman espalhada é coletada por um espectrômetro e mostrada como um “espectro”, no qual sua intensidade é dada como uma função da sua mudança de frequência. Visto que cada espécie molecular possui sua banda vibracional molecular, o espectro Raman de uma substância em particular irá consistir de uma série de picos ou “bandas”, cada uma deslocada por uma das frequências vibracionais características daquela molécula (HANLON et al., 2000).

Os espectrômetros Raman utilizam basicamente uma de duas tecnologias para coleta dos espectros: o sistema Raman dispersivo e Raman com transformada de Fourier. Cada técnica possui vantagens únicas e cada uma é utilizada em análises específicas.

1.4.1.1 Espectroscopia Raman Dispersiva

Os sistemas Raman dispersivos utilizam normalmente um laser com emissão na região visível do espectro eletromagnético. Uma das vantagens de se utilizar lasers com comprimento de onda mais curto é a obtenção de um melhor sinal Raman, tendo em vista que, a eficiência do espalhamento Raman é proporcional a $1/\lambda^4$. Entretanto, a luminescência produzida por lasers em baixos comprimentos de onda pode encobrir bandas do espectro Raman resultante (PAPPAS et al., 2000).

Para observar o espectro Raman, é necessário separar o espalhamento Raman coletado em comprimentos de onda individuais. Nos instrumentos Raman dispersivos, este passo é realizado focalizando o sinal Raman em uma grade, a qual separa espacialmente os comprimentos de onda. Este feixe espacialmente dispersado é direcionado a um detetor de cargas acopladas (CCD) (Figura 1.4). Nos sistemas dispersivos, os comprimentos de onda típicos de excitação são no visível e no ultravioleta. Este fato sugere que todos os sistemas Raman deveriam utilizar lasers de excitação nesta faixa de comprimento de onda. Entretanto, um fator dificulta a utilização do Raman como ferramenta rotineira para a análise de amostras biológicas: a luminescência. A luminescência é uma emissão muito eficiente de uma magnitude várias vezes maior que o sinal. Então uma luminescência mínima pode encobrir o sinal Raman desejado. A luminescência ocorre quando o nível de energia virtual se sobrepõe a um nível eletrônico mais alto, então à medida que a energia do laser aumenta (comprimentos de onda menores), a luminescência aumenta. O fenômeno é dependente do comprimento de

onda, e sendo assim uma amostra que apresenta luminescência em um comprimento de onda pode não apresentar em outro.

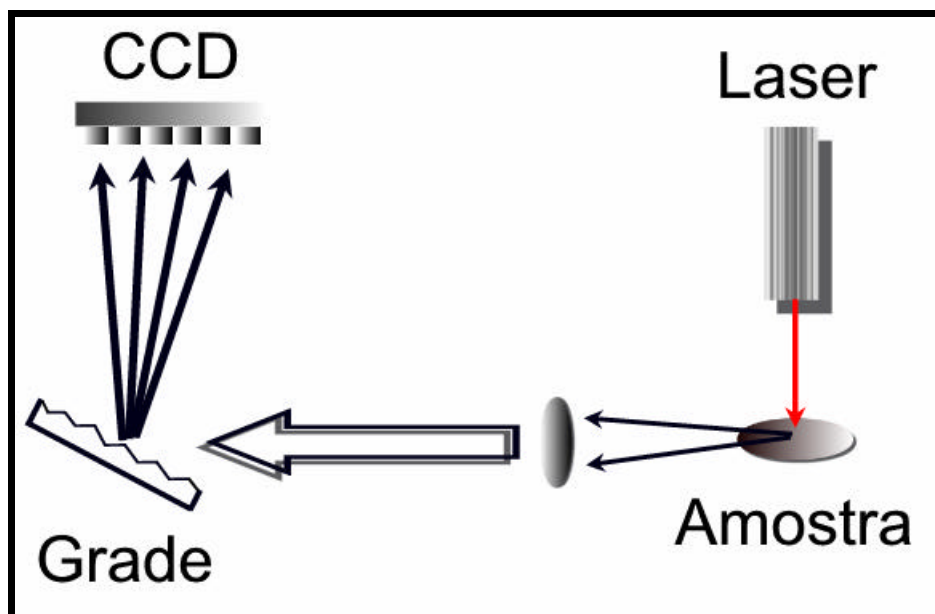


Figura 1.4: Descrição esquemática de componentes de um sistema de espectroscopia Raman dispersivo.

A grade de difração possui uma forte influência na resolução espectral e no processamento do instrumento. Quanto maior o número de “sulcos” ou linhas na grade, maior é o ângulo de dispersão dos raios emitidos, assim, é necessário ter muitas linhas (por exemplo, 1800 ou 2400 linhas/mm) para um espectro de alta resolução, no qual os comprimentos de onda com espaços muito próximos necessitam ser distinguido. Um número menor de linhas é necessário (300 ou 600 linhas/mm) para um espectro de baixa resolução. Quanto maior a dispersão dos raios de saída, maior será a área sobre a qual diferentes comprimentos de onda irão estar quando alcançarem a superfície do detetor.

1.4.1.2 Espectroscopia Raman com transformada de Fourier (FT-Raman)

A utilização da espectroscopia Raman como técnica de análise em análises biológicas tem sido limitada devido à radiação de luminescência a qual interfere com o sinal Raman de interesse. Na década de 90, uma técnica híbrida chamada espectroscopia Raman por transformada de Fourier (Espectroscopia FT-Raman) foi desenvolvida para eliminar as desvantagens do espalhamento Raman. Foi utilizada como uma técnica de caracterização de sistemas de polímeros impuros como, por exemplo, as resinas compostas dentais. Um instrumento FT-Raman utiliza um laser de excitação no infravermelho (1064nm), um interferômetro (Michelson) e um detetor no infravermelho de alta sensibilidade (Ge ou InGas). Por utilizar um laser de excitação com comprimento de onda maior, existe menor energia fornecida, então o estado virtual é mais baixo e menos provável sobrepor um estado eletrônico superior. Este fato reduz grandemente as interferências de luminescência (SHIN et al., 1993; PAPPAS et al., 2000).

A espectroscopia FT-Raman utiliza um interferômetro para produzir um interferograma, o qual decodifica as frequências do espalhamento Raman em um único sinal (Figura 1.5). O interferômetro utiliza um separador de feixe otimizado para a radiação no infravermelho próximo, o qual divide o espalhamento Raman em dois feixes ópticos: um transmitido e um refletido. O feixe refletido viaja e reflete em um espelho plano que é fixo. O feixe transmitido viaja e reflete em um espelho plano preso a um mecanismo que permite o espelho mover-se uma distância curta (tipicamente poucos milímetros) do separador de feixes.

Os dois feixes se recombinaem no separador de feixes onde, por eles viajarem distâncias diferentes dos dois espelhos, eles interferem construtivamente ou destrutivamente entre si. O espelho móvel tem uma frequência constante e movimento fixo, assim esta interferência é modulada. O interferograma resultante tem a propriedade única de que cada

ponto de dados (uma função da posição de espelho móvel) tem informação sobre toda frequência do espalhamento Raman coletado da amostra.

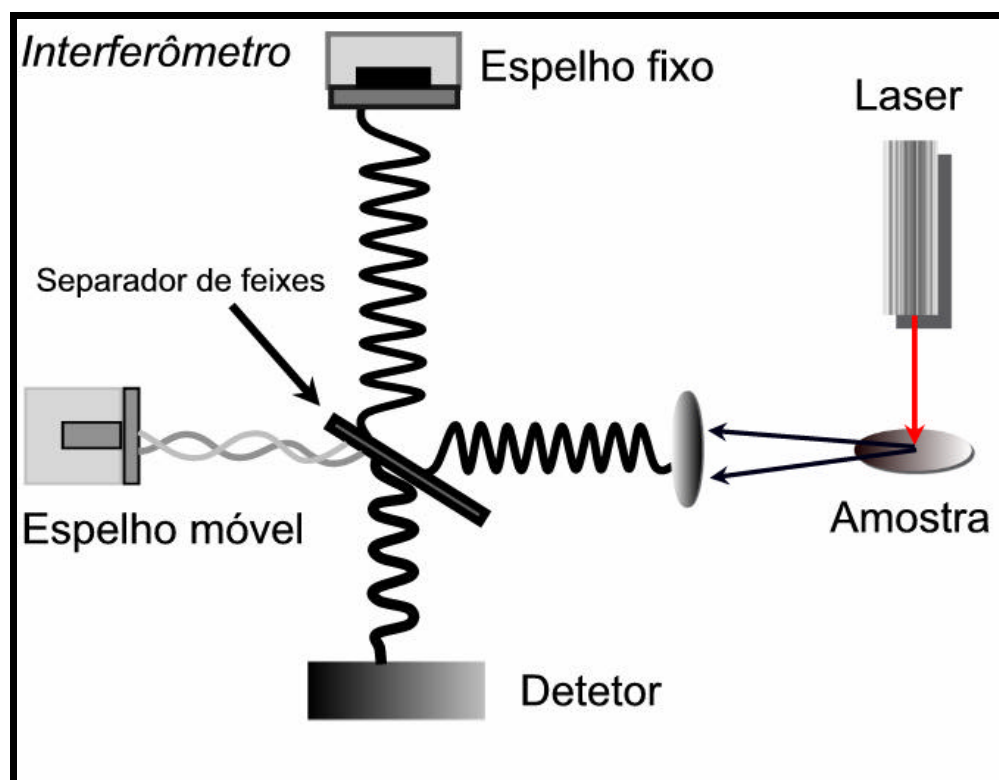


Figura 1.5: Descrição esquemática de um interferômetro de Michelson de um sistema de espectroscopia Raman com transformada de Fourier.

Espectros vibracionais são tipicamente apresentados como espectros de frequência (um gráfico da intensidade de cada frequência individual) porque o sinal do interferograma medido não é diretamente interpretado. As frequências individuais são decodificadas utilizando uma técnica matemática bem conhecida chamada transformação de Fourier. O computador realiza esta transformação, e a informação espectral desejada é apresentada.

Ambas as técnicas de espectroscopia Dispersiva e por FT-Raman baseiam-se no mesmo princípio. Uma das diferenças entre a espectroscopia Raman dispersiva e com transformada de Fourier é que a última utiliza-se de um interferômetro de Michelson em vez de grades de dispersão para analisar a luz espalhada (AGARWAL; ATALLA, 1995).

1.4.1.3 Espectroscopia Raman em Dentística

Esta técnica tem sido utilizada em estudos prévios no diagnóstico de cárie (KO et al., 2005), no estudo da estrutura e componentes da dentina (TSUDA et al., 1996; WENTRUP-BYRNE et al., 1997; TRAMINI et al., 2000; MARSHALL et al., 2003; SCHULZE et al., 2004), no estudo da interface entre dentina e sistemas adesivos (SUZUKI et al., 1991; LEUNG et al., 1995; XU et al., 1997; LEMOR et al., 2000; MIYAZAKI et al., 2002; MIYAZAKI et al., 2003; SATO 2005) e no estudo das mudanças na estrutura química da dentina ocorrida pela irradiação de laser de Er:YAG (CAMERLINGO et al., 2004; YAMADA et al., 2004).

A sua aplicação se estende também em outras áreas da Dentística como, por exemplo, no estudo de grau de conversão de resinas compostas fotoativadas por Laser de Argônio (SOARES et al., 2002; 2003; 2004), luz halógena (PIANELLI et al., 1999; SILIKAS et al., 2000; LELOUP et al., 2002; SOARES et al., 2002; 2003; 2004; DE SANTIS, BALDI, 2004) e fotoativadas por LEDs (KNEZEVIC et al., 2001; TARLE et al., 2002; YOON et al., 2002; SOARES et al., 2005).

A espectroscopia Raman é uma técnica analítica utilizada para estudar a composição e a estrutura de adesão numa amostra (MIYAZAKI et al., 2002). Os espectros adquiridos são atribuídos a moléculas ao invés de simples elementos. A desidratação da amostra não é necessária e as medidas podem ser realizadas em condições ambientes (MIYAZAKI et al., 2002). Nas resinas compostas, as bandas vibracionais de interesse são tipicamente as duplas ligações de Carbono (C=C) e as vibrações das ligações duplas de Carbono e Oxigênio (C=O) dos monômeros (SHIN et al., 1993).

A Espectroscopia FT-Raman tem sido amplamente aplicada atualmente no estudo de propriedades das resinas compostas como, por exemplo, o grau de conversão produzido por

diversas fontes de fotoativação (KNEZEVIC et al., 2001; TARLE et al., 2002; YOON et al., 2002; SOARES et al., 2005). É aplicada também no estudo dos efeitos da irradiação do laser de CO₂ na estrutura do esmalte dental (AMIZADEH; SHAHABI; WALSH, 1999; STEINER-OLIVEIRA et al., 2006).

A utilização da espectroscopia Raman apresenta diversas vantagens quando comparada com outras técnicas. A preparação das amostras é relativamente simples, não necessitando de nenhum método específico. É uma técnica não-destrutiva, possibilitando assim a análise da mesma amostra por outra técnica posteriormente. Amostras de qualquer espessura e geometria podem ser investigadas porque a radiação incidente pode ser focada na amostra e a radiação dispersada coletada com coletores ópticos apropriados (SHIN et al, 1993).

Diante dos aspectos acima expostos, torna-se clara a necessidade de se utilizar uma técnica de análise versátil e não-destrutiva para o estudo de resinas compostas, fontes de fotoativação e da irradiação laser em tecidos duros. Portanto, a proposta do presente estudo foi de apresentar um conjunto de aplicações da espectroscopia Raman na área da Dentística.

2. OBJETIVOS

1. Estudar por espectroscopia FT-Raman o grau de conversão produzido na resina composta por fotoativação por aparelhos de diodo emissor de luz (LEDs) de primeira geração.
2. Estudo por espectroscopia FT-Raman do grau de conversão produzido na resina por fotoativação progressiva e normal com aparelhos de diodo emissor de luz (LEDs) de primeira e segunda geração e dois tipos de ponteiros no LED de primeira geração.
3. Avaliação por espectroscopia Raman dos efeitos da irradiação com o laser de Er:YAG e de dois métodos de manipulação dental sobre os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina.
4. Estudo por espectroscopia FT-Raman e por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos efeitos da irradiação com o laser de Er:YAG sobre os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina.

3. RESULTADOS

3.1 Publicação 1

MONOMER CONVERSION OF COMPOSITE DENTAL RESIN PHOTOACTIVATED BY HALOGEN LAMP AND LED: A FT-RAMAN SPECTROSCOPY STUDY

Química Nova, v.28, n.2, p.229-232, 2005

Luís Eduardo Silva Soares, Rick Rocha e Airton Abrahão Martin*

Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, Av. Shishima
Hifumi, 2.911, 12244-000 São José dos Campos – SP

Antonio L. B. Pinheiro

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal da Bahia, 40110-150 Salvador – BA

Marcelo Zampieri

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, CP 676 13560-970 São
Carlos – SP

3.2 Publicação 2

Effect of the Soft-start Polymerization by the Second Generation LEDs on the Degree of Conversion of Resin Composite

Operative Dentistry, v. 32, n. 2, p.160-165, March/April, 2007

Luís Eduardo Silva Soares, Priscila Christiane Suzy Liporoni, Airton Abrahão Martin

3.3 Publicação 3

Effects of the treatment for manipulation of teeth and Er:YAG laser irradiation on dentin: a Raman Spectroscopy Analysis

Photomedicine and Laser Surgery, v.25, n.1, p.50-57, February, 2007

Luís Eduardo Silva Soares, Aldo Brugnera Júnior, Fátima Antônia Aparecida Zanin, Marcos

Tadeu Tavares Pacheco, Airton Abrahão Martin

3.4 Publicação 4

Combined FT-Raman and SEM studies of Er:YAG laser irradiation on dentin

Photomedicine and Laser Surgery (Aceito - Janeiro de 2007)

Luís Eduardo Silva Soares, Erick B. P. S. Resende, Walter Andrés Avendaño Jara, Aldo Brugnera Júnior, Fátima Antônia Aparecida Zanin, Airton Abrahão Martin

4. DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo principal avaliar as possíveis aplicações da espectroscopia Raman na área de Dentística. Dentre as aplicações desta técnica, foram realizados estudos para avaliação do grau de conversão de resinas compostas com diferentes fontes e modos de fotoativação, assim como, estudos dos efeitos de métodos de descontaminação dental nos componentes da dentina e das alterações moleculares causadas na dentina após a irradiação pelo laser de Er:YAG. A motivação principal para a escolha desta técnica de análise tem como base o fato de ser não-destrutiva e de fácil preparação da amostra, possibilitando assim a utilização da mesma amostra em outros tipos de análises. Outra motivação foi o fato desta técnica de análise permitir estudar alterações a nível molecular, detectando assim, mudanças nos componentes da dentina ou no grau de conversão que não poderiam ser verificados pelas técnicas convencionais.

A aplicação de técnicas de microanálise para o estudo das propriedades da dentina se torna uma ferramenta importante, pois a presença de diversas variáveis em pesquisas *in vitro* como o método de descontaminação dos dentes e diferentes parâmetros de irradiação com lasers, podem afetar o substrato orgânico e inorgânico da dentina interferindo posteriormente no processo de adesão. Assim, a Espectroscopia Raman foi utilizada para estudar as alterações semiquantitativas e qualitativas nos componentes da dentina através da comparação das áreas relativas dos picos Raman antes e após os tratamentos.

A espectroscopia Raman fornece detalhes da composição bioquímica, da estrutura molecular e da interação das moléculas nas células e tecidos. Assim, informações bioquímicas altamente específicas sobre proteínas, lipídeos, carboidrato, ácidos nucleicos e composição dos componentes minerais do dente (PO_4^{3-} , CO_3^{2-}) podem ser obtidas (KO et al, 2005).

Apesar do grande número de estudos na área da Dentística com a aplicação da técnica de espectroscopia Raman, alguns temas ainda são pouco explorados como, por exemplo, o estudo dos efeitos da irradiação do laser de Er:YAG na dentina, o estudo dos efeitos dos métodos de manipulação dental sobre os componentes da dentina, e o estudo da fotoativação de resinas compostas por LEDs de alta irradiância e em diferentes modos de ativação. Assim, estes fatos motivaram a realização de nosso estudo em duas áreas distintas da Dentística: o estudo do grau de conversão de resinas compostas restauradoras, a caracterização da dentina após a irradiação pelo laser de Er:YAG e o estudo dos efeitos dos métodos de manipulação dental nos componentes da dentina.

4.1 Resinas compostas, fontes de fotoativação e grau de conversão.

Nos últimos anos, a fotoativação dos compósitos por aparelhos de LEDs tem sido objeto de intensa pesquisa científica e de desenvolvimento de produtos comerciais. Os primeiros LEDs estudados possuíam baixa densidade de potência. Desde então a potência dos LEDs vem aumentando rapidamente. Recentemente foram introduzidos no mercado os “super” LEDs ou LEDs de alta irradiância (2ª geração) para substituir os LEDs de baixa irradiância (1ª geração).

Atualmente, um dos fatores determinantes da qualidade da fotoativação é a densidade de potência da luz produzida pela fonte ativadora, a qual representa a quantidade de fótons emitida através da ponteira guia (ZANCHI et al., 2006). Diversos estudos têm demonstrado que unidades de LEDs com baixa irradiância podem produzir uma fotoativação deficiente e resultar em restaurações com propriedades mecânicas inferiores (MILLS et al., 2002). Entretanto, estudos têm demonstrado que os LEDs de alta irradiância possuem potencial para substituir os aparelhos de lâmpada halógena (JANDT et al., 2000; STAHL et al., 2000; UHL et al., 2004).

Propriedades físicas e mecânicas deficientes das resinas compostas são influenciadas e alteradas pelo nível do grau de conversão (GC) alcançado durante a polimerização (SOARES et al, 2002; BALA; OLMEZ; KALAYCI, 2005). Neste processo, as ligações isoladas de carbono-carbono convertem-se para uma rede estendida de ligações simples (STANSBURY; DICKENS, 2001). Para determinar o GC das ligações duplas C=C dos grupos metacrilato das resinas, testes mecânicos como a microdureza (PIANELLI et al., 1999; SOARES et al., 2002), a microscopia ótica (PIANELLI et al., 1999) e os métodos vibracionais, como a Espectroscopia Raman (SHIN et al., 1993; XU et al., 1997; PIANELLI et al., 1999; SOARES et al., 2002, 2003, 2004, 2005; STANSBURY; DICKENS 2001; DE SANTIS; BALDI, 2004; CONTI et al., 2005) são utilizados.

Os métodos espectroscópicos permitem a medida direta dos valores do GC, pois bandas vibracionais específicas podem ser usadas como padrões internos. Nas resinas com base em Uretano dimetacrilato (UDMA), as vibrações N-H e C=O do uretano são escolhidas como bandas de referência (DE SANTIS; BALDI, 2004). Nas resinas com base no Bis-GMA, as vibrações aromáticas carbono-carbono em 1608 e 1583cm^{-1} são utilizadas como referência (DE SANTIS; BALDI, 2004).

A espectroscopia de absorção por transformada de Fourier no Infravermelho (FTIR) é a técnica de análise mais empregada atualmente no estudo do grau de conversão de resinas compostas (FERRACANE et al., 1997; XU et al., 1997; SAKAGUCHI; BERGE, 1998; SILIKAS et al., 2000; IMAZATO et al., 2001; KNEZEVIC et al., 2001; TARLE et al, 2002; YOON et al., 2002; ASMUSSEN; PEUTZFELDT, 2003; KAKABOURA et al., 2003; BALA; OLMEZ; KALAYCI, 2005; PEUTZFELDT; ASMUSSEN, 2005; LOHBAUER, et al., 2005). Outros estudos analisaram o GC por espectroscopia micro-Raman (PIANELLI et al., 1999; DE SANTIS; BALDI, 2004) e por espectroscopia Raman com laser de excitação na região do infravermelho próximo (SOARES et al., 2002, 2003, 2004). Estudos alternativos

analisaram o GC de resinas compostas através da espectroscopia FT-Raman (SHIN et al., 1993; XU et al., 1997; SOARES et al., 2005).

Entretanto para medir o GC de todo o volume do compósito por FTIR, é um procedimento demorado, visto que as amostras necessitam ser pulverizadas (IMAZATO et al., 2001). As amostras não polimerizadas necessitam ser misturadas em Brometo de Potássio (KBr) puro e as amostras polimerizadas devem ser prensadas antes por uma pressão de 10^7 Pa (KNEZEVIC et al, 2001).

Os sistemas Raman dispersivos empregam normalmente um laser com emissão na região visível do espectro eletromagnético. Uma das vantagens de se utilizar lasers com comprimento de onda menor é a obtenção de um melhor sinal Raman. Entretanto, a luminescência produzida por lasers de menores comprimentos de onda pode encobrir bandas do espectro Raman resultante. Os comprimentos de onda maiores dos lasers utilizados nos sistemas FT-Raman reduzem os efeitos da luminescência de uma amostra (PAPPAS, 2000). A técnica híbrida de espectroscopia Raman por Transformada de Fourier (Espectroscopia FT-Raman) foi desenvolvida para eliminar as desvantagens do espalhamento Raman. Um importante avanço foi a utilização de um laser no infravermelho como fonte de excitação da amostra. A menor energia da radiação no infravermelho não excita as transições eletrônicas da amostra que dão origem à luminescência indesejada (SHIN et al., 1993).

A primeira parte deste estudo incluiu a análise do GC produzido na resina Z100[®] pela fotoativação por luz halógena e por um LED de baixa irradiância (1ª geração) com tempos de ativação de 20, 40 e 60 segundos. A fotoativação pelos tempos de 40 e 60 segundos não apresentou diferença estatisticamente significativa no GC entre as fontes de luz ($p > 0,05$), apesar da diferença na irradiância produzida pelas fontes de luz. Entretanto o tempo de ativação de 20 segundos para o LED produziu diferenças estatísticas significantes no GC em ambas as faces da resina quando comparado com a luz halógena ($p < 0,05$) (SOARES et al.,

2005). Os resultados mostraram a necessidade de um maior tempo de fotoativação para o LED de baixa potência produzir na resina um GC similar ao produzido pela fonte de luz halógena. Estes resultados estão de acordo com resultados de estudos prévios, onde o GC da resina Z100[®] fotoativada por luz halógena durante 40 segundos alcança valores próximos a 50% (PIANELLI et al., 1999). Knezevic et al., (2001) estudaram a fotoativação por luz halógena com uma densidade de potência de 600mW/cm² e um LED com densidade de potência de 12mW/cm² observando resultados similares entre as fontes. Yoon et al., (2002) também não observam diferenças significantes entre a luz halógena e o LED no GC produzido em três diferentes resinas. Tarle et al., (2002) avaliaram a influência da fotoativação por luz halógena (560mW/cm²), LED (9mW/cm²) e arco de plasma (1370mW/cm²) no GC e na temperatura de três resinas compostas (Filtek Z250, Tetric Ceram e Pertac II). Os maiores valores do GC foram obtidos pela ativação por luz halógena.

Os resultados obtidos em diversos estudos mostram que o parâmetro importante na fotoativação é a quantidade de energia luminosa emitida em comprimento de onda apropriado durante a irradiação. As diferenças na composição das resinas e nas características das fontes de luz ativadoras resultam em significantes variações nos valores do GC obtidos na resina. A fotoativação das resinas depende não apenas da quantidade da luz, mas também na qualidade, representada por um adequado comprimento de onda (YOON et al., 2002).

O aparelho de luz halógena convencional emite luz em uma larga faixa de comprimento de onda, desperdiçando a energia de polimerização e produzindo calor excessivo. Por outro lado, a tecnologia dos LEDs permite a produção de fótons em uma faixa específica do comprimento de onda (entre 450 e 490nm) com o pico de absorção próximo de 470nm. Assim, os aparelhos de LED, mesmo possuindo baixas irradiâncias, apresentam efetividade semelhante à luz halógena, pois sua luz é totalmente envolvida pela banda de absorção da canforoquinona (ZANCHI et al., 2006)

A segunda parte deste estudo incluiu a análise por espectroscopia FT-Raman do GC produzido na resina Charisma[®] fotoativada por um aparelho de luz halógena, um aparelho de LED de alta irradiância (2ª geração) e por um aparelho de LED de baixa irradiância (1ª geração) no modo normal e progressivo. Foi estudada também a influência do tipo de ponteira do aparelho de fotoativação no GC produzido na resina. Os maiores valores do GC foram produzidos pela luz halógena e pelo LED de alta irradiância no modo normal e progressivo ($p < 0,001$).

Estudos anteriores avaliaram a relação entre a intensidade de luz da fonte de fotoativação e a contração linear e o GC de uma resina composta. Foi observado que a aplicação da luz em duas intensidades diferentes resultou em uma significativa redução na tensão de contração após a fotoativação sem afetar significativamente o GC (SAKAGUCHI; BERGE, 1998).

Knezevic et al., (2001) compararam o GC e o aumento de temperatura em quatro resinas (Tetric Ceram, Pertac II, Valux Plus e Degufil Mineral) ativadas pela luz halógena no modo normal ($600\text{mW}/\text{cm}^2$), no modo progressivo ($100\text{mW}/\text{cm}^2$, 10s e $700\text{mW}/\text{cm}^2$, 30s) e por um conjunto de 16 LEDs ($12\text{mW}/\text{cm}^2$). Observaram um pequeno aumento no GC para a fotoativação pela luz halógena comparado com o LED. A luz halógena apresentou valores mais altos de temperatura. Uma menor temperatura foi observada nos 10 segundos iniciais da fotoativação progressiva pela luz halógena permitindo assim, reações de polimerização mais lentas e o escoamento do material durante a primeira fase (fase pré-gel da polimerização).

Asmussen e Peutzfeldt (2003), estudaram a influência da fotoativação em dois passos de um polímero com base em Bis-GMA/TEGDMA no GC e na dureza antes e após um dia de armazenagem em etanol. As amostras foram fotoativadas inicialmente com densidades de potência de 25, 50, 100, 200 ou $400\text{mW}/\text{cm}^2$ por 10, 20 ou 40 segundos. A fotoativação final e no grupo controle foi realizada com $750\text{mW}/\text{cm}^2$ por 20 segundos. Nas densidades de

energia intermediárias de pré-polimerização, o GC foi menor quando comparado com o controle. A dureza antes da armazenagem não foi afetada pelo modo de ativação. O modo de fotoativação em dois passos resultou em polímeros com menor dureza após a armazenagem em etanol comparado com o controle.

Para uma determinada composição de monômero, o GC das ligações duplas é um co-determinante das propriedades mecânicas do polímero resultante e está diretamente relacionado com a contração de polimerização (SAKAGUCHI; BERGE, 1998; SILIKAS et al., 2000). Estudos iniciais mostraram que a fotoativação no modo progressivo de uma resina composta pode levar a uma redução da contração de polimerização da restauração devido ao alívio do estresse pelo escoamento da resina (DAVIDSON, 1997). Uma das técnicas de fotoativação progressiva consiste da polimerização em passos, onde a reduzida intensidade da luz é utilizada durante o período inicial da polimerização. Estas técnicas resultaram na reduzida formação de fendas sem alteração significativa no GC ou nas propriedades mecânicas. Um período inicial de polimerização lenta pode favorecer a formação de um polímero relativamente linear (ASMUSSEN; PEUTZFELDT, 2003).

Em nosso segundo estudo, a fotoativação por LED de segunda geração no modo normal e progressivo foi similar a fotoativação por luz halógena. Entretanto, a fotoativação pelo LED de primeira geração produziu valores inferiores do GC na resina nos dois modos de fotoativação. Estes valores maiores foram obtidos provavelmente devido ao maior tempo de fotoativação utilizado pelo LED de segunda geração que era o tempo disponível pelo fabricante. O LED de segunda geração mostrou ser uma alternativa segura para a fotoativação de resinas produzindo valores do GC maiores aos produzidos pela ativação por luz halógena.

A partir destes estudos, observamos que a utilização da luz halógena como fonte de fotoativação vem cada vez mais sendo substituída pela ativação por LEDs devido às muitas desvantagens da fonte de luz halógena. O desenvolvimento da tecnologia dos LEDs propiciou

um grande avanço na Dentística na área da fotoativação de resinas. Os estudos mostram então, que apesar da irradiância reduzida, os LEDs promovem uma fotoativação próxima a da luz halógena e em alguns casos até superior. Assim, concluímos que quando os LEDs apresentam baixa irradiância, o tempo de irradiação deve ser aumentado para garantir uma adequada fotoativação. Entretanto, este aumento no tempo de ativação tornam os procedimentos clínicos mais demorados.

4.2 Influência das condições de armazenamento e descontaminação dental e da irradiação com laser de Er:YAG nos componentes da dentina.

Uma questão pouco abordada e que muitas vezes não recebe atenção no delineamento de estudos científicos é o tipo de método de manipulação dental para pesquisas *in vitro* na Odontologia. A escolha de um método de manipulação dental incorreto pode alterar a estrutura do elemento dental e comprometer o resultado final das pesquisas. Outro ponto importante a ser pesquisado é o tratamento do substrato dental antes do processo de adesão. Este é um passo extremamente importante para o sucesso clínico de uma restauração. A utilização clínica do laser de Er:YAG vem crescendo nos últimos anos devido aos avanços na área de pesquisa para um melhor entendimento dos efeitos da irradiação por este laser na dentina e para o desenvolvimento de novos materiais e técnicas restauradoras.

A terceira parte deste estudo apresentou duas avaliações importantes: o estudo dos efeitos de dois métodos de manipulação dental e dos efeitos da irradiação com laser de Er:YAG nos componentes da dentina humana através da espectroscopia Raman. Vários métodos de descontaminação dental são utilizados nas pesquisas científicas. Dentre estes métodos, o processo de tratamento por autoclave (calor úmido e pressão) ainda é utilizado em alguns grupos de pesquisa para preparar as amostras (CENCI et al., 2004). Além disso, em alguns casos o tratamento para manipulação dental não é mencionado, impossibilitando a

reprodução do mesmo estudo (PENEL et al., 1998; TRAMINI et al., 2001; CEBALLOS et al., 2002; YAMADA et al., 2004). Um dos métodos mais utilizados para a manipulação prévia dos dentes é o tratamento com solução aquosa de Timol (HSU et al., 2000; HSU et al., 2001; ARNOLD et al., 2001; MACARI et al., 2002; MAHONEY et al., 2004). Em nosso estudo avaliamos por espectroscopia Raman, os efeitos do processo de esterilização por autoclave e pela descontaminação por solução de Timol nos componentes da dentina em nível molecular. Nossos resultados mostram que a esterilização em autoclave alterou significativamente os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina quando comparado com o tratamento por Timol após os tratamentos de superfície. A perda de mineral e alterações na matriz orgânica após os diferentes tratamentos de condicionamento da dentina foi maior nos grupos tratados previamente em autoclave. A esterilização por autoclave mostrou ser um processamento inadequado para as amostras de dentina alterando estruturas que são importantes no processo de adesão.

Estudos anteriores com outros métodos de manipulação dental como a radiação gama (SPERANDIO et al., 2001), citam que a resistência de união na dentina não foi alterada por este tipo de tratamento. Outros estudos citam que as moléculas de colágeno são alteradas pela radiação gama (CHEUNG et al, 1990). White et al. (1994), avaliaram em seu estudo por espectroscopia FTIR, os efeitos da radiação gama, do óxido de etileno, da esterilização por calor e da esterilização por autoclave, nos componentes da dentina. Os autores observaram redução no pico do fosfato para o tratamento com óxido de etileno e autoclave, indicando alteração no componente mineral. A intensidade do pico do colágeno também diminuiu no tratamento com autoclave. Para a esterilização por calor seco, a intensidade do pico do fosfato e do colágeno aumentou após a esterilização, indicando perda de água. Entretanto, a esterilização por radiação gama não afetou significativamente os componentes da dentina. Alguns estudos não apresentam conclusões definitivas, e citam a necessidade de mais

pesquisas (SPERANDIO et al., 2001). Em nosso estudo observamos que as alterações na dentina após tratamento em autoclave foram provavelmente causadas por efeito térmico da esterilização por calor úmido a 121°C com pressão de 1,1Kgf/cm².

Com relação à realização do condicionamento ácido e do condicionamento pelo laser de Er:YAG, as amostras esterilizadas em autoclave e que receberam a irradiação laser apresentaram alterações significativas nos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina. Entretanto, para as amostras tratadas com Timol, o mesmo fato não se repetiu. A avaliação da área relativa de cada pico referente ao conteúdo mineral e orgânico permitiu uma análise qualitativa e semiquantitativa dos efeitos dos métodos de manipulação dental e da irradiação com laser de Er:YAG na dentina.

Bachmann et al. (2005b), avaliaram por espectroscopia FTIR, as alterações nas bandas de colágeno na dentina aquecida e reidratada. Foi observado que o colágeno da dentina desnatura parcialmente em temperaturas = 175°C e que este reverte para a conformação original após a hidratação. Em temperaturas entre 175 e 225°C ocorre uma reversão parcial e em temperaturas maiores do que 225°C não ocorre a recuperação da área das bandas de colágeno. A perda da água por aquecimento reduz a estabilidade da estrutura causando alterações conformacionais. A quebra das ligações de hidrogênio é o principal fator responsável pela alteração na conformação do colágeno. Em menor quantidade de água, as ligações de hidrogênio que determinam a estabilidade da estrutura do colágeno são perdidas. Estas ligações podem ser recuperadas após a hidratação.

Em nosso estudo a alteração no conteúdo orgânico e inorgânico da dentina foi maior no grupo de amostras autoclavadas e irradiadas possivelmente devido ao efeito térmico e do efeito da pressão durante a esterilização por autoclave somada ao efeito térmico adicional causado pela irradiação laser. O aquecimento por autoclave e por laser pode ter produzido uma quebra de ligações nas moléculas de colágeno da dentina irradiada com as energias de

pulso maiores. Este fato pode ser observado pela maior redução nas áreas relativas das bandas analisadas.

O condicionamento ácido e a irradiação com laser de Er:YAG com 80mJ (10,2 J/cm²) foram os tratamentos mais conservadores da superfície da dentina nos dentes tratados previamente com timol. As energias de pulso de 120 (15,3 J/cm²) e 180mJ (22,9 J/cm²) alteraram significativamente os componentes da dentina. Estes resultados estão de acordo com estudos prévios, onde foi verificado que a irradiação com 180mJ e 2Hz vaporizou as fibras colágenas da dentina, resultando em baixos valores de adesividade (AOKI et al., 1998; CEBALLOS et al., 2002).

A quarta parte deste estudo apresentou a avaliação por espectroscopia FT-Raman e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos efeitos do condicionamento com laser de Er:YAG na dentina. Os resultados da análise por MEV estão de acordo com estudos prévios onde a superfície da dentina irradiada apresentou-se com aspecto irregular, túbulos dentinários parcialmente abertos e uma superfície rugosa em comparação com a superfície plana com túbulos dentinários abertos produzida pelo condicionamento ácido (MARTINEZ-INSUA et al., 2000; ODA et al., 2001; SCHEIN et al., 2003; SOUZA et al., 2004; DUNN et al., 2005; DE SOUZA-GABRIEL et al., 2006; MARRACCINI et al., 2005). Este aspecto da dentina irradiada com laser não favorece o procedimento de adesão. As fotomicrografias mostraram um aspecto favorável à adesão na dentina condicionada pelo ácido fosfórico quando comparada com a superfície irradiada. Na dentina irradiada, a dentina intertubular foi removida mais intensamente do que a dentina tubular devido ao maior conteúdo de água em sua composição. O aspecto da dentina condicionada por ácido fosfórico e por laser obtidos em nosso trabalho está de acordo com outros estudos morfológicos que utilizaram parâmetros de irradiação próximos (80 mJ, 2 Hz) (DE SOUZA-GABRIEL et al., 2006; MARRACCINI et al., 2006). Para produzir um padrão de condicionamento similar ao produzido pelo ácido

fosfórico é necessária a associação do condicionamento químico após o tratamento com laser para produzir valores de força de adesão similares ao condicionamento ácido (MARRACCINI et al., 2006).

Neste estudo os resultados obtidos por espectroscopia FT-Raman confirmam os resultados obtidos por MEV. Através da espectroscopia FT-Raman, foi observado que o conteúdo mineral da dentina foi mais alterado pelas maiores energias de pulso (120 e 180mJ, 15,3 e 22,9J/cm²). Este fato se deve ao mecanismo do laser o qual promove a ablação dos tecidos duros por micro-explosões no interior da estrutura mineral do dente (DUNN et al., 2005). O conteúdo orgânico da dentina também sofreu maiores alterações no grupo irradiado pelo laser de Er:YAG com 180mJ (22,9J/cm²) de energia de pulso, evidenciando uma possível desnaturação das proteínas por efeito térmico. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Bachmann et al. (2005), que estudaram por FTIR os efeitos da irradiação do laser de Er:YAG com fluências subablativas e em parte ablativas na composição química e estrutura do colágeno da dentina onde observaram uma diminuição na intensidade das bandas da água e da matriz orgânica evidenciando perda de água e degradação parcial do colágeno.

Os espectros Raman mostraram que o condicionamento ácido não alterou significativamente o conteúdo inorgânico e orgânico da dentina. Poucos estudos avaliaram os efeitos da irradiação com laser de Er:YAG em esmalte e dentina através da espectroscopia Raman (CARMELINGO et al., 2004; YAMADA et al., 2004). Carmelingo et al., (2004) relataram em seu estudo apenas alterações na intensidade dos espectros causadas por altas energias e frequências do laser utilizadas para preparo cavitário comparando com o tratamento tradicional com pontas diamantadas. Yamada et al., (2004) relataram em seu estudo apenas alterações na intensidade dos picos e na presença ou não da luminescência após a irradiação pelo laser de Er:YAG. Entretanto em nosso estudo, foram realizadas avaliações mais completas das alterações provocadas pela irradiação com laser de Er:YAG para

condicionamento da dentina. Esta avaliação foi realizada através da análise da área relativa dos picos referentes à matéria orgânica e inorgânica da dentina antes e após os tratamentos de superfície. Foram utilizadas energias de pulso do laser para condicionamento da dentina e o procedimento com ácido fosfórico foi aplicado como tratamento controle. Além do estudo dos efeitos do condicionamento da dentina pelo laser, foram estudados também os efeitos de dois tratamentos de manipulação dental nos componentes da dentina. Nosso estudo contribui para um melhor entendimento dos efeitos da irradiação do laser de Er:YAG na dentina humana e fornece informações importantes para o desenvolvimento de uma nova classe de materiais restauradores para o tratamento de dentes irradiados por laser.

Nos estudos realizados em dentina, dois sistemas de espectroscopia Raman diferentes foram utilizados. No primeiro, um laser de Ti:Sa ($\lambda=785\text{nm}$) foi aplicado sobre a dentina como fonte de excitação da amostra e no segundo a fonte de excitação foi um laser de Nd:YAG ($\lambda=1064\text{nm}$). Ambos os sistemas foram eficientes na análise dos efeitos do condicionamento da dentina com laser e com ácido fosfórico e dos efeitos dos métodos de manipulação dental. Entretanto, a principal limitação na utilização de um laser em comprimento de onda menor para a excitação da amostra no sistema dispersivo é a luminescência. O comprimento de onda maior utilizado no sistema de espectroscopia FT-Raman reduziu drasticamente os efeitos da luminescência da amostra.

A realização deste conjunto de estudos relacionados à área da Dentística foi motivada principalmente pela versatilidade proporcionada pela técnica de espectroscopia Raman. Além disso, buscamos evidenciar o tipo de informação que esta técnica fornece, pois na área da pesquisa em Odontologia, a espectroscopia Raman ainda é pouco conhecida. Seguindo esta motivação, a análise de espectroscopia Raman foi utilizada para realizar estudos na área de fotoativação de compósitos e de irradiação de tecidos duros por laser. São áreas que passaram

por um grande avanço nas últimas décadas, em que novos materiais e aparelhos são desenvolvidos a cada ano. Assim, a espectroscopia Raman auxilia neste desenvolvimento, propiciando uma análise em nível molecular e fornecendo informações importantes para o desenvolvimento da odontologia. Nosso estudo de fotoativação de resinas compostas mostrou a viabilidade da utilização dos LEDs de alta irradiância para fotoativação de restaurações de resina, com muitas vantagens sobre as fontes tradicionais de ativação. Os LEDs de segunda geração são uma opção segura para a fotoativação de resinas. Observamos que o modo de ativação progressivo é seguro para a aplicação clínica quando utilizado um LED de alta irradiância, pois promove uma adequada conversão dos monômeros resultando em propriedades físicas melhores e maior biocompatibilidade. Na área de preparação de amostras, mostramos que especial atenção deve ser dada para o método de descontaminação de amostras em estudos científicos, para que não ocorram alterações nos resultados finais. Apresentamos uma metodologia de preparação de amostras de dentes humanos que minimiza a interferência de variações na composição química e estrutura da dentina utilizando um mesmo elemento dental para avaliar diferentes grupos de tratamento. Esta técnica proporciona uma diminuição do número de amostras utilizadas em estudos científicos. Este é um aspecto importante a se considerar, pois a obtenção de amostras de dentes humanos para pesquisas científicas é cada vez mais difícil. A avaliação dos efeitos do condicionamento da dentina por laser de Er:YAG mostrou que a energia de pulso de 80mJ ($10,2\text{J}/\text{cm}^2$) foi o parâmetro que produziu menos alterações nos componentes da dentina. Este fato demonstra que sua aplicação clínica é segura, sem produzir danos aos componentes da dentina. Deste modo, a espectroscopia Raman se consolida como uma importante ferramenta de análise na Dentística, com múltiplas aplicações.

5. CONCLUSÕES

Este estudo apresentou a aplicação da técnica de espectroscopia Raman como uma ferramenta de análise viável para estudar o grau de conversão de resinas compostas, o efeito da irradiação do laser de Er:YAG na dentina e os efeitos de métodos de manipulação dental sobre a dentina.

Com base nos resultados concluímos que:

1. A fotoativação por LED de baixa irradiância (primeira geração) necessita de um maior tempo de irradiação para produzir um GC adequado na resina.
2. Os maiores valores do GC foram produzidos pela luz halógena e pelo LED de alta irradiância (segunda geração) no modo normal e progressivo comparando-se com o LED de baixa irradiância (primeira geração). O tipo de ponteira não influenciou no GC final produzido na resina.
3. O conteúdo mineral e orgânico da dentina foi mais alterado nos dentes autoclavados do que nos dentes armazenados em Timol. A esterilização em autoclave e as energias de pulso de 120 (15,3 J/cm²) e 180mJ (22,9J/cm²) do laser de Er:YAG alteraram o conteúdo orgânico e inorgânico da dentina, associado à uma maior redução das áreas dos picos Raman em 968, 1077, 1460 e 1670cm⁻¹.
4. As imagens obtidas por MEV mostraram que a superfície da dentina irradiada apresentou um aspecto pouco favorável para difusão dos monômeros. A energia de pulso de 180mJ (22,9J/cm²) do laser produziu alterações químicas das proteínas, do fosfato e do carbonato presentes na dentina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, U.P.; ATALLA, R.H. FT Raman Spectroscopy: What it is and what it can do for research on lignocellulosic materials. In: The 8th International Symposium On Wood And Pulping Chemistry, 1995, Helsinki, Finland. **Proceedings**. ... p. 67-72.

AIZAWA, K.; KAMEYAMA, A.; KATO, J.; AMAGAI, T.; TAKASE, Y.; KAWADA, E.; ODA, Y.; HIRAI, Y. Resin bonding to dentin irradiated by high repetition rate Er:YAG laser. **Photomed. Laser Surg.** v.24, p.397-401, 2006.

AMAECHEI, B.T.; HIGHAM, S.M.; EDGAR, W.M. The use of gamma irradiation for the sterilization of enamel for intra-oral cariogenicity tests. **J. Oral Rehab.** v.26, p.809-813, 1999.

AMARAL, C.M.; CASTRO, A.K.B.B.; PIMENTA, L.A.F.; AMBROSANO, G.B. Efeito das técnicas de inserção e ativação da resina composta sobre a microinfiltração e microdureza. **Pesqui. Odontol. Bras.** v.165, 3, p.257-262, 2002.

AMINZADEH, A.; SHAHABI, S.; WALSH, L.J. Raman spectroscopic studies of CO₂ laser-irradiated human dental enamel. **Spectrochim. Acta Part A.** v.55, p.1303-1308, 1999.

AOKI, A.; ISHIKAWA, I.; YAMANDA, T.; OTSUKI, M.; WATANABE, H.; TAGAMI, J. Comparison between Er:YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro. **J. Dent. Res.** v.77, p.1404-1414, 1998.

ARNOLD, W.H.; KONOPKA, S.; GAENGLER, P. Qualitative and quantitative assessment of intratubular dentin formation in human natural carious lesions. **Calcif. Tissue Int.** v.69, p.268-273, 2001.

ARRAIS, C.A.G.; GIANNINI, M. Morfologia e espessura da difusão da resina através da matriz de dentina desmineralizada ou sem condicionamento. **Pesqui. Odontol. Bras.** v.16, n.2, p.115-120, 2002.

ASMUSSEN, E.; PEUTZFELDT, A. Two-step curing: influence on conversion and softening of a dental polymer. **Dent. Mater.** v.19, p.466-470, 2003.

ATTRILL, D.C.; DAVIES, R.M.; KING, T.A.; DICKINSON, M.R.; BLINKHORN, A.S. Thermal effects of the Er:YAG laser on a simulated dental pulp: a quantitative evaluation of the effects of a water spray. **J. Dent.** v.32, p.35-40, 2004.

- Referências bibliográficas preparadas com base nas normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) – NBR 6023/AGO 2002.

BACHMANN, L.; DIEBOLDER, R.; HIBST, R.; ZEZZELL, D.M. Changes in chemical composition and collagen structure of dentine tissue after erbium laser irradiation. **Spectrochim. Acta A.** v.61, p.2634-2639, 2005a.

BACHMANN, L.; GOMES, A.S.L.; ZEZZELL, D.M. Collagen absorption bands in heated and rehydrated dentin. **Spectrochim. Acta A.** v.62, p.1045-1049, 2005b.

BALA, O.; OLMEZ, A.; KALAYCI, S. Effect of LED and halogen light curing on polymerization of resin-based composites. **J. Oral Rehab.** v.32, p.134-140, 2005.

BARATIERI, L.N. et al. **Odontologia Restauradora. Fundamentos e Possibilidades.** São Paulo: Santos, 2001. 739p.

BENNETT, A. W.; WATTS, D. C. Performance of two blue light-emitting-diode dental light curing units with distance and irradiation time. **Dent. Mater.** v.20, p.72-79, 2004.

BUONOCORE, MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **J. Dent. Res.** v.34, p.849-853, 1955.

CAMERLINGO, C.; LEPORÉ, M.; GAETA, G.M.; RICCIO, R.; RICCIO, C.; DE ROSA, A.; DE ROSA, M. Er:YAG laser treatments on dentine surface micro-Raman spectroscopy and SEM analysis. **J. Dent.** v.32, n.5, p.399-405, 2004.

CEBALLOS, L.; OSORIO, R.; TOLEDANO, M.; MARSHALL, G.W.; Microleakage of composite restorations after acid or Er-YAG laser cavity treatments. **Dent. Mater.** v.17, p.340-346, 2001.

CEBALLOS, L.; TOLEDANO, M.; OSORIO, R.; TAY, F.R.; MARSHALL, G.W.; Bonding to Er-YAG-laser-treated dentin. **J. Dent. Res.** v.81, n.2, p.119-122, 2002.

CENCI, M.S.; PIVA, S.E.; POTRICH, F.; FORMOLO, E.; DEMARCO, F.F.; POWERS, J.M. Microleakage in Bonded Amalgam Restorations Using Different Adhesive Materials. **Braz. Dent. J.** v.15, n.1, p.13-18, 2004.

CHEUNG, D.T.; PERELMAN, N.; TONG, D.; NIMNI, M.E. The effect of gamma irradiation on collagen molecules, isolated alpha-chains, and crosslinked native fibers. **J. Biomed. Mater. Res.**, v.24, p.581-589, 1990.

COLI, P.; ALAEDDIN, S.; WENNERBERG, A.; KARLSSON, S. In vitro dentin pretreatment: Surface roughness and adhesive shear bond strength. **Eur. J. Oral Sci.** v.107, p.400-413, 1999.

CONTI, C.; GIORGINI, E.; LANDI, L.; PUTIGNANO, A.; TOSI, G. Spectroscopic and mechanical properties of dental resin composites cured with different light sources. **J. Molec. Struc.** v.744-747, p.641-646, 2005.

CORONA, S.A.M.; BORSATTO, M.C.; PECORA, J.D.; DE SÁ ROCHA, R.A.S.; RAMOS, T.S.; PALMA-DIBB, R.G. Assessing microleakage of different class V restorations after Er:YAG laser and bur preparation. **J. Oral Rehab.** v.30, p.1008-1014, 2003.

DAVIDSON, C.L.; FEILZER, A.J. Polymerization shrinkage and polymerization shrinkage stress in polymer-based restoratives. **J. Dent.** v.25, n.6, p.435-440, 1997.

DE MUNCK, J.; VAN MEERBEEK, B.; YUDHIRA, R.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Er:YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. **Eur. J. Oral Sci.** v.110, p.322-329, 2002.

DE SANTIS, A.; BALDI, M. Photo-polymerisation of composite resins measured by micro-Raman spectroscopy. **Polymer.** v.45, p.3797-3804, 2004.

DE SOUZA-GABRIEL, A.E.; CHINELATTI, M.A.; BORSATTO, M.C.; PÉCOR, J.D.; PALMA-DIBB, R.G.; CORONA, S.A.M. Effect of Er:YAG laser irradiation distance on superficial dentin morphology. **Am. J. Dent.** v.19, p.217-221, 2006.

DEWAELE, M.; TRUFFIER-BOUTRY, D.; DEVAUX, J.; LELOUP, G. Volume contraction in photocured dental resins: The shrinkage-conversion relationship revisited. **Dent. Mater.** v.22, p.359-365, 2006.

DOMINICI, J.T.; ELEAZER, P.D.; CLARCK, S.J.; STAAT, R.H.; SCHEETZ, J.P. Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. **J. Dent. Educ.** v. 65, p.1278-1280, 2001.

DUNN, W.J.; BUSH, A.C. A comparison of polymerization by light-emitting diode and halogen-based light-curing units. **J. Am. Dent. Assoc.** v.133, p.335-341, 2002.

DUNN, W.J.; DAVIS, J.T.; BUSH, D.A. Shear bond strength and SEM evaluation of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin and enamel. **Dent. Mater.** v.21, p.616-624, 2005.

ENAMI, N.; SODERHOLM, K-J.M. How light irradiance and curing time affect monomer conversion in light-cured resin composites. **Eur. J. Oral Sci.** v.111, p.536-542, 2003.

FELIX, C.A.; PRICE, R.B.T.; ANDREOU, P. Effect of reduced exposure times on the microhardness of 10 resin composites cured by high-power led and QTH curing lights. **J. Can. Dent. Assoc.** v.72, p.147-147f, 2006.

FERRACANE, J.L.; MITCHEM, J.C.; CONDOM, J.R.; TODD, R. Wear and marginal breakdown of composites with various degrees of cure. **J. Dent. Res.** v.76, p.1508-1516, 1997.

GONÇALVES, M., CORONA, S.A.M., BORSATO, M.C., SILVA, P.C.G., PÉCORA, J.D. Tensile bond strength of dentin-resinous system interfaces conditioned with Er:YAG laser irradiation. **J. Clin. Laser Med. Surg.** v.20, n.3, p.89-93, 2002.

HANLON, E.B.; MANOHARAN, R.; KOO, T.W.; SHAFER, K.E.; MOTZ, J.T.; FITZMAURICE, M.; KRAMER, J.R.; ITZKAN, I.; DASARI, R.R., FELD, M.S. Prospects for in vivo Raman spectroscopy. **Phys. Med. Biol.** v.45, n.2, p.R1-R59, 2000.

HOSSAIN, M., NAKAMURA, Y., KIMURA, Y., YAMADA, Y., KAWANAKA, T., MATSUMOTO, K. Effect of Pulsed Nd:YAG laser Irradiation on Acid Demineralization of Enamel and Dentin. **J. Clin. Laser Med. Surg.** v.19, n.2, p.105-108, 2001.

HSU, C.-Y.S.; JORDAN, T.H.; DEDERICH, D.N.; WEFEL, J.S. Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. **J. Dent. Res.** v.79, p.1725-1730, 2000.

HSU, C.-Y.S.; JORDAN, T.H.; DEDERICH, D.N.; WEFEL, J.S. Laser-matrix-fluoride effects on enamel demineralization. **J. Dent. Res.** v.80, p.1797-1801, 2001.

IMAZATO, S.; MCCABE, J.F.; TARUMI, H.; EHARA, A.; EBISU, S. Degree of conversion measured by DTA and FTIR. **Dent. Mater.** v.17, p.178-183, 2001.

JACQUES, P.; HEBLING, J. Influência da esterilização de dentes humanos em autoclave sobre a resistência de união resina/dentina. **Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.** v.6, p.09-13, 2006.

JANDT, K.D.; MILLS, R.W.; BLACKWELL, G.B.; ASHWORTH, S.H. Depth of cure and compressive strength of dental composites cured with blue light emitting diodes (LEDs) **Dent. Mater.** v.16, p.41-47, 2000.

KAKABOURA, A.; RAHIOTIS, C.; ZINELIS, S.; AL-DHAMADI, Y.A.; SILIKAS, N.; WATTS, D.C. In vitro characterization of two laboratory-processed resin composites. **Dent. Mater.** v.19, p.393-398, 2003.

KAMEYAMA, A.; KAWADA, E.; AMAGAI, T.; TAKIZAWA, M.; ODA, Y.; HIRAI, Y. Effect of HEMA on bonding of Er:YAG laser-irradiated bovine dentine and 4-META/MMA-TBB resin. **J. Oral Rehab.** V.29, p.749-755, 2002.

KELLER, U.; HIBST, R. Ultrastructural changes of enamel and dentin following Er-YAG laser radiation on teeth. **Proc. SPIE** 1200, p. 408-415, 1990.

KNEZEVIC, A.; TARLE, Z.; MENIGA, A.; SUTALO, J.; PICHLER, G. Degree of conversión and temperature rise during polymerization of composite resin samples with blue diodes. **J. Oral Rehab.** v.28, p.586-591, 2001.

KO, A.C.-T.; CHOO-SMITH, L.-P.; HEWKO, M.; LEONARDI, L.; SOWA, M.G.; DONG, C.C.S.; WILLIAMS, P.; CLEGHORN, B. Ex vivo detection and characterization of early dental caries by optical coherence tomography and Raman spectroscopy. **J. Biomed. Opt.** v.10, n.3, p.1-16, 2005.

KURACHI, C.; TUBOY, A.M.; MAGALHÃES, D.V.; BAGNATO, V.S. Hardness evaluation of a dental composite polymerized with experimental LED-based devices. **Dent. Mater.** v.17, p.309-315, 2001.

KWON T.Y., FUJISHIMA T., IMAI Y., FT-Raman spectroscopy of calcium hydroxide medicament in root canals. **Int. Endod. J.** v.37, n.7, p.489-493, 2004.

LEMOR, R., KRUGER, M.B., WIELICZKA, SPENCER, P., MAY, T. Dentin etch chemistry investigated by Raman and infrared spectroscopy. **J. Raman Spec.** v.31, p.171-176, 2000.

LEUNG, Y.; MORRIS, M.D. Characterization of the chemical interactions between 4-MET and enamel by Raman spectroscopy. **Dent. Mater.** v.11, p.191-195, 1995.

LOHBAUER, U.; RAHIOTIS, C.; KRAMER, N.; PETSCHERT, A.; ELIADES, G. The effect of different light-curing units on fatigue behavior and degree of conversion of a resin composite. **Dent. Mater.** v.21, p.608-615, 2005.

LOPES, L.G. **Avaliação da contração de polimerização e das tensões promovidas em função de diferentes sistemas de polimerização e de materiais restauradores estéticos.** 2003. 134p. Tese (Doutorado em Odontologia área Dentística) – Universidade de São Paulo, 2003.

LOVELL, L.G.; LU, H.; ELLIOTT, J.E.; STANSBURY, J.W.; BOWMAN, C.N. The effect of cure rate on the mechanical properties of dental resins. **Dent. Mater.** v.17, p.504-511, 2001.

MACARI, S., GONÇALVES, M., NONAKA, T., SANTOS, J.M. Scanning electron microscopy evaluation of the interface of three adhesive systems. **Braz. Dent. J.** v.13, n.1, p.33-38, 2002.

MAHONEY, E.K.; ROHANIZADEH, R.; ISMAIL, F.S.M.; KILPATRICK, N.M.; SWAIN, M.V. Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. **Biomaterials.** v.25, p.5091-5100, 2004.

MARRACCINI, T.M.; BACHMANN, L.; WIGDOR, H.A.; WALSH, J.T.; TURBINO, M.L.; STABHOLTZ, A.; ZECELL, D.M. Morphological evaluation of enamel and dentin irradiated with 9.6 μm CO₂ and 2.94 μm Er:YAG lasers. **Laser Phys. Lett.** v.2, p.551-555, 2005.

MARRACCINI, T.M.; BACHMANN, L.; WIGDOR, H.A.; WALSH, J.T.; TURBINO, M.L.; STABHOLTZ, A.; ZECELL, D.M. Enamel and dentin irradiation with 9.6 μm CO₂ and 2.94 μm Er:YAG lasers: bond strength evaluation. **Laser Phys. Lett.** v.3, p.96-101, 2006.

MARSHALL, S.J.; BALOOCH, M.; HAEBELITZ, S.; BALOOCH, G.; GALLAGHER, R.; MARSHALL, G.W. The dentin-enamel junction – a natural, multilevel interface. **J. Eur. Cer. Soc.** v.23, p.2897-2904, 2003.

MARTINEZ-INSUA, A.; DOMINGUEZ, L.D.; RIVERA, F.G.; SANTANA-PENIN, U.A. Differences in bonding to acid-etched or Er:YAG-laser-treated enamel and dentin surfaces. **J. Prosthet. Dent.** v.84, p.280-288, 2000.

MARTINELLI, J.; PIRES-DE-SOUZA, F.C.P.; CASEMIRO, L.A.; TIRAPELLI, C.; PANZERI, H. Abrasion resistance of composites polymerized by light-emitting diodes (LED) and halogen light-curing units. **Braz Dent J.** v.17, p.29-33, 2006.

MATOS, A.B., PALMA, R.G., SARACENI, C.H.C., MATSON, E. Effects of acid etching on dentin surface: SEM morphological study. **Braz. Dent. J.** v.8, n.1, p.35-41, 1997.

MILLS, R. W.; UHL, A.; BLACKWELL, G. B.; JANDT, K. D. High power light emitting diode (LED) arrays versus halogen light polymerization of oral biomaterials: Barcol hardness, compressive strength and radiometric properties. **Biomaterials.** v.23, p.2955-2963, 2002.

MIYAZAKI, M.; ONOSE, H.; MOORE B.K. Analysis of the dentin-resin interface by use of laser Raman spectroscopy. **Dent. Mater.** v.18, p.576-580, 2002.

MIYAZAKI, M.; SATO, H.; ONOSE, H.; MOORE. B.K., PLATT. J.A., Analysis of the enamel/adhesive resin interface with laser Raman microscopy. **Oper. Dent.** v.28, n.2, p.136-142, 2003.

NAKABAYASHI, N.; PASHLEY, D.H. **Hibridização dos tecidos dentais duros.** São Paulo: Quintessence, 2000. 129p.

NALLA, R.K.; BALOOCH, M.; AGER III, J.W.; KRUZIC, J.J.; KINNEY, J.H.; RITCHIE, R.O. Effects of polar solvents on the fracture resistance of dentin: role of water hydration. **Acta Biomater.** v.1, p.31-43, 2005.

NITTA, K. Effect of light guide tip diameter of LED-light curing unit on polymerization of light-cured composites. **Dent. Mater.** v.21, p. 217-223, 2005.

ODA, M., OLIVEIRA, D.C., LIBERTI, E.A. Avaliação morfológica da união entre adesivo/resina composta e dentina irradiada com laser Er:YAG e laser Nd:YAG: estudo comparativo por microscopia eletrônica de varredura. **Pesqui. Odontol. Bras.** v.18, n.4, p.283-289, 2001.

OLIVEIRA, S.S.A.; PUGACH, M.K., HILTON, J.F., WATANABE, L.G., MARSHALL, S.J., MARSHALL JR, G.W. The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system. **Dent. Mater.** v.19, p.758-767, 2003.

PANTERA, E.A.; SHUSTER, G.S. Sterilization of extracted human teeth. **J Dent Educ.** v.54, p.283-285, 1990.

PAPPAS, D.; SMITH, B.W.; WINEFORDNER, J.D. Raman spectroscopy in bioanalysis. **Talanta.** v.51, n.1, p.131-144, 2000.

PENEL, G.; LEROY, G.; REY, C.; BRES, E. MicroRaman spectral study of the PO₄ and CO₃ vibrational modes in synthetic and biological apatites. **Calcif. Tissue Int.** v.63, p.475-481, 1998.

PEUTZFELDT, A.; ASMUSSEN, E. Resin composite properties and energy density of light cure. **J. Dent. Res.** v.84, p.659-662, 2005.

PRICE, R.B.T.; FELIX, C.A.; ANDREOU, P. Evaluation of a second-generation LED curing light. **J. Can. Dent. Assoc.** v.69, p.666-666i, 2003.

PRICE, R.B.; FELIX, C.A.; ANDREOU, P. Third-generation vs a second-generation LED curing light: effect on Knoop microhardness. **Compend. Contin. Educ. Dent.** v.27, n.9, p.490-496, 2006.

ROSALES, J.I.; MARSHALL, G.W.; MARSAHLL, S.J.; WATANABE, L.G.; TOLEDANO, M.; CABRERIZO, M.A.; OSORIO, R. Acid-etching and hydration influence on dentin roughness and wettability. **J. Dent. Res.** v.78, n.9, p.1554-1559, 1999.

SAKAGUCHI, R.L.; BERGE, H.X. Reduced light energy density decreases post-gel contraction while maintaining degree of conversion in composites. **J. Dent.** v.26, p.695-700, 1998.

SALA, O. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no infravermelho.** São Paulo: Unesp, 1995.

SATO, M.; MIYAZAKI, M. Comparison of depth of dentin etching and resin infiltration with single-step adhesive systems. **J. Dent.** v.33, p.475-484, 2005.

SCHEIN, M.T.; BOCANGEL, J.S.; NOGUEIRA, G.E.C; SCHEIN, P.A.L. SEM evaluation of the interaction pattern between dentin and resin after cavity preparation using Er:YAG laser. **J. Dent.**, v. 31, p. 127–135, 2003.

SCHULZE, K.A., BALOOCH, M., BALOOCH, G.; MARSHALL, G.W.; MARSHALL, S.J. Micro-Raman spectroscopic investigation of dental calcified tissues. **J. Biomed. Mater. Res. Part A.** v.69A, p.286-293, 2004.

SHIN, SW. et al. Determination of the degree of cure of dental resins using Raman and FT-Raman spectroscopy. **Dent. Mater.** v.9, p.317-324, 1993.

SILIKAS, N.; ELIADES, G.; WATTS, D.C. Light intensity effects on resin-composite degree of conversion and shrinkage strain. **Dent. Mater.**, v.16, p.292-296, 2000.

SOARES, L.E.S. **Espectroscopia Raman no Infravermelho Próximo (IVP) e Microdureza Vickers no Estudo do Grau de Conversão de Resinas Compostas Polimerizadas com Laser de Argônio e Lâmpada Halógena.** 2002. 87f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, 2002.

SOARES, L.E.S; MARTIN, A.A.; PINHEIRO, A.L.B. Degree of conversion of composite resin: A Raman study. **J. Clin. Laser Med. Surg.** v.21, n.6, p. 357-362, 2003.

SOARES, L.E.S.; MARTIN, A.A.; PINHEIRO, A.L.B.; PACHECO, M.T.T. Vicker's hardness and Raman spectroscopy evaluation of a dental composite cured by an argon laser and a halogen lamp. **J. Biomed. Opt.** v.9, p.601-608, 2004.

SOARES, L.E.S.; ROCHA, R.; MARTIN, A.A.; ZAMPIERI, M. Monomer conversion of composite dental resins photoactivated by a halogen lamp and a LED: a FT-Raman spectroscopy study. **Quim. Nova.** v.28, p.229-232, 2005.

SOUZA, A.E.; CORONA, S.A.M.; DIBB, R.G.P.; BORSATTO, M.C.; AND PÉCORÁ, J.D. Influence of Er:YAG laser on tensile bond strength of a self-etching system and a flowable resin in different dentin depths. **J. Dent.**, v.32, p.269-275, 2004.

SOUZA, A.E.; AMARAL, F.L.B.; PÉCORÁ, J.D.; DIBB, R.G.P.; CORONA, S.A.M. Shear bond strength of resin-modified glass ionomer cements to Er:YAG laser-treated tooth structure. **Oper. Dent.** v.31, p.212-218, 2006.

SPERANDIO, M.; SOUZA, J.B.; OLIVEIRA, D.T. Effect of gamma radiation on dentin bond strength and morphology. **Braz. Dent J.**, v.12, p. 205-208, 2001.

SPENCER, P.; WANG, Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. **J. Biomed. Mater. Res.**, v.62, p.447-456, 2002.

STAHL, F.; ASHWORTH, S.H.; KLAUS, D.J.; MILLS, R.W. Light-emitting diode (LED) polymerization of dental composites: flexural properties and polymerization potential. **Biomaterials.** v.21, p.1379-1385, 2000.

STANSBURY, J.W.; DICKENS, S.H. Determination of double bond conversion in dental resins by near infrared spectroscopy. **Dent. Mater.** v.17, p.71-79, 2001.

STANSBURY, J.W.; TRUJILLO-LEMON, M.; LU, H.; DING, X.; LIN, Y.; GE, J. Conversion-dependent shrinkage stress and strain in dental resins and composites. **Dent. Mater.** v.21, p. 56-67, 2005.

STEINER-OLIVEIRA, C.; RODRIGUES, L.K.A., SOARES, L.E.S.; MARTIN, A.A.; ZECELL, D.M.; NOBRE-DOS-SANTOS, M. Chemical, morphological and thermal effects of 10.6- μm CO₂ laser on the inhibition of enamel demineralization. **Dent. Mater. J.** v.25, n.3, p.455-462, 2006.

SUZUKI, M.; KATO, H.; WAKUMOTO, S. Vibrational Analysis by Raman spectroscopy of the interface between dental adhesive resin and dentin. **J. Dent. Res.** v.70, p.1092-1097, 1991.

TARLE, Z.; MENIGA, A.; KNEZEVIC., A.; SUTALO, J.; RISTIC, M. Composite conversion and temperature rise using a conventional, plasma arc, and an experimental blue LED curing unit. **J. Oral Rehab.** v. 29, p. 662-667, 2002.

TRAMINI, P.; BONNET, B.; SABATIER, R.; MAURY, L. A method of age estimation using Raman microspectrometry imaging of the human dentin. **Forensic Sci. Int.** v.118, p.1-9, 2001.

TSUDA, H.; RUBEN, J.; ARENDS, J. Raman spectra of human dentin mineral. **Eur. J. Oral Sci.**; v.104, p.123-131, 1996.

UHL, A.; MICHAELIS, C.; MILLS, R.B.; JANDT, K.D. The influence of storage and indenter load on the knoop hardness of dental composites polymerized with LED and halogen technologies. **Dent. Mater.** v.20, p.21-28, 2004.

VANDEWALLE, K.S.; FERRACANE, J.L.; HILTON, T.J.; ERICKSON, R.L.; SAKAGUCHI, R.L. Effect of energy density on properties and marginal integrity of posterior resin composite restorations. **Dent. Mater.** v.20, p.96-106, 2004.

VANMEERBEEK, B. et al. Chemical characterization of the resin-dentin interface by micro-Raman spectroscopy. **J. Dent. Res.** v.72, n.10, p.1423-1428, 1993.

VISURI, S.R., GILBERT, J.L., WRIGHT, D.D., WIDGOR, H.A., WALSH, J.T. Jr. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin. **J. Dent. Res.** v.74, p.599-605, 1996.

XU, J.; STANGEL, I.; BUTLER, I.S.; GILSON, D.F.R. An FT-Raman spectroscopic investigation of dentin and collagen surfaces modified by 2-Hydroxyethylmethacrylate. **J. Dent. Res.** v.76, p.596-601, 1997.

XUE G. Fourier Transform Raman Spectroscopy and its Application for the analysis of polymeric materials. **Prog. Polym. Sci.**, v.22, p.313-406, 1997.

YAMADA, M.K.; UO, M.; OHKAWA, S.; AKASAKA, T.; WATARI, F. Three-dimensional topographic scanning electron microscope and Raman spectroscopic analyses of the irradiation effect on teeth by Nd : YAG, Er : YAG, and CO2 lasers. **J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl Biomater.**, v.71B, p.7-15, 2004.

YOON, T.H.; LEE, Y.K.; LIM, B.S.; KIM, C.W. Degree of polymerization of resin composites by different light sources. **J. Oral Rehab.** v. 29, p. 1165-1173, 2002.

ZANCHI, C.H.; CARVALHO, R.V.; RODRIGUES JUNIOR, S.A.; DEMARCO, F.F.; BURNETT JÚNIOR, L.H. Shrinkage stress of three composites under different polymerization methods. **Braz. Oral Res.**, v.20, n.2, p.137-142, 2006.

WANG, Y.; SPENCER, P. Physicochemical interactions at the interfaces between self-etch adhesive systems and dentine. **J. Dent.**, v.32, p.567-579, 2004.

WHITE, R.R.; HAYS, G.L. Failure of ethylene oxide to sterilize extracted human teeth. **Dent. Mater.** v.11, p.231-233, 1995.

WHITE, J.M.; GOODIS, H.E.; MARSHALL, S.J.; MARSHALL, G.W. Sterilization of teeth by gamma radiation. **J. Dent. Res.** v.73, p.1560-1567, 1994.

WITZEL, M.F.; CALHEIROS, F.C.; GONÇALVES, F.; KAWANO, Y.; BRAGA, R.R. Influence of photoactivation method on conversion, mechanical properties, degradation in ethanol and contraction stress of resin-based materials. **J. Dent.** ,v.33, p.773-779, 2005.

APÊNDICE A – Degree of conversion of composite resin: A Raman study

SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., PINHEIRO, A.L.B. Journal of clinical Laser Medicine & Surgery, Mary Ann Liebert, v.21, n.6, 2003. p.357-362.

APÊNDICE B – Vickers hardness and Raman spectroscopy evaluation of a dental composite cured by argon laser and a halogen lamp

SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., PINHEIRO, A.L.B., PACHECO, M.T.T. Journal of Biomedical Optics, v.9, n.3, p.601-608, May-June 2004.

APÊNDICE C – Molecular analysis of Er:YAG laser irradiation on dentin

SOARES, L.E.S., BRUGNERA JUNIOR, A., ZANIN, F., PACHECO, M.T.T., MARTIN,
A.A. Braz Dent J, v.17, n.1, p. 15-19, 2006.

APÊNDICE D – Chemical, morphological and thermal effects of 10.6-mm CO₂ laser on the inhibition of enamel demineralization

STEINER-OLIVEIRA, C., RODRIGUES, L.K.A., SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., ZECELL, D.M., NOBRE-DOS-SANTOS, M. Dental Material Journal, v.25, n.3, p.455-462, 2006.

APÊNDICE E – Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralized primary enamel: an *in vitro* study

TAGLIAFERRO, E.P.S., RODRIGUES, L.K.A., DOS SANTOS, M.N., SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A. Caries Research-470. Short communication. v.41, n.1, p.74-76, 2007.

APÊNDICE F – Influence of fiber-post translucency on the degree of conversion of a dual-cured resin cement

SILVA, A.L.F.E., ARIAS, V.G., SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., MARTINS, L.R.M.

Journal of Endodontics, v.33, n.3, p.303-305, MAR, 2007.

APÊNDICE G – Influence of coffee on reflectance and chemistry of composite resin protected by surface sealant

SOARES, L.E.S., CESAR, I.C.R., SANTOS, C.G.C., CARDOSO, A.L.M.O., LIPORONI, P.C.S., MUNIN, E., MARTIN, A.A. American Journal of Dentistry, (aceito em dez. 2006).

**APÊNDICE H – Degree of cure of composite resins polymerized by light emitting diode:
an FT-Raman study**

SOARES, L.E.S., ROCHA, R., MARTIN, A.A., PINHEIRO, A.L.B., NASCIMENTO, P.M.,
ZAMPIERI, M., MUNIN, E. Laser in Dentistry IX, Proceedings of SPIE, v.4950, 2003.

APÊNDICE I – Degree of conversion in dental resins polymerized by Argon laser, halogen lamp and LED: a Raman study

SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., PINHEIRO, A.L.B. Laser in dentistry IX, Proceedings of SPIE, v.4950, p.229-234, 2003.

APÊNDICE J – Study of the degree of photoactivation of the Z250 resin by photoacoustics

SOARES, L.E.S., ROCHA, R., BARJA, P., DOS-REIS, E.C.C., MARTIN, A.A., VILLAVERDE, B., SILVA, M.D., ACOSTA-AVALOS, D. Laser in Dentistry IX, Proceedings of SPIE, v.4950, p.224-228, 2003.

APÊNDICE K – Raman study of human dentin irradiated with Er:YAG laser.

SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., BRUGNERA-JUNIOR, A., ZANIN, F., ARISAWA, E.A.A., PACHECO, M.T.T. Laser Florence, Proceedings of SPIE, v.5610, p.249-257, 2004.

APÊNDICE L – Er:YAG laser irradiation of human dentin: Raman study of collagen.

SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., BRUGNERA-JUNIOR, A., ZANIN, F., PACHECO, M.T.T. Laser in Dentistry IX, Proceedings of SPIE, v.5313, p.138-144, 2003.

APÊNDICE M – Fourier transform Raman spectroscopy study of human dentin irradiated with Er:YAG laser.

SOARES, L.E.S.; BRUGNERA-JUNIOR, A.; ZANIN, F.; MARTIN, A.A. Laser in dentistry XI, proceedings of SPIE, v. 5687, p.157-162, 2005.

APÊNDICE N – Assessment of enamel chemistry composition and its relationship with caries susceptibility

RODRIGUES, L.K.A., SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., BRUGNERA-JUNIOR, A., ZANIN, F., NOBRE-DOS-SANTOS, M. Laser in dentistry XI, proceedings of SPIE, v. 5687, p.132-139, 2005.

APÊNDICE O – Effects of the CO₂ laser combined with fluoridated toothpaste on human dental enamel demineralization

RODRIGUES, L.K.A., VIDIGAL, E.A., SOARES, L.E.S., MARTIN, A.A., BRUGNERA-JUNIOR, A., ZANIN, F., NOBRE-DOS-SANTOS, M. Laser in Dentistry, XII. Proceedings of SPIE, v.6137, p.61370Q1 - 61370Q6, 2006.

APÊNDICE P - OUTROS TRABALHOS

9º Congresso Internacional de Laser em Odontologia - ISLD.

Luís Eduardo S. Soares, Airton A. Martin, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Emília Ângela Arisawa, Marcos T. T. Pacheco. Raman study of human dentin irradiated with Er:YAG laser. **Brazilian Dental Journal**, Vol. 15 (Special Issue): SI-01-SI-136, P90, p. 126, 2004.

Luís Eduardo S. Soares, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Antonio Luiz Barbosa Pinheiro, Airton A. Martin. Degree of conversion in dental resins polymerized by Argon laser, halogen lamp and LED: a Raman study. **Brazilian Dental Journal**, Vol. 15 (Special Issue): SI-01-SI-136, P90, p. 126, 2004.

Lidiany Karla A. Rodrigues, *Luís Eduardo S. Soares*, Airton A. Martin, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Marines Nobre dos Santos. Role of enamel components in dental susceptibility to caries development: a FT-Raman analysis. **Brazilian Dental Journal**, Vol. 15 (Special Issue): SI-01-SI-136, P90, p. 126, 2004.

Lidiany Karla A. Rodrigues, Evelyn Alves Vidigal, *Luís Eduardo S. Soares*, Airton A. Martin, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Marines Nobre dos Santos. Effects of the CO2 laser combined with fluoridated tooth paste on human enamel. **Brazilian Dental Journal**, Vol. 15 (Special Issue): SI-01-SI-136, P90, p. 126, 2004.

21ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, SBPqO.

Luís Eduardo S. Soares, Airton A. Martin, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Emília Ângela Arisawa, Marcos T. T. Pacheco. Influência do método de esterilização dental e do condicionamento térmico com laser de Er:YAG na dentina humana. **Brazilian Oral Research**, Vol. 18 (Supplement), September, 2004.

Lidiany Karla A. Rodrigues, *Luís Eduardo S. Soares*, Airton A. Martin, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Marines Nobre dos Santos. Avaliação da composição química do esmalte e sua relação com a susceptibilidade à cárie. **Brazilian Oral Research**, Vol. 18 (Supplement), September, 2004.

Tagliaferro, E. P., Lidiany Karla A. Rodrigues, *Luís Eduardo S. Soares*, Airton A. Martin, Marines Nobre dos Santos. Efeitos da associação de laser de CO2 e flúor fosfato acidulado no esmalte dental decíduo cariado. **Brazilian Oral Research**, Vol. 18 (Supplement), September, 2004.

VIII Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica e IV Encontro Latino-Americano de Pós Graduação.

Anderson de Oliveira Lobo, Tatiana S. da S. C. Guimarães, Renata M. de Carvalho, *Luís Eduardo S. Soares*, Evaldo Corat, Airton A. Martin. Estudo dos componentes da dentina humana por diferentes sistemas de espectroscopia Raman. **INIC - EPG 2004.**

IX Encontro de Iniciação Científica e V Mostra de Pós Graduação/UNITAU.

Anderson de Oliveira Lobo, Tatiana S. da S. C. Guimarães, Renata M. de Carvalho, *Luís Eduardo S. Soares*, Airton A. Martin. Estudo dos componentes da dentina humana espectroscopia Raman dispersiva. **IX Encontro de Iniciação Científica e V Mostra de Pós Graduação/UNITAU 2004.**

WALT 2004, 5th Congress of the World Association for Laser Therapy.

Luís Eduardo S. Soares, Airton A. Martin, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Fátima Zanin. A Raman spectroscopy investigation of dentin component modified by teeth sterilization method and Er:YAG laser irradiation. **Photomedicine and Laser Surgery**, Vol. 23, n° 1, 2005.

Luís Eduardo S. Soares, Airton A. Martin, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Fátima Zanin. Influence of the teeth sterilization method in the organic and inorganic dentin component: a Raman spectroscopy study. **Photomedicine and Laser Surgery**, Vol. 23, n° 1, 2005.

Lidiany Karla A. Rodrigues, Evelyn Alves Vidigal, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, *Luís Eduardo S. Soares*, Marines Nobre dos Santos. Effects of the CO2 laser combined with fluoridated toothpaste on human enamel. **Photomedicine and Laser Surgery**, Vol. 23, n° 1, 2005.

Lidiany Karla A. Rodrigues, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin, Airton A. Martin, *Luís Eduardo S. Soares*, Marines Nobre dos Santos. Assessment of enamel chemistry composition and its relationship with caries development. **Photomedicine and Laser Surgery**, Vol. 23, n° 1, 2005.

3° Congresso de Saúde e Qualidade de Vida do Cone Leste Paulista.

Luís Eduardo S. Soares, Airton A. Martin, Aldo Brugnera Junior, Fátima Zanin. Influência do método de esterilização dental nos componentes orgânico e inorgânico da dentina: um estudo por espectroscopia Raman. **3° Congresso de Saúde e Qualidade de Vida do Cone Leste Paulista**, Qualivitaes 2005, 2005.

Ana Luiza M. de Oliveira Cardoso, Carla Gabriela C. Santos, *Luís Eduardo S. Soares*, Priscila C. S. Liporoni, Airton A. Martin. Análise por espectroscopia FT-Raman da matriz orgânica de uma resina composta fotoativada com LED e luz halógena. **3° Congresso de Saúde e Qualidade de Vida do Cone Leste Paulista**, Qualivitaes 2005, 2005.

Carla Gabriela C. Santos, Ana Luiza M. de Oliveira Cardoso, *Luís Eduardo S. Soares*, Priscila C. S. Liporoni, Ilene C. R. César, Egberto Munin. Análise por Fotorrefletância do manchamento de uma resina composta fotoativada com LED e luz halógena. **3° Congresso de Saúde e Qualidade de Vida do Cone Leste Paulista**, Qualivitaes 2005, 2005.

22° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, SBPqO.

Luís Eduardo S. Soares, Ilene C. R. Cesar, Ana Luiza M. de Oliveira Cardoso, Carla Gabriela C. Santos, Priscila C. S. Liporoni, Egberto Munin, Airton A. Martin. Avaliação por

espectroscopia FT-Raman e fotorreflectância do manchamento de uma resina composta. **Brazilian Oral Research**, Vol. 18 (Supplement), September, 2005.

23° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, SBPqO.

SOARES, L.E.S.; LIPORONI, P.C.S.; MARTIN, A.A. Estudo do efeito da fotoativação progressiva por LEDs de segunda geração no grau de conversão de uma resina composta. **Brazilian Oral Research**, Vol. 20 (Supplement), p.302, September, 2006.

PORTO, I.C.C.M.; SOARES, L.E.S.; MARTIN, A.A.; LIPORONI, P.C.S. Espectroscopia FT-Raman no estudo do grau de conversão de resinas compostas com diferentes fotoiniciadores. **Brazilian Oral Research**, Vol. 20 (Supplement), p. 240, September, 2006.

CESAR, I.C.R.; ALVES, G.L.; SOARES, L.E.S.; MUNIN, E.; LIPORONI, P.C.S. Análise por fotorreflectância da coloração do esmalte submetido ao clareamento dental com peróxido de hidrogênio 35%. **Brazilian Oral Research**, Vol. 20 (Supplement), p. 300, September, 2006.

STEINER-OLIVEIRA, C.; RODRIGUES, L.K.A.; SOARES, L.E.S.; MARTIN, A.A.; ZECELL, D.M.; NOBRE-DOS-SANTOS, M. Chemical, morphological and thermal effects of 10.6um CO2 laser and fluoride on the reduction of enamel demineralization. **Brazilian Oral Research**, Vol. 20 (Supplement), p.20, September, 2006.

CAVALLI, V.; RODRIGUES, L.K.A.; PAES-LEME, A.F.; SOARES, L.E.S.; MARTIN, A.A.; BRANCALION, M.L.; ARRUDA, MA.Z.; GIANNINI, M. Chemical and mineral evaluation on sound and early caries enamel submitted to different bleaching treatments. **Brazilian Oral Research**, Vol. 20 (Supplement), p.20, September, 2006.

WALT 2006, 6th Congress of the World Association for Laser Therapy.

BRUGNERA JUNIOR, A., SOARES, L.E.S., ZANIN, F., RESENDE, E.B.P.S., JARA, W.A.A., MARTIN, A. A. Chemical and morphological studies of Er:YAG laser irradiation on dentin. **Photomedicine and Laser Surgery**, Vol. 23, n° 1, 2006.

ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP****CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo n.º L102/2003/CEP, sobre "*Estudo do colágeno da dentina por técnicas de microanálise*", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Airton A. Martin, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, conforme Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 24 de novembro de 2003

PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da Univap

ANEXO B – Carta de aceite do Operative Dentistry Journal

**Operative
Dentistry**



Editor

Michael A Cochran

**Editorial Assistant/
Subscription Manager**
Joan Matis

Editorial Associate
Karen E Wilczewski

Associate Editors
Bruce A Matis
Richard B McCoy
Edward J DeSchepper

Managing Editor
Timothy J Carlson

**Assistant Managing
Editors**

Joel M Wagoner
Robert C. Keene
Bert A. Smulders

Editorial Board
As listed at
[http://www.iopdent.org/journal/
editorial_board.htm](http://www.iopdent.org/journal/editorial_board.htm)

October 26, 2006

Dr. Luis Eduardo Silva Soares
Cirurgião Dentista
Especialista em Dentística
Mestre em Engenharia Biomédica
Doutorando em Engenharia Biomédica
Professor da Disciplina de Dentística
Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP.

Dear Dr Soares,

Your manuscript, entitled "Effect of the soft-start polymerization by the second generation LEDs on the degree of conversion of resin composite", has been accepted for publication. Your manuscript is scheduled for publication in 32-2 (March/April 2007.)

Sincerely

Michael A Cochran
Editor
Operative Dentistry

**Indiana University
School of Dentistry**
Room S411
1121 W. Michigan Street
Indianapolis, IN 46202-5186
USA

Ph (317) 278-4800
Fax (317) 278-4900
Email: editor@iopdent.org
Subscription Fax:
(317) 882-3162

ANEXO C – Carta de aceite do Photomedicine and Laser Surgery Journal

Photomedicine and Laser Surgery

Editor-in-Chief
Raymond J. Lanzafame, MD, MBA, FACS
 Director, Laser Center
 Rochester General Hospital
 1425 Portland Avenue
 Rochester, NY 14621
 Tel: (585) 922-4505
 Fax: (585) 544-8761
 E-mail: ray.lanzafame@viahealth.org

Co-Editor-in-Chief
Chukuka S. Enwemeka, PhD, FACSM
 Professor and Dean
 School of Health Professions
 Behavioral and Life Sciences
 New York Institute of Technology
 Box 8000
 Northern Boulevard
 Old Westbury, NY 11568
 Tel: (516) 686-3939
 Fax: (516) 686-3854
 E-mail: enwemeka@nyit.edu

Managing Editor
Anne H. Coulter, PhD
 2655 SW Ravensview Drive
 Portland, OR 97201
 Tel: (503) 274-0708
 Fax: (503) 274-1967
 E-mail: ancoult@comcast.net

19 October 2006


Dear Dr. Soares,

We thank you for submission of your paper, "Effects of the treatment for manipulation of teeth and Er:YAG laser irradiation on dentin: a Raman Spectroscopy Analysis". I am pleased to inform you that it will be published in the April 2007 issue of Photomedicine and Laser Surgery.

Photomedicine and Laser Surgery is a peer-reviewed journal indexed in MEDLINE, Current Contents/Clinical Medicine, and other major indexing services worldwide. The peer-review process entails careful external assessment by expert reviewers, including our editorial board, which is international in scope.

Thank you for your submission.

Sincerely,


 Anne Henderson Coulter, Ph.D.,
 Managing Editor
 Photomedicine and Laser Surgery