

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Odontologia**  
**Programa de Pós-Graduação em Odontologia**



Dissertação

**Efeito de nanopartículas de sílica funcionalizadas com fosfato na formulação  
de sistemas adesivos**

**Carine Tais Welter Meereis**

Pelotas, 2015

**Carine Tais Welter Meereis**

**Efeito de nanopartículas de sílica funcionalizadas com fosfato na formulação  
de sistemas adesivos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia (área de concentração: Dentística).

Orientador: Fabrício Aulo Ogliari

Co-orientador: Fabrício Mezzomo Collares

Pelotas, 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

M495e Meereis, Carine Tais Welter

Efeito de nanopartículas de sílica funcionalizadas com fosfato na formulação de sistemas adesivos / Carine Tais Welter Meereis ; Fabrício Aulo Ogliari, orientador ; Fabrício Mezzomo Collares, coorientador. — Pelotas, 2015.

81 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Dentística, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Sistemas adesivos. 2. Nanopartículas de sílica. 3. Funcionalização. 4. Monômero ácido. 5. Resistência de união. I. Ogliari, Fabrício Aulo, orient. II. Collares, Fabrício Mezzomo, coorient. III. Título.

Black : D2

Carine Tais Welter Meereis

Efeito de nanopartículas de sílica funcionalizadas com fosfato na formulação de sistemas adesivos

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Dentística, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 27 de Fevereiro de 2015

Banca examinadora:

.....  
Prof. Dr. Fabrício Aulo Ogliari (Orientador)  
Doutor em Odontologia (Área de Dentística) pela Universidade Federal de Pelotas  
.....

Prof. Dr. Rafael Ratto de Moraes  
Doutor em Materiais Dentários pela Universidade Estadual de Campinas  
.....

Prof. Dr (a). Patrícia dos Santos Jardim  
Doutora em Dentística pela Universidade Estadual Paulista  
.....

Prof. Dr. Evandro Piva (Suplente)  
Doutor em Materiais Dentários pela Universidade de Campinas

Dedico este trabalho à minha família, pelo incentivo,  
apoio, carinho e atenção, que fazem com  
que eu sempre siga em frente.

## **Agradecimentos**

A **Universidade Federal de Pelotas** e ao **Programa de Pós-graduação em Odontologia**, pela oportunidade de me aperfeiçoar e aprimorar meus conhecimentos.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Fabrício Aulo Ogliari** pelos ensinamentos, prestatividade e por acreditar em meu trabalho, me proporcionando oportunidades que com certeza contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu co-orientador, **Prof. Dr. Fabrício Mezzomo Collares e sua equipe do LAMAD e CME** da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela atenção e contribuição na conclusão deste trabalho.

A **equipe do Centro de Microscopia eletrônica CEME-SUL** da Universidade Federal de Rio Grande e a **equipe do Laboratório de Microbiologia** da Universidade Federal de Pelotas, por abrirem as portas dos seus laboratórios com admirável atenção, permitindo a utilização de seus equipamentos.

Às alunas de graduação **Suzanne Mendes de Almeida, Isadora Martini Garcia e Carianne Mendes de Almeida** pelo comprometimento e contribuição com este trabalho.

Ao **Prof. Dr. Evandro Piva e a Prof. Dr. Giana da Silveira Lima**, pelo apoio e incentivo para a realização de outros trabalhos desde a graduação.

Aos colegas de pós-graduação e colegas do laboratório CDC-Bio **Fernanda B. Leal, Aline O. Ogliari, Tatiana S. Ramos, Cristina P. Isolan, Cácia Signori, Tamires M. Timm, Alexandra R. Cocco, Ana Paula Gonçalves, Lisia L. Valente,**

**Héllen L. Oliveira, Sonia L. Peralta e Eliseu A. Munchow**, pela troca de conhecimento, pela amizade e por tornarem os meus dias mais divertidos.

À minha família e namorado, **Celso, Salete, Estele, Felipe e Jardel**, por todo o suporte e companhia. Muito obrigada!

## Resumo

MEEREIS, Carine Tais Welter. **Efeito de nanopartículas de sílica funcionalizadas com fosfato na formulação de sistemas adesivos**. 2015. 81f. Dissertação (Mestrado em Dentística) - Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

Este estudo investigou o efeito da incorporação de nanopartículas de sílica funcionalizadas com fosfato ( $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ ) na resistência de união à dentina e propriedades físico-química de um sistema adesivo autocondicionante de um passo (SAA-1). O fosfato foi funcionalizado nas nanopartículas de sílica através da polimerização por radicais livres do monômero ácido fosfatado (metacriloiloxietil di-hidrogênio fosfato / bis (metacriloiloxietil) hidrogênio fosfato – HEMA-P), em meio alcoólico. As  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  resultantes foram caracterizadas por FTIR, TGA e MET. As  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  foram adicionadas aos SAA-1s, os quais foram formulados com três concentrações de HEMA-P (0, 20 e 40 %, em massa), como grupo controle foram formulados SAA-1s sem a adição de  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ . Os SAA-1s formulados foram avaliados quanto à resistência de união ao microcissalhamento em dentina e o padrão de fratura foi classificado. Adicionalmente, morfologia da camada híbrida, ângulo de contato, grau de conversão, taxa de polimerização e resistência coesiva foram avaliados. A análise estatística foi realizada considerando o nível de significância de 5%. A reação de funcionalização de  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  foi confirmada por FTIR e TGA. Os SAA-1s com  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  obtiveram valores de resistência de união significativamente maiores que os SAA-1s sem  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  ( $p \leq 0,001$ ), exceto para SAA-1s sem HEMA-P que não apresentaram adesão à dentina. Comparando com o correspondente SAA-1 sem  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ , a adição de  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  melhorou a molhamento da dentina, através da redução do ângulo de contato, e aumentou o grau de conversão e a taxa de polimerização. A resistência coesiva, entretanto, não foi alterada pela adição de  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ . Em conclusão, a adição de  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  melhora a resistência de união a dentina de SAA-1 sem prejudicar as outras propriedades avaliadas.

**Palavras-chave:** Sistemas adesivos; Nanopartículas de sílica; funcionalização; Monômero ácido; Resistência de união;



## Abstract

MEEREIS, Carine Tais Welter. **Phosphate grafted silica nanoparticles as a dentin bonding component**. 2015. 81f. Dissertation (Master Degree em Dentística) - Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

This study investigated the effect of the incorporation of phosphate-grafted-silica nanoparticles ( $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ ) on dentin bond strength and the physical-chemical properties of model one-step self-etching adhesive (1-SEA). Phosphate was grafted onto the silica nanoparticles through the free radical polymerization of the acid phosphate monomer (Methacryloyloxyethyl Dihydrogen Phosphate / Bis (methacryloyloxyethyl) Hydrogen Phosphate – HEMA-P), in an alcoholic medium. The resulting  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  was characterized by using FTIR spectroscopy, TGA, and a TEM micrograph. The  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  were added to 1-SEA with three HEMA-P concentrations (0, 20 and 40% wt.), as the control group an unfilled 1-SEA were formulated. The formulated 1-SEAs were evaluated for microshear bond strength to dentin and classified according to failure mode. Additionally, morphological analysis of bonding interface, contact angle, degree of conversion, rate of polymerization, and the cohesive strength were evaluated. Statistical comparisons were conducted at a 5% significance level. The grafting reaction of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  was confirmed by FTIR and TGA. 1-SEA containing  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  had significantly higher shear bond strength values than the non- $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  adhesives ( $p \leq 0.001$ ), except for 1-SEA with 0% of HEMA-P that did not exhibit bonding to the dentin. Compared with its correspondent unfilled 1-SEA, the addition of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  improved the dentin wettability by decreasing the contact angle and, increasing the degree of conversion and rate of polymerization. The cohesive strength, in contrast, was not affected by  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ . In conclusion, the  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  addition could be used to produce 1-SEA with enhanced dentin bond strength without harming the other properties that were investigated.

**Keywords:** Dental adhesives; Dentin bonding agents; Silica; Filler; Graft polymerization; Acidic monomers; Bond strength;

## Lista de Figuras

### Projeto

|          |                                                                                                                           |    |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 | Representação esquemática das nanopartículas de $\text{SiO}_2$ funcionalizadas com monômero ácido fosfatado (HEMA-P)..... | 22 |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

### Artigo

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1 | Schematic representation of graft polymerization of the phosphate on an $\text{SiO}_2$ nanoparticle. Silanization (a) followed by grafting (b) with the acidic phosphate monomer HEMA-P.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 67 |
| Figure 2 | FTIR spectra of $\text{SiO}_2$ -POOH.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 68 |
| Figure 3 | TGA thermograms of the $\text{SiO}_2$ , $\text{SiO}_2$ -POOH and HEMA-P monomer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 69 |
| Figure 4 | TEM micrographs of the $\text{SiO}_2$ and grafted $\text{SiO}_2$ -POOH. The formation of clusters that are made of nanoparticles can be observed in $\text{SiO}_2$ (arrows) and the same morphologic pattern can be observed in $\text{SiO}_2$ -POOH. Compared with the $\text{SiO}_2$ , we could observe that the $\text{SiO}_2$ -POOH had a smoother surface than the other and had a halo surrounding its particles (arrows), suggesting that this appearance can be attributed to phosphate grafted on the nanoparticles' surface. | 70 |

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 5 | SEM micrographs of the fracture area in the microshear bond strength test. (A-1) and (B-1) shows a mixed failure from filled and unfilled 1-SEA (HEMA-P <sub>20</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH and HEMA-P <sub>40</sub> /NO, respectively) and (A-2) and (B-2) shows the corresponding interface dentin-adhesive in higher magnification. (A-2) The area for 1-SEA containing the SiO <sub>2</sub> -POOH, thus representing good penetration of the adhesive into dentin tubules and SiO <sub>2</sub> -POOH particles could be observed in the hybrid layer. (B-2) The area for the unfilled 1-SEA is observed the lack of complete penetration. Abbreviations: Ar, adhesive resin; Hy, hybrid layer; Dt, dentinal tubule.....                                                                                                                          | 71 |
| Figure 6 | SEM micrographs of the morphological analysis of the bonding interfaces for filled and unfilled 1-SEA. (A) HEMA-P <sub>40</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH, (B) HEMA-P <sub>40</sub> /NO, (C) HEMA-P <sub>20</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH and (D) HEMA-P <sub>20</sub> /NO show a limited interaction with the dentin. No appreciable differences in the homogeneity and continuity of the hybrid layer were detected along the bonding interface between the materials. A few and short resin-tags (arrow) can be observed in the dentinal tubules. (E) HEMA-P <sub>0</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH and (F) HEMA-P <sub>40</sub> /NO show a huge gap between the dentin-resin interface. The hybrid layer and resin-tags cannot be detected. Abbreviations: CR, composite resin; Ar, adhesive resin; Hy, hybrid layer; Dt, dentinal tubule; G, gap..... | 72 |
| Figure 7 | Contact angle of the 1-SEAs.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 73 |
| Figure 8 | Kinetics of polymerization of the 1-SEAs. (A) Degree of conversion and (B) rate of polymerization.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 74 |

## Lista de Tabelas

### Projeto

|          |                                                                                                                                                                                      |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 | Composição dos <i>primers</i> /adesivos experimentais (% em massa).....                                                                                                              | 25 |
| Tabela 2 | Composição dos <i>primers</i> experimentais com substituição parcial ou total do monômero ácido fosfatado (MA) por nanopartículas fosfatadas (P <sub>HEMA-P</sub> ), % em massa..... | 25 |

### Relatório de campo

|          |                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 | Valores de resistência de união (média $\pm$ desvio-padrão) do screening de concentração dos sistemas adesivos autocondicionantes experimentais de um passo de um passo, de acordo com a concentração de HEMA-P e nanopartículas funcionalizadas..... | 41 |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

### Artigo

|         |                                                                                                           |    |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Table 1 | Means (standard deviations) for the microshear bond strength ( $\mu$ SBS) to dentin and failure mode..... | 65 |
| Table 2 | Means (standard deviations) for the physical-chemicals properties tested.....                             | 65 |

## Lista de Abreviaturas e Símbolos

|                   |                                                                                                                                                                                    |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| %                 | Porcentagem                                                                                                                                                                        |
| μl                | Microlitro                                                                                                                                                                         |
| μSBS              | Microshear bond strength (resistência de união ao microcisalhamento)                                                                                                               |
| 1-SEA             | One-step self-etching adhesive system (sistema adesivo autocondicionante de um passo)                                                                                              |
| ATR               | Attenuated total reflectance (reflectância total atenuada)                                                                                                                         |
| Bis-GMA           | Monomers 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxy propyl)phenyl]-propane (Bisfenol A glicidil dimetacrilato)                                                                         |
| BPO               | Benzoyl peroxide (Peróxido de benzoíla)                                                                                                                                            |
| cm <sup>-1</sup>  | Por centímetro                                                                                                                                                                     |
| CQ                | Camphorquinone (canforoquinona)                                                                                                                                                    |
| DC                | Degree of conversion (grau de conversão)                                                                                                                                           |
| DPIHFP            | Diphenyliodonium hexafluorophosphate (hexafluorofosfato de difeniliodônio)                                                                                                         |
| EDAB              | Ethyl 4-(dimethylamino) benzoate (etil 4-dimetilamina benzoato)                                                                                                                    |
| FTIR              | Fourier transform infrared spectroscopy (espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier)                                                                              |
| g                 | Gramas                                                                                                                                                                             |
| h                 | Hora                                                                                                                                                                               |
| HEMA              | 2-hydroxyethyl methacrylate (2-hidroxietil metacrilato)                                                                                                                            |
| HEMA-P            | Methacryloyloxyethyl Dihydrogen Phosphate / Bis (methacryloyloxyethyl) Hydrogen Phosphate (Metacriloiloxietil di-hidrogênio fosfato / Bis (metacriloiloxietil) hidrogênio fosfato) |
| LED               | Light-emitting diode unit (diodo emissor de luz)                                                                                                                                   |
| m <sup>2</sup> /g | Metros quadrados por grama                                                                                                                                                         |
| MA                | Monômero ácido                                                                                                                                                                     |
| MET               | Microscopia eletrônica por transmissão                                                                                                                                             |

|                      |                                                                                                                                |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MEV                  | Microscopia eletrônica de varredura                                                                                            |
| Min                  | Minutos                                                                                                                        |
| min <sup>-1</sup>    | Por minuto                                                                                                                     |
| ml                   | Mililitro                                                                                                                      |
| mm                   | Milímetro                                                                                                                      |
| mm/min               | Milímetro por minuto                                                                                                           |
| mm/s                 | Milímetro por segundo                                                                                                          |
| mm <sup>2</sup>      | Milímetro ao quadrado                                                                                                          |
| MPa                  | Mega pascal                                                                                                                    |
| mW/cm <sup>2</sup>   | Miliwatt por centímetro quadrado                                                                                               |
| N                    | Newton                                                                                                                         |
| nm                   | Nanômetro                                                                                                                      |
| °                    | Graus                                                                                                                          |
| °C                   | Graus Celsius                                                                                                                  |
| °C/min <sup>-1</sup> | Graus Celsius por milímetro                                                                                                    |
| pH                   | Potencial hidrogeniônico                                                                                                       |
| POOH                 | Fosfato                                                                                                                        |
| Rp                   | Rate of polymerization (taxa de polimerização)                                                                                 |
| RT-FTIR              | Real time Fourier transform infrared spectroscopy (espectroscopia de infravermelho pela transformada de Fourier em tempo real) |
| s                    | Segundos                                                                                                                       |
| SAA-1                | Sistema adesivo autocondicionante de um passo                                                                                  |
| SEM                  | Scanning electron microscopy (microscopia eletrônica de varredura)                                                             |
| SiO <sub>2</sub>     | Silica nanoparticles (nanopartículas de sílica)                                                                                |
| TEGDMA               | Triethyleneglycol dimethacrylate (dimetacrilato de trietilenoglicol)                                                           |
| TEM                  | Transmission electron microscopy (microscopia eletrônica por transmissão)                                                      |
| TGA                  | Thermogravimetric analyses (análise termogravimétrica)                                                                         |
| Wt                   | Weight (massa)                                                                                                                 |
| γ-MPTS               | γ-metacrilóixipropiltrimetoxisilano                                                                                            |

## Sumário

|            |                                             |           |
|------------|---------------------------------------------|-----------|
| <b>1.</b>  | <b>Introdução geral.....</b>                | <b>16</b> |
| <b>2.</b>  | <b>Projeto de pesquisa .....</b>            | <b>18</b> |
| <b>2.1</b> | <b>Caracterização do problema .....</b>     | <b>18</b> |
| <b>2.2</b> | <b>Justificativa .....</b>                  | <b>19</b> |
| <b>2.3</b> | <b>Objetivos .....</b>                      | <b>20</b> |
| <b>2.4</b> | <b>Metodologia .....</b>                    | <b>21</b> |
| <b>2.5</b> | <b>Orçamento.....</b>                       | <b>33</b> |
| <b>2.6</b> | <b>Cronograma do projeto .....</b>          | <b>34</b> |
| <b>3.</b>  | <b>Relatório do trabalho de campo .....</b> | <b>38</b> |
| <b>4.</b>  | <b>Artigo .....</b>                         | <b>43</b> |
| <b>5.</b>  | <b>Considerações finais .....</b>           | <b>75</b> |
|            | <b>Referências .....</b>                    | <b>76</b> |

## 1 Introdução geral

Estudos clínicos demonstram que os sistemas adesivos autocondicionantes de um passo (SAA-1) possuem um menor desempenho clínico e uma maior taxa de perda de retenção de restaurações quando comparados aos sistemas adesivos de múltiplos passos (PEUMANS et al., 2005, 2014). A fraca adesão ao tecido dental resulta em um selamento marginal ineficiente, pigmentação marginal, sensibilidade dentinária e perda de retenção da restauração (BRANNSTROM, 1992, HEINTZE, 2007, PEUMANS, et al., 2005, 2014). Os SAA-1s foram introduzidos no mercado para simplificar os procedimentos clínicos restauradores, no entanto a simplificação até agora parece induzir a perda de eficácia da adesão (PEUMANS, et al., 2005, 2014). Este desempenho clínico desfavorável está relacionado com resultados inferiores encontrados em estudos laboratoriais (VAN MEERBEEK et al., 2010). Portanto, a melhoria da adesão dos SAA-1s tem sido investigada, devido estes adesivos apresentarem uma menor resistência de união (MUNOZ et al., 2013, SADEK et al., 2005, VAN LANDUYT et al., 2009) e baixa estabilidade da adesão (FOXTON et al., 2008), quando comparados aos sistemas adesivos de múltiplos passos.

A eficácia da adesão ao tecido dental está relacionada com a capacidade do sistema adesivo desmineralizar o tecido dental, infiltrar no substrato e resistir à hidrólise da camada híbrida (polímero e rede fibras colágenas) (BRESCHI et al., 2008). Em adesivos autocondicionantes, a retenção micromecânica é atribuída à presença de monômeros metacrilatos com grupamentos ácidos funcionais, que promovem uma interação físico-química entre o sistema adesivo e a superfície do substrato dental (VAN MEERBEEK et al., 2011). No entanto, estes monômeros ácidos prejudicam a reação de polimerização (ADUSEI et al., 2003) e são hidroliticamente instáveis em materiais de frasco único (FUJITA; NISHIYAMA, 2006, SADR et al., 2007, SALZ et al., 2005); aumentando assim a absorção de água, e diminuindo as propriedades mecânicas da camada híbrida e a estabilidade da adesão (BRESCHI, et al., 2008). As principais tentativas para resolver os problemas



relacionados com a estabilidade da adesão são: controle da atividade colagenolítica (HASHIMOTO et al., 2003), aumentou impregnação do adesivo no substrato (BRESCHI, et al., 2008), redução da hidrofiliabilidade do polímero (COLLARES et al., 2011), melhoria da polimerização do polímero (BRESCHI, et al., 2008, LEAL et al., 2012), e adição de partículas (CONDE et al., 2009, HABEKOST et al., 2012, KIM et al., 2005, LEITUNE et al., 2013).

A adição de pequenas quantidades de partículas aos sistemas adesivos produz uma camada híbrida menos propensa à degradação (TAY; MOULDING; PASHLEY, 1999), reduzindo assim a absorção de água e aumentando as propriedades mecânicas do material (HOSAKA et al., 2010). A superfície destas partículas inorgânicas também é capaz de ser modificada por polímeros através da funcionalização de grupos funcionais na superfície das partículas, produzindo assim materiais híbridos orgânico-inorgânico com propriedades novas e sinérgicas (ATAI et al., 2009, KIM et al., 2005, SOLHI et al., 2012, SOLHI et al., 2012). Neste estudo, a superfície de nanopartículas de sílica ( $\text{SiO}_2$ ) foi modificada por monômeros metacrilatos com grupamentos ácidos funcionais, a qual consiste em grupos funcionais fosfato ( $\text{POOH}$ ). Estes  $\text{POOH}^-$  podem interagir com os íons  $\text{Ca}^{+2}$  da hidroxiapatita promovendo uma adesão química adicional entre a dentina e o material restaurador (FU et al., 2005), melhorando assim a longevidade da adesão (VAN MEERBEEK, et al., 2011).

Portanto, melhorar as propriedades mecânicas do material e aumentar as interações físico-químicas entre o tecido dental e o sistema adesivo poderia resultar em um tratamento restaurador mais duradouro (BRESCHI, et al., 2008, VAN MEERBEEK, et al., 2011). No entanto, apesar do possível efeito da incorporação de nanopartículas de sílica funcionalizadas com fosfato ( $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ ) em sistemas adesivos, não há evidências do impacto deste componente na adesão ao tecido dental e nas propriedades físico-químicas de SAA-1s. Por isso, o objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar o efeito da incorporação de  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  na resistência de união à dentina e propriedades físico-químicas dos SAA-1s.

## **2 Projeto de pesquisa**

### **2.1 Caracterização do problema**

A adesão ao tecido dental ocorre essencialmente através de um processo de troca, em que os minerais removidos do tecido dental são substituídos por monômeros resinosos, resultando em uma retenção micromecânica nas porosidades criadas (VAN MEERBEEK et al., 2003). Diferentes materiais podem ser utilizados para a obtenção da união ao substrato dental, como os sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes. Esses materiais diferem entre si pela composição, modo de aplicação e maneira de interação com o substrato dental (BRESCHI et al., 2008, FERRACANE, 2011, VAN LANDUYT et al., 2007).

Os sistemas adesivos convencionais possuem uma etapa prévia de condicionamento ácido (geralmente um gel de ácido fosfórico de 35-37%) que promove a desmineralização completa da dentina e permite a infiltração de monômeros ambifílicos na rede de fibrilas colágenas, gerando assim uma retenção micromecânica (PASHLEY et al., 2011). Os sistemas adesivos autocondicionantes não requerem uma etapa separada de condicionamento ácido, uma vez que possuem monômeros metacrilatos com grupamentos ácidos funcionais (fosfato, fosfônico ou carboxílico) que simultaneamente desmineralizam e infiltram na superfície dentinária, promovendo desta maneira a adesão por embricamento micromecânico e por interação química dos grupos ácidos funcionais e íons cálcio da hidroxiapatita (BRESCHI, et al., 2008, MOSZNER; SALZ; ZIMMERMANN, 2005, VAN MEERBEEK et al., 2011).

Embora se consiga uma adesão imediata satisfatória à dentina, em longo prazo, a camada adesiva pode falhar devido à baixa resistência mecânica (FERRACANE, 2006, DICKENS; CHO, 2005, KIM, et al. 2005) e degradação hidrolítica (MOSZNER; SALZ; ZIMMERMANN, 2005). A adição de nanopartículas de carga melhora as propriedades mecânicas da camada adesiva (CONDE, et al.,

2009, TAM; KHOSHAND; PILLIAR, 2001), produz uma película adesiva mais espessa, que previne o efeito inibitório de polimerização causado pelo oxigênio (TAM; KHOSHAND; PILLIAR, 2001) e também pode proporcionar, através de um maior módulo de elasticidade, o alívio das tensões produzidas pela resina composta restauradora (KEMP-SCHOLTE; DAVIDSON, 1990, VAN MEERBEEK, 1993).

Estudos têm demonstrado que a modificação da superfície de nanopartículas, através da funcionalização de grupamentos funcionais, é um método versátil e eficaz para a obtenção de materiais com propriedades específicas. Este método tem sido amplamente utilizado para a obtenção de nanopartículas que atuam na purificação da água (OKADA et al., 2005), na catálise de reações químicas (GOBOLOS et al., 1997), como antioxidantes (PRESTI et al., 2013) e biosensores (PEREIRA; SANTOS ADE; KUBOTA, 2003), no entanto sua aplicação em materiais odontológicos ainda não foi avaliada. Em vista disso, um potencial componente a ser adicionado em materiais adesivos odontológicos, seriam as nanopartículas de sílica funcionalizadas com monômeros metacrilatos com grupamentos ácidos funcionais, pois enquanto que as nanopartículas de sílica poderiam melhorar as propriedades mecânicas do polímero, a cobertura de fosfato poderia trazer o benefício da ligação química entre o grupamento fosfato e os íons cálcio da hidroxiapatita, promovendo desta forma, uma adesão satisfatória e duradoura.

## **2.2 Justificativa**

A adesão ao tecido dental ocorre essencialmente através da retenção por embricamento micromecânico e/ou ligação química. Entretanto, baixa reatividade, degradação hidrolítica e a resistência mecânica da camada adesiva ainda são limitações que comprometem a adesão em longo prazo. Por isso, faz-se necessário a investigação de um componente alternativo que além de ser eficaz na promoção da união à dentina, também melhore as propriedades da camada adesiva. Em vista disso, um potencial componente a ser adicionado em materiais adesivos odontológicos, seriam as nanopartículas de sílica funcionalizadas com monômero ácido fosfatado, pois enquanto que as nanopartículas de sílica poderiam melhorar as propriedades do polímero, a cobertura de fosfato poderia realizar uma ligação química adicional aos íons cálcio da hidroxiapatita, promovendo desta forma, uma adesão satisfatória e duradoura.

## 2.3 Objetivos

### 2.3.1 *Objetivo geral*

Funcionalização de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> com monômero ácido fosfatado, caracterização e avaliação do efeito da sua adição nas propriedades físico-químicas, mecânicas e adesivas de sistemas adesivos experimentais.

### 2.3.2 *Objetivos específicos*

- Funcionalização de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> com monômero ácido fosfatado.
- Caracterização das nanopartículas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas: Espectroscopia de Infravermelho (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA) e potencial hidrogeniônico (pH).
- Preparar sistemas adesivos experimentais (sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes de dois passos) testando como variáveis de formulação o componente ácido: monômero ácido e/ou nanopartículas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com monômero ácido fosfatado.
- Avaliar as propriedades físico-químicas, mecânicas e adesivas dos sistemas adesivos obtidos: grau de conversão, taxa de polimerização, resistência de união a microtração em dentina, resistência à flexão, módulo de elasticidade, sorção / solubilidade e avaliação da morfologia da camada híbrida por MEV.

## 2.4 Metodologia

### 2.4.1 Funcionalização das nanopartículas de $\text{SiO}_2$

#### 2.4.1.1 Reagentes

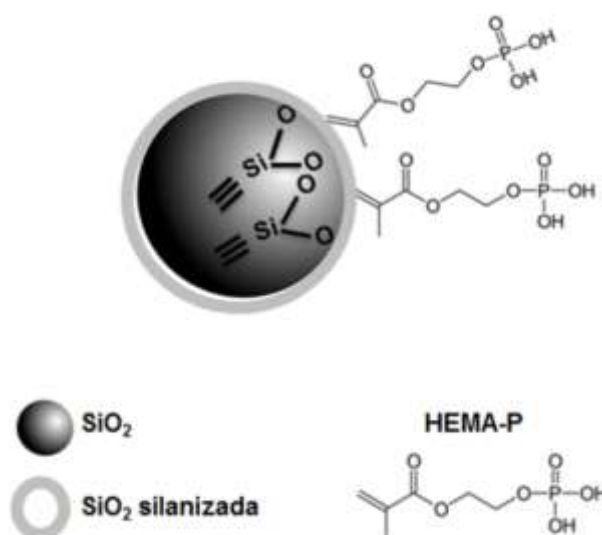
Nanopartículas de sílica coloidal (Aerosil 380 – tamanho médio de 7 nm e área de superfície 380 m<sup>2</sup>/g) serão adquiridas junto à indústria Degussa (Frankfurt, Alemanha). O  $\gamma$ -metacriloxipropiltrimetoxissilano ( $\gamma$ -MPTS) será adquirido junto ao fornecedor Sigma-Aldrich (Milwaukee, EUA). Etanol absoluto, ácido acético e peróxido de benzoíla (BPO) serão adquiridos junto à empresa Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Metacriloiloxietil di-hidrogênio fosfato / Bis (metacriloiloxietil) hidrogênio fosfato (HEMA-P) será sintetizado conforme descrito anteriormente (LIMA et al., 2008).

#### 4.1.1.2 Silanização e funcionalização das nanopartículas de $\text{SiO}_2$ com monômero ácido fosfatado

As nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  serão submetidas ao processo de silanização através da mistura de 5g  $\text{SiO}_2$ , 10% de  $\gamma$ -MPTS, 15% de ácido acético e solvente (15 ml de água destilada e 150 ml de etanol). A mistura será levada à estufa 70°C por 4 horas e posteriormente a temperatura será elevada à 110°C por 1 hora para evaporação do solvente. O pó obtido será peneirado em peneira de malha #300. Após a silanização as nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  serão chamadas de  $\text{P}_{\text{SIL}}$ .

As nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  silanizadas serão co-polimerizadas ao monômero ácido fosfatado através da adição de 15% de HEMA-P, 1% de autoiniciador (BPO) e solvente (17 ml de etanol). Posteriormente a mistura será mantida à 80° C, sob

agitação, para que ocorra a reação de polimerização, e em seguida, será levada à estufa à 110° C por 4 horas para evaporação do solvente. O pó obtido será peneirado em peneira de malha #300. Após a funcionalização as nanopartículas de SiO<sub>2</sub> serão chamadas de P<sub>HEMA-P</sub>. Uma representação esquemática das nanopartículas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com monômero ácido fosfatado esta representada na figura 1.



**Figura 1** – Representação esquemática das nanopartículas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas com monômero ácido fosfatado (HEMA-P).

## 4.2 Caracterização das nanopartículas de SiO<sub>2</sub>

### 4.2.1 Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

Análises por espectroscopia de infravermelho serão realizadas em um Espectrofotômetro Médio de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, Shimadzu Prestige21 Spectrometer, Shimadzu, Tokyo, Japão) para avaliar a presença de organosilano e grupamentos fosfato na superfície das nanopartículas de SiO<sub>2</sub>. O pó das nanopartículas será dispensado sobre o cristal de diamante equipado com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR). Os espectros serão

coletados em 32 varreduras, na faixa espectral compreendida entre 700 e 4000  $\text{cm}^{-1}$ , resolução 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### *4.2.2 Análise termogravimétrica (TGA)*

As amostras de nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  serão submetidas a análise termogravimétrica (TGA) no equipamento (SDT Q600; TA Instruments Ltd., EUA). As amostras serão aquecidas até 600° C em uma taxa de aquecimento de 10° C  $\text{min}^{-1}$ .

#### *4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) será realizada para avaliar a morfologia das nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  usando o equipamento (SSX-550; Shimadzu, Tokyo, Japão).

#### *4.2.4 Potencial hidrogeniônico (pH)*

Amostras das nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  (0,5 g) serão individualmente imersas em 10 ml de água destilada e imediatamente após será mensurado o pH ( $n=3$ ) com o auxílio de um pHmetro digital (Na 2000; Analition, Ribeirão Preto, Brazil).



### 4.3 Formulação dos sistemas adesivos experimentais

#### 4.3.1 Reagentes

Bisfenol A glicidil dimetacrilato (Bis-GMA), dimetacrilato de trietilenoglicol (TEGDMA) e canforoquinona (CQ), serão adquiridos junto ao fornecedor Esstech Inc (Essington, EUA). 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) será adquirido junto ao fornecedor Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). O etil 4-dimetilamina benzoato (EDAB) e o hexafluorofosfato de difeniliodônio (DPIHFP) serão adquiridos junto à empresa Fluka (Milwaukee, EUA). Gel de ácido fosfórico 35% será adquirido da Maquira (Maringá, Brasil). Etanol absoluto será adquirido da empresa Vetec (Brasil). HEMA-P (LIMA, 2008) será sintetizados conforme descrito anteriormente. Em todos os experimentos, será utilizado para fotoativação diodo emissor de luz (LED - Radian; SDI, Bayswater, Victoria, Australia) com irradiância de  $800\text{mW/cm}^2$  confirmada por meio de um potenciômetro (Ophir Optronics, Danvers, MA, EUA).

#### 4.3.2 Formulação dos sistemas adesivos convencionais experimentais

Dois *primers*/adesivos experimentais serão formulados através da mistura de Bis-GMA, TEGDMA, HEMA, etanol e água destilada, conforme descrito na tabela 1. Os *primers*/adesivos experimentais serão nomeados como P<sub>NO</sub> e P<sub>HEMA-P</sub>, de acordo com a ausência ou presença de nanopartículas funcionalização com HEMA-P. Como sistema de iniciação 0,5% de CQ, 1% de EDAB e 1% DPIHFP (% em massa) serão adicionados em todos os grupos avaliados.

Tabela 1 - Composição dos *primers*/adesivos experimentais (% em massa).

| <i>Primers/adesivos</i> | P <sub>NO</sub> | P <sub>HEMA-P</sub> |
|-------------------------|-----------------|---------------------|
| Bis-GMA                 | 30              | 30                  |
| TEGDMA                  | 15              | 15                  |
| HEMA                    | 30              | 30                  |
| Etanol                  | 20              | 20                  |
| Água destilada          | 5               | 5                   |
| P <sub>HEMA-P</sub>     | 0               | ?                   |

Abreviatura: ?: Dados da concentração de P<sub>HEMA-P</sub> serão obtidos após avaliação prévia de diferentes concentrações.

#### 4.3.3 Formulação dos sistemas adesivos autocondicionantes experimentais

Seis *primers* autocondicionantes experimentais serão formulados através da mistura de HEMA, HEMA-P, etanol e água destilada. Os *primers* experimentais serão nomeados como MA<sub>30</sub>/P<sub>0</sub>; MA<sub>30</sub>/P<sub>HEMA-P</sub>; MA<sub>15</sub>/P<sub>0</sub>; MA<sub>15</sub>/P<sub>HEMA-P</sub>; MA<sub>0</sub>/P<sub>0</sub>; e MA<sub>0</sub>/P<sub>HEMA-P</sub>, de acordo com a concentração de monômero ácido (MA) e de nanopartículas P<sub>HEMA-P</sub> adicionadas, respectivamente.

Para avaliar a possibilidade de substituição do monômero ácido fosfatado por nanopartículas funcionalizadas, o monômero ácido (HEMA-P) será total ou parcialmente substituído pelo co-monômero (HEMA), à medida que serão adicionadas as nanopartículas funcionalizadas (P<sub>HEMA-P</sub>), enquanto que a concentração de 30% de solventes (etanol e água destilada) e 10% de TEGDMA será mantida, conforme apresentado na tabela 2.

Tabela 2 - Composição dos *primers* experimentais com substituição parcial ou total do monômero ácido fosforado (MA) por nanopartículas fosfatadas (P<sub>HEMA-P</sub>), % em massa.

| <i>Primers</i>      | MA <sub>30</sub> /P <sub>0</sub> | MA <sub>30</sub> /P <sub>HEMA-P</sub> | MA <sub>15</sub> /P <sub>0</sub> | MA <sub>15</sub> /P <sub>HEMA-P</sub> | MA <sub>0</sub> /P <sub>0</sub> | MA <sub>0</sub> /P <sub>HEMA-P</sub> |
|---------------------|----------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| Etanol              | 20                               | 20                                    | 20                               | 20                                    | 20                              | 20                                   |
| Água                | 20                               | 20                                    | 20                               | 20                                    | 20                              | 20                                   |
| TEGDMA              | 10                               | 10                                    | 10                               | 10                                    | 10                              | 10                                   |
| HEMA                | 20                               | 20                                    | 45                               | 45                                    | 50                              | 50                                   |
| HEMA-P              | 30                               | 30                                    | 15                               | 15                                    | 0                               | 0                                    |
| P <sub>HEMA-P</sub> | 0                                | ?                                     | 0                                | ?                                     | 0                               | ?                                    |

Abreviatura: ?: Dados da concentração de P<sub>HEMA-P</sub> serão obtidos após avaliação prévia de diferentes concentrações.

Uma resina fluida não particulada constituída por 50% de Bis-GMA, 25% de TEGDMA, 25% de HEMA, 0,5% de CQ, 1% de EDAB e 1% DPIHFP, % em massa, será usada como adesivo.

#### *4.4 Caracterização dos sistemas adesivos experimentais*

##### *4.4.1 Análise por espectroscopia de infravermelho em tempo real*

Os sistemas adesivos experimentais serão avaliados quando ao grau de conversão e taxa de polimerização em tempo real, através de um espectrofotômetro infravermelho com Transformada de Fourier (RT-FTIR, Shimadzu Prestige21 Spectrometer, Shimadzu, Japão) equipado com dispositivo de refletância total atenuada (ATR), composto por um cristal horizontal de diamante, com espelhos de angulação de 45° (PIKE Technologies, EUA). Para garantir a padronização de uma distância de 5 mm entre a extremidade da unidade foto-ativadora e a amostra, um suporte será acoplado para a fixação da fonte de luz ao espectrofotômetro.

Cada amostra, em triplicata, será dispensada diretamente sobre o cristal de diamante (~3µl) e fotoativada por até 60 s. O monitoramento da reação de polimerização será realizada através do *software* IRSolution utilizando apodização de Happ-Genzel, em uma faixa espectral entre 1800 e 1500 cm<sup>-1</sup>, resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e velocidade de deslocamento de espelho de 2,8mm/s. O grau de conversão, por segundo, será calculado considerando a intensidade da vibração do tipo estiramento da dupla ligação carbono-carbono na frequência de 1635 cm<sup>-1</sup>. O estiramento simétrico do anel aromático em 1610 cm<sup>-1</sup> das amostras polimerizadas e não polimerizadas será utilizado como padrão interno. Posteriormente, os dados obtidos serão plotados em uma curva ajustada pelo parâmetro regressivo não-linear de Hill e será calculada a taxa de polimerização.

#### 4.4.2 Resistência de união á microtração em dentina

##### 4.4.2.1 Preparo dos dentes

Serão utilizados 80 incisivos bovinos, que após remoção da porção radicular, polpa e periodonto, serão armazenados em solução de cloramina T 0,5% por sete dias, sendo posteriormente transferidos para água destilada e mantidos congelados até seu uso. A face vestibular dos dentes será desgastada para criar uma superfície plana em dentina média. Em seguida, a dentina exposta será polida com lixa d'água de granulação 600 durante 1 min sob constante irrigação em uma politriz metalográfica (Aropol-E) para padronizar a lama dentinária. Posteriormente serão distribuídos aleatoriamente 10 dentes para cada grupo.

##### 4.4.2.2 Confeção das restaurações

Os dentes serão restaurados de acordo com o tipo de material adesivo utilizado:

Sistema adesivo convencional de 2 passos: o gel de ácido fosfórico 35% será aplicado sobre a superfície de dentina durante 15s, logo após será aplicado um jato de ar/água durante 15s e a com auxilio de papeis absorventes o excesso de água será removido da superfície da dentina. Uma camada de *primer*/adesivo será aplicada, o solvente será evaporado com um jato de ar durante 10s e fotoativação será realizada durante 20s. Após a fotoativação, incrementos de compósito restaurador (Filtek Z250, 3M ESPE, St. Paul, EUA) serão inseridos para cobrir completamente a superfície da dentina, até que a restauração tenha 4 mm de altura.

Sistema adesivo autocondicionante de 2 passos: o *primer* autocondicionante será aplicado ativamente sobre a superfície de dentina úmida durante 30s e o solvente será evaporado com um jato de ar durante 10s. Uma camada de adesivo será aplicada e fotoativada durante 20s. Após a fotoativação do adesivo,

incrementos de compósito restaurador serão inseridos para cobrir completamente a superfície da dentina, até que a restauração tenha 4 mm de altura.

Em seguida, os dentes restaurados serão armazenados em água destilada durante 24 horas em estufa a 37°C.

#### *4.4.2.3 Corte das restaurações*

Os dentes serão seccionados em cortadeira de precisão (ISOMET 1000, Buheler, IL, EUA). Serão realizados cortes perpendiculares à interface de união, sendo que o primeiro corte será paralelo às faces proximais e o segundo perpendicular a essas faces, de maneira a produzir palitos de aproximadamente 1 mm<sup>2</sup> de área de secção transversal. Para cada dente serão obtidos 6 espécimes, totalizando em torno de 60 espécimes por grupo que serão armazenados em água destilada com 0,4% de azida sódica na estufa a 37°C. Após 24h, 20 espécimes de cada grupo serão submetidos ao ensaio de resistência de união à microtração.

#### *4.4.2.4 Ensaio de resistência de união à microtração*

Após 24h cada espécime terá suas dimensões mensuradas, para o cálculo da área de união, utilizando um paquímetro digital com precisão de 0,01mm. Os espécimes serão fixados em um dispositivo desenvolvido para ensaio de microtração com o auxílio de um adesivo à base de cianoacrilato (SuperBonder Gel, Loctite). Os espécimes serão tracionados a uma velocidade de 0,5 mm/min até sua falha em uma máquina de ensaios mecânicos (Emic DL 500, São José dos Pinhais, PR, Brasil) com uma célula de carga de 100N e a resistência de união obtida em MPa.

#### *4.4.2.5 Análise do padrão de fratura em microscopia de luz*

A porção correspondente à dentina de todas as amostras fraturadas será observada através de estereomicroscópio óptico (Futuretech, FM 700, Japão) com um aumento de 100X e 500X para a determinação do modo de falha. As falhas serão classificadas em adesiva, coesiva em resina, coesiva em dentina ou mista, quando ocorrer mais de um dos tipos de falha. Os espécimes que falharem antes de serem submetidos ao teste de resistência de união à microtração serão classificados como falha prematura.

#### *4.4.2.6 Análise da morfologia da interface de união*

Dois discos de dentina, com 2 mm de espessura, correspondentes a porção média da coroa de incisivos bovinos ( $n = 2$ ) serão obtidos através da secção em cortadeira de precisão. A superfície da dentina será polida com lixa d'água granulação 600 por 1 min sob constante irrigação para padronizar a lama dentinária, em seguida, os materiais adesivos serão aplicados conforme descrito anteriormente. Uma camada fina de compósito restaurador (Filtek Z250, 3M ESPE, St. Paul, EUA) será justaposta entre os dois discos de dentina, ligando um ao outro para formar um espécime sanduíche de dentina-compósito-dentina. Os espécimes ligados serão armazenados em água destilada a 37°C durante 24 h. Posteriormente as amostras serão seccionadas verticalmente à interface dentina-compósito-dentina e embutidas em resina de epóxi autopolimerizável (Porto Alegre, RS, Brasil).

Após 24h, a superfície das amostras com a interface dentina-compósito-dentina exposta será polida com lixas d'água de granulação 600, 1200, 1500, 2000 e 2500, e posteriormente, com discos de feltro impregnado com suspensões de diamante policristalino (Metadi Supremo; Buehler) de granulação 3, 1, 0,25 e 0,1 mM. Os espécimes serão limpos com um jato de ar/água entre cada passo do polimento. As superfícies serão condicionadas com uma solução a 50% de ácido fosfórico durante 5 s, enxaguadas com água destilada durante 30 segundos e desproteinizadas por imersão em solução de NaOCl a 2,5% durante 10 min. Após a

limpeza durante 1 h no ultra-som, as amostras serão armazenadas a seco em um recipiente com gel de sílica, durante 24 h, à temperatura ambiente. Após as amostras serão revestidas por ouro e as interfaces de união serão analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV - SSX-550, Shimadzu, Tóquio, Japão).

#### *4.4.2.7 Resistência à mini-flexão e módulo de elasticidade*

O teste de resistência a mini-flexão será realizado através da confecção de espécimes em forma de barra (n=10) com dimensões de 10 mm x 2 mm x 2 mm, que serão fotopolimerizados entre tiras de poliéster em um molde metálico por 40 s, em ambos os lados. Após serem armazenados em água destilada à 37° C por 24 horas, a resistência à flexão e o módulo de elasticidade serão obtidos pelo teste de mini-flexão de três pontos em uma máquina de ensaios mecânicos (Emic, DL 500, São José dos Pinhais, PR, Brasil) com velocidade de 1 mm / min. até sua falha.

#### *4.4.2.8 Sorção e solubilidade*

##### *4.4.2.8.1 Confecção dos espécimes*

Dez espécimes por grupo serão confeccionados dispensando o material em um molde circular metálico com 1 mm de espessura e 15 mm de diâmetro, recoberto por tiras de poliéster nas duas extremidades. Em seguida, cada espécime será fotoativado durante 20 s em 9 posições diferentes de ambos os lados, os bordos serão polidos com lixas de granulação 600 seguida de 1200. Todas as etapas do desenvolvimento desta metodologia seguirão as especificações ISO 4049/2000.

#### 4.4.2.8.2 Ensaio de Sorção e Solubilidade em água

Os espécimes serão levados em um dessecador contendo sílica e armazenados em estufa a 37° C. A massa de dois corpos de prova de cada grupo será mensurada repetidamente até sua estabilização. Após isso, a massa dos demais espécimes também será mensurada. Essa massa será denominada de  $m_1$ , pois representa a massa seca do espécime antes dos fenômenos de Sorção e Solubilidade ocorrerem.

Após a definição da  $m_1$ , todos os espécimes de um mesmo grupo serão colocados dentro de um recipiente contendo 1 ml de água destilada para cada corpo de prova. Os recipientes serão armazenados dentro de uma estufa a 37° C, e após uma semana a massa de todos os espécimes será mensurada novamente e desta vez denominada de  $m_2$ , representando a massa úmida do espécime após este ter sorvido água do meio em que foi armazenado.

Em seguida, os corpos de prova serão armazenados novamente, no dessecador com sílica, dentro de uma estufa a 37° C, para obter uma terceira massa ( $m_3$ ), que representará a massa final do espécime após o fenômeno de solubilidade, lixiviação de componentes do mesmo. Após a estabilização desta massa, a  $m_3$  de cada corpo de prova será mensurada.

A Sorção de água (SA) e a Solubilidade (SL) serão calculadas a partir das seguintes fórmulas:

$$SA = \frac{m_2 - m_3}{V}, \quad SL = \frac{m_1 - m_3}{V}$$

onde: V representa o Volume dos espécimes, que será obtido da seguinte maneira:

$$V = \pi R^2 h,$$

sendo que:  $\pi$  representa o valor constante de 3,14; R o raio do espécime; e h a altura do mesmo. O raio será obtido através da média entre dois diâmetros perpendiculares de cada espécime; e a altura será obtida pela média entre cinco alturas diferentes para cada um dos espécimes, mensurados com um paquímetro digital com precisão de 0,01mm.



#### *4.5 Tratamento estatístico*

O número de repetições especificadas nas metodologias descritas acima partirão dos valores comumente utilizados na literatura. No entanto, o número definitivo de repetições em cada avaliação terá como base o cálculo de amostra executado em estudos piloto prévios. De posse dos resultados dos experimentos, o método estatístico mais apropriado será escolhido com base na aderência no modelo de distribuição normal e igualdade de variâncias. Para todos os testes será considerado o valor  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

## 6. Orçamento

Quadro 1 – Orçamento previsto para a viabilização do projeto.

| <b>Descrição</b>                     | <b>Qtde.</b> | <b>Custo Unit. (R\$)</b> | <b>Total (R\$)</b> |
|--------------------------------------|--------------|--------------------------|--------------------|
| Reagentes                            | -            | -                        | 10.000,00          |
| Gel de ácido fosfórico 35% (Maquira) | 2            | 6,00                     | 12,00              |
| Compósito restaurador comercial      | 28           | 59,00                    | 1.652,00           |
| Resina epóxi                         | 1 kit        | 150,00                   | 150,00             |
| Análises de MEV                      | 10           | 120,00                   | 1.200,00           |
| Cera pegajosa                        | 4 cx.        | 25,00                    | 100,00             |
| Gel cianoacrilato                    | 2 un.        | 5,00                     | 10,00              |
| Vidrarias de laboratório             | -            | -                        | 500,00             |
| Material de escritório               | -            | -                        | 200,00             |
| Materiais descartáveis               | -            | -                        | 500,00             |
| Impressão                            | 10 unit.     | 50,00                    | 500,00             |
| Diárias e Passagens de Congressos    | -            | -                        | 3.000,00           |
| Serviço de revisão de inglês         | 2            | 300,00                   | 600,00             |
| <b>TOTAL</b>                         |              |                          | <b>18.424,00</b>   |

[illegible]

## Referências

BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; RUGGERI, A.; CADENARO, M.; DI LENARDA, R.; DE STEFANO DORIGO, E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. **Dental Material**, v.24, n.1, p.90-101, 2008.

CONDE, M. C.; ZANCHI, C. H.; RODRIGUES-JUNIOR, S. A.; CARRENO, N. L.; OGLIARI, F. A.; PIVA, E. Nanofiller loading level: Influence on selected properties of an adhesive resin. **Journal of Dentistry**, v.37, n.5, p.331-335, 2009.

DICKENS, S. H.; CHO, B. H. Interpretation of bond failure through conversion and residual solvent measurements and Weibull analyses of flexural and microtensile bond strengths of bonding agents. **Dental Materials**, v.21, n.4, p.354-364, 2005.

FERRACANE, J. L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. **Dental Materials**, v.22, n.3, p.211-222, 2006.

FERRACANE, J. L. Resin composite--state of the art. **Dental Materials**, v.27, n.1, p.29-38, 2011.

GOBOLOS, S. T., E.; HEGEDUS, M.; BERTÓTI, I.; MARGITFALVI, J.L. Condensation of allyl alcohol with ammonia over phosphoric acid catalyst supported on controlled pore glass. **Applied Catalysis A: General**, v.152, p.63-68, 1997.

KEMP-SCHOLTE, C. M.; DAVIDSON, C.L. Complete marginal seal of ClassV resin composite restorations effected by increased flexibility. **Journal of Dental Research**, v.69, n.6, p.1240-1243, 1990.

KIM, J. S.; CHO, B. H.; LEE, I. B.; UM, C. M.; LIM, B. S.; OH, M. H.; CHANG, C. G.; SON, H. H. Effect of the hydrophilic nanofiller loading on the mechanical properties and the microtensile bond strength of an ethanol-based one-bottle dentin adhesive. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v.15, n.72 (2), p.284-291, 2005.

LIMA, G. DA S.; OGLIARI, F. A.; DA SILVA, E. O.; ELY, C.; DEMARCO, F. F.; CARREÑO, N. L.; PETZHOLD, C. L.; PIVA, E. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v.10, n.3, p.167-172, 2008.

MOSZNER, N.; SALZ, U.; ZIMMERMANN, J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. **Dental Materials**, v.21, n.10, p.895-910, 2005.

OKADA, K.; NISHIMUTA, K.; KAMESHIMA, Y.; NAKAJIMA, A. Effect on uptake of heavy metal ions by phosphate grafting of allophane. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.286, n.2, p.447-454, 2005.

PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; BRESCHI, L.; TJADERHANE, L.; CARVALHO, R. M.; CARRILHO, M.; TEZVERGIL-MUTLUAY, A. State of the art etch-and-rinse adhesives **Dental Materials**, v.27, n.1, p.1-16, 2011.

PEREIRA, A. C.; SANTOS ADE, S.; KUBOTA, L. T. Electrochemical behavior of riboflavin immobilized on different matrices. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.265, n.2, p.351-358, 2003.

PRESTI, C.; ALAUZUN, J. G.; LAURENCIN, D.; MUTIN, H. P. Improvement of the oxidative stability of nanodiamonds by surface phosphorylation. **Chemistry of Materials**, v.25, p.2051-2055, 2013.

TAM, L. E.; KHOSHAND, S.; PILLIAR, R. M. Fracture resistance of dentin-composite interfaces using different adhesive resin layers. **Journal of Dentistry**, v.29, n.3, p.217-225, 2001.

VAN LANDUYT, K. L.; SNAUWAERT, J.; DE MUNCK, J.; PEUMANS, M.; YOSHIDA, Y.; POITEVIN, A.; COUTINHO, E.; SUZUKI, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, v.28, n.26, p.3757-3785, 2007.

VAN MEERBEEK, B.; DE MUNCK, J.; YOSHIDA, Y.; INOUE, S.; VARGAS, M.; VIJAY, P.; VAN LANDUYT, K.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Operative Dentistry**, v.28, n.3, p.215-235, 2003.

VAN MEERBEEK, B.; YOSHIHARA, K.; YOSHIDA, Y.; MINE, A.; DE MUNCK, J.;  
VAN LANDUYT, K. L. State of the art of self-etch adhesives. **Dental Materials**, v.27,  
n.1, p.17-28, 2011.

### 3 Relatório do trabalho de campo

Este projeto, por se tratar de algo novo, fez com que encontrássemos muitas dificuldades durante a sua realização, o que nos levou a alterar algumas metodologias apresentadas no projeto de qualificação. Esta seção, além de se referir à descrição do trabalho de campo, também se destinou a indicar as alterações que foram necessárias durante o desenvolvimento do estudo, que explicam as diferenças entre o projeto inicial e o artigo a seguir apresentado.

#### *3.1 Funcionalização das nanopartículas de SiO<sub>2</sub>*

As atividades de laboratório foram iniciadas pela funcionalização das nanopartículas com fosfato. Inicialmente, foi estabelecido como método de síntese o apresentado na qualificação deste projeto de dissertação, no entanto prosseguiu-se tentando aprimorar o método de obtenção das nanopartículas funcionalizadas.

O método de síntese até então adotado, apresentava algumas limitações: heterogeneidade de funcionalização, sendo possível observar nitidamente uma camada inferior de nanopartículas não tratadas e uma camada superior de nanopartículas com monômero ácido polimerizado; formação de homopolímeros; ausência de um processo de purificação das nanopartículas após a síntese; e aglomeração das nanopartículas após secagem.

Para tentar resolver essas limitações foram realizadas diversas mudanças no método de síntese. A reação de silanização e funcionalização das nanopartículas passou a ser realizada simultaneamente em um condensador com refluxo, para melhorar o molhamento das nanopartículas, evitar a sua aglomeração durante a reação, prevenir a formação de homopolímeros e, por fim, obter nanopartículas com uma funcionalização mais homogênea. A purificação das nanopartículas funcionalizadas passou a ser realizada com auxílio de uma centrífuga, onde

dispensava-se o solvente sobrenadante. Para prevenir a aglomeração das nanopartículas, diversos métodos foram testados: remoção do solvente com auxílio de um evaporador rotativo, remoção lenta do solvente em temperatura ambiente, secagem à vácuo, incorporação das nanopartículas em HEMA e posterior remoção do solvente com auxílio de um evaporador rotativo e manter as nanopartículas no solvente, sem secá-las.

As reações de silanização e funcionalização das nanopartículas foram acompanhadas por análises de espectroscopia de infravermelho médio, pois a observação do aparecimento do pico em  $1636\text{ cm}^{-1}$  nos indicava a presença de C=C proveniente do processo de silanização e o aparecimento do pico em  $1050\text{ cm}^{-1}$  nos indicava a presença de POOH proveniente do processo de funcionalização com o monômero ácido fosfatado. Além deste método de acompanhamento de síntese, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada paralelamente para visualização da morfologia e tamanho de partícula.

### *3.2 Caracterização das nanopartículas de $\text{SiO}_2$*

As nanopartículas funcionalizadas obtidas foram enviadas ao Prof. Fabrício Mezzomo Collares (co-orientador deste trabalho) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para realização da análise termogravimétrica (TGA) e microscopia eletrônica de transmissão (MET), pois não temos estes equipamentos nos laboratórios da Universidade Federal de Pelotas.

A avaliação da morfologia das nanopartículas deixou de ser realizada pelo MEV (conforme descrito no projeto) e passou a ser realizada pelo MET devido ao tamanho das partículas serem compatíveis com a escala nanométrica.

### *3.3 Formulação dos sistemas adesivos e avaliação de suas propriedades*



Até o momento da qualificação do projeto, apenas alguns experimentos-piloto de ensaios de adesão haviam sido realizados com um sistema adesivo autocondicionante experimental de dois passos (formulação descrita no projeto), com resultados considerados satisfatórios até aquele momento, uma vez que os valores de resistência de união à dentina eram similares aos valores publicados previamente por nosso grupo de pesquisa (LIMA et al., 2008). Também foram realizados testes pilotos de adesão variando a concentração de nanopartículas funcionalizadas e de monômero ácido, com resultados considerados aceitáveis até aquele momento. No entanto a prioridade era a obtenção de um novo método de adesão, apenas com nanopartículas funcionalizadas sem a associa-las com o monômero ácido, independente da eficácia dos resultados de adesão. Na ocasião, as nanopartículas funcionalizadas que eram incorporadas nos sistemas adesivos ainda apresentavam as limitações apontadas anteriormente.

Após aprovação do projeto de qualificação e consolidação de um novo método de funcionalização das nanopartículas (método descrito no artigo a seguir apresentado), novos testes de *screening* de concentração de nanopartículas funcionalizadas foram realizados, surgindo problemas em relação à efetividade de união. Era possível observar no teste de resistência de união que após o rompimento dos corpos de prova havia a presença de água na interface de união.

Na tentativa de diminuir os problemas apresentados, principalmente em relação à efetividade de união dos materiais e excesso de água na superfície da dentina após a falha da união, optou-se por avaliar o efeito da incorporação das nanopartículas funcionalizadas em um sistema adesivo autocondicionante de um passo que não continha água na sua formulação (formulação descrita no artigo a seguir apresentado). Estudos prévios (VAN LANDUYT et al., 2008) demonstraram que o monômero ácido do sistema adesivo é capaz de ser ionizado pela água proveniente do substrato dentinário quando utilizado a técnica “*wet bonding*”, que consiste em manter a superfície do substrato úmida antes da aplicação do sistema adesivo.

Diante disso, novos testes de *screening* de concentração de nanopartículas funcionalizadas foram realizados com o sistema adesivo autocondicionante de um passo. Valores muito baixos de adesão e alta variabilidade de valores de resistência

de união à dentina foram encontrados em todos os grupos. Assim, foram realizadas variações da técnica de confecção dos corpos de prova, da umidade da superfície da dentina e do tempo de aplicação do sistema adesivo, não obtendo sucesso.

Optou-se, então, por alterar novamente a formulação dos sistemas adesivos autocondicionantes de um passo, passando estes a conter monômeros ácidos em sua formulação, e por investigar o efeito da adição de nanopartículas funcionalizadas na formulação dos materiais experimentais contendo monômeros ácidos em sua formulação. Diante disso e do tempo hábil, as metodologias de avaliação das propriedades dos materiais foram repensadas e algumas alteradas.

Os resultados obtidos no *screening* de concentração estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores de resistência de união (média  $\pm$  desvio-padrão) do *screening* de concentração dos sistemas adesivos autocondicionantes experimentais de um passo de acordo com a concentração de HEMA-P e nanopartículas funcionalizadas.

|               | Nanopartículas funcionalizadas com monômero ácido, % em massa |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|---------------|---------------------------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|               | 0                                                             | 0,1              | 0,2              | 0,5              | 1                | 2                | 4                | 6                | 8                |
| <b>0%</b>     |                                                               |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>HEMA-P</b> | 0                                                             | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| <b>40%</b>    |                                                               |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>HEMA-P</b> | 6,3<br>$\pm 1,8$                                              | 8,8<br>$\pm 2,6$ | 6,6<br>$\pm 2,6$ | 4,2<br>$\pm 4,1$ | 2,5<br>$\pm 1,4$ | 5,9<br>$\pm 2,9$ | 2,9<br>$\pm 2,3$ | 4,5<br>$\pm 3,3$ | 4,7<br>$\pm 2,7$ |

O sistema adesivo autocondicionante de um passo foi escolhido pelos motivos apontados acima, e também por buscar resolver um problema clínico, melhorar a eficácia e a longevidade de união dos materiais simplificados. Dessa forma, enquanto o projeto inicial era baseado na obtenção de um novo método de adesão, apenas com nanopartículas funcionalizadas sem a associa-las com o monômero ácido, na formulação de sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes experimentais de dois passos, o objetivo no estudo aqui apresentado foi avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas funcionalizadas

associadas ao monômero ácido em sistema adesivo autocondicionante experimental de um passo.

## 2 Artigo<sup>1</sup>

### **Phosphate-grafted-silica nanoparticles as a dentin bonding component.**

Carine T. W. Meereis<sup>a\*</sup>, Fabrício M. Collares<sup>b</sup>, Fabrício A. Ogliari<sup>ac</sup>

<sup>a</sup> Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

<sup>b</sup> Dental Materials Laboratory, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>c</sup> School of Materials Engineering, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

Short title: POOH grafted SiO<sub>2</sub> as filler in one-step adhesives

**\*Corresponding author:**

**Carine Tais Welter Meereis**

**Biomaterials Development and Control Center (CDC-Bio), School of Dentistry,  
Federal University of Pelotas. Rua Gonçalves Chaves, 457, Pelotas, CEP 96015-  
560, RS, Brazil**

**Tel./fax: +55 53 32283705.**

**E-mail address: [carinemeereis@gmail.com](mailto:carinemeereis@gmail.com) (C.T.W. Meereis)**

---

<sup>1</sup> Este trabalho será submetido para a revista *Dental Materials*, e está formatado conforme as normas da revista.

## ABSTRACT

*Objective.* This study investigated the effect of the incorporation of phosphate-grafted-silica nanoparticles ( $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ ) on dentin bond strength and the physical-chemical properties of model one-step self-etching adhesive (1-SEA).

*Methods.* Phosphate was grafted onto the silica nanoparticles through the free radical polymerization of acid phosphate monomer (Methacryloyloxyethyl Dihydrogen Phosphate / Bis (methacryloyloxyethyl) Hydrogen Phosphate – HEMA-P) in an alcoholic medium. The resulting  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  was characterized by using FTIR spectroscopy, TGA, and a TEM micrograph. The  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  were added to 1-SEA with three HEMA-P concentrations (0, 20 and 40% wt.), as the control group an unfilled 1-SEA were formulated. The formulated 1-SEAs were evaluated for microshear bond strength to dentin and classified according to failure mode. Additionally, morphological analysis of bonding interface, contact angle, degree of conversion, rate of polymerization and the cohesive strength were evaluated. Statistical comparisons were conducted at a 5% significance level.

*Results.* The grafting reaction of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  was confirmed by FTIR and TGA. 1-SEA containing  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  had significantly higher shear bond strength values than the non- $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  adhesives ( $p \leq 0.001$ ), except for 1-SEA with 0% of HEMA-P that did not exhibit bonding to the dentin. Compared with its correspondent unfilled 1-SEA, the addition of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  improved the dentin wettability by decreasing the contact angle and, increasing the degree of conversion and rate of polymerization. The cohesive strength, in contrast, was not affected by  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ .

*Significance.*  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  addition could be used to produce 1-SEA with enhanced dentin bond strength without harming the other properties investigated.

Keywords: Graft. Dental adhesives. Dentin bonding agents. Silica. Filler. Graft polymerization. Acidic monomers. Bond strength.

## 1. Introduction

Most clinical studies show a higher rate of loss restoration-retention and inefficient clinical performance for one-step self-etch adhesives (1-SEA) than for multi-step adhesives [1, 2]. Poor adhesion results in a lack of marginal seal, marginal discoloration, tooth sensitivity, and a loss of restoration retention [1-4]. The 1-SEAs were introduced to simplify the clinical procedures; however, simplification so far appears to induce a loss in bonding efficacy under clinical conditions [1, 2]. This inferior clinical performance of these simplified adhesives is directly related to its less favorable laboratory findings [5]. Therefore, an increase in the bonding effectiveness of one-step dental adhesives is desired due to their lower bond strength [6-8] and poor long-term bond stability [9] in comparison to that measured for multi-step adhesives.

The bonding effectiveness to dental tissue is related to a material's ability to promote demineralization of the substrate, resin infiltration, and form a hydrolysis-resistant hybrid layer (a polymer setting and collagen network) [10]. In self-etch adhesives, the micromechanical retention is attributed to the presence of methacrylate monomers modified by acidic functionalities which promote physical-chemical interactions between the adhesive and the tooth surface [11]. However, this acidic monomer may detrimentally affect the polymerization reaction [12] and become hydrolytically unstable in one-bottle materials, [13-15] thus increasing the water sorption and decreasing the mechanical properties of the hybrid layer and bonding stability [10].

Hence, in attempts to solve the bonding stability-related problems, were investigated the control of collagenolytic activity,[16] increased adhesive impregnation into dentin,[10] reduction of polymer hydrophilicity,[17] improved

polymerization,[10, 18] and addition of fillers [19-22]. The addition of small amounts of fillers into dental adhesive produces a hybrid layer that is less prone to degradation [23]. Thus, the water sorption decreases and the material properties increase [24]. Likewise, the surface of these inorganic particles allow for the modification by polymers through grafting polymerization to produce functional groups on the surface of particles with synergistic and desired properties [25-28]. In this study, the surface of silica nanoparticles ( $\text{SiO}_2$ ) was modified with methacrylate monomers modified by acidic functionalities which consist of phosphate groups ( $\text{POOH}$ ). These phosphate acidic functional groups could interact with the calcium ions of hydroxyapatite to promote the dentin-resin adhesion [29]. It has been reported that this additional chemical interaction could improving the bond durability [11].

Therefore, improving the material's properties and enhancing the physical-chemical interaction of tooth-adhesive will lead to a more durable restorative treatment [10, 11]. However, despite the possible effect of phosphate acidic functional groups grafted on silica surface ( $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ ) added as a constituent of adhesive, there is no evidence in the literature regarding the impact of this component on the formulation, tooth adhesion, and other properties. Therefore, the purpose of this study was to develop a new hybrid organic-inorganic particle,  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ , to be used as a filler in one-step adhesive.  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  synthesis and characterization were performed and the effect of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  incorporation on dentin bonding effectiveness and the physical-chemical properties of 1-SEA were evaluated. The hypothesis tested was that the incorporation of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  improved the bonding effectiveness of the 1-SEA without jeopardizing the other material properties.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials

The silica nanoparticles ( $\text{SiO}_2$  – Aerosil® 380 / 7 nm average size, Degussa, Germany) were silanized by gamma-methacryloxypropyltrimethoxysilane ( $\gamma$ -MPTS – Aldrich Chemical Co., USA) and grafted by acidic phosphate monomer (Methacryloyloxyethyl Dihydrogen Phosphate / Bis (methacryloyloxyethyl) Hydrogen Phosphate – HEMA-P) that was synthesized as previously described [30]. Acetic acid, benzoyl peroxide (BPO), acetone, and ethanol were purchased from Vetec, Brazil and used as received. Distilled water was used throughout all of the experiments. The experimental 1-SEAs were formulated by monomers 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxy propyl)phenyl]-propane (Bis-GMA), (di)methacrylate monomers urethane dimethacrylate (UDMA), 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and trietilenglicol dimethacrylate (TEGDMA) which were supplied by Esstech Inc., USA, and used as received. The photosensitizer, camphorquinone (CQ – Esstech), as well as the co-initiator ethyl 4-(dimethylamino) benzoate (EDAB) and diphenyliodonium hexafluorophosphate (DPIHFP), were purchased from Aldrich Chemical Co, USA, and used to render the materials photocurable.

### 2.2 Methods

#### 2.2.1.1. Graft polymerization of phosphate onto the $\text{SiO}_2$ nanoparticle

In a 500-mL round-bottom vessel connected to a reflux condenser,  $\gamma$ -MPTS and acetic acid (10 and 15% wt. of the nanoparticles wt., respectively) were dissolved in 15 mL of distilled water and 150 mL of ethanol. 5 g of  $\text{SiO}_2$  was added to this mixture. The temperature was held at 80 °C for 24 h while being vigorously stirred. The acidic phosphate monomer HEMA-P and BPO as radical initiator (15 and 1% wt. of the



nanoparticles wt., respectively) were then added to the reaction medium. The temperature was maintained at 80 °C while stirring. The polymerization reaction was left to take place for 24 h. The product was washed with acetone three times to remove the unreacted monomers and dried at room temperature for 24 h, resulting in silica powder with phosphate-functional groups at their surface ( $\text{SiO}_2\text{--POOH}$ ). The graft polymerization of phosphate onto the  $\text{SiO}_2$  nanoparticle is summarized in Fig. 1.

#### *2.2.1.2. Particles' characterization*

The  $\text{SiO}_2\text{--POOH}$  were analyzed by Fourier transform mid-infrared (FTIR) spectroscopy (Prestige-21; Shimadzu, Japan) at a resolution of  $4\text{ cm}^{-1}$  and 24 scans in the range of  $700\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$ . The  $\text{SiO}_2$  was used as background before the  $\text{SiO}_2\text{--POOH}$  analysis to avoid overlapping the peaks between  $500$  and  $1500\text{ cm}^{-1}$ . Thermogravimetric analyses (SDT Q600; TA Instruments Ltd., USA) of the HEMA-P,  $\text{SiO}_2$  and  $\text{SiO}_2\text{--POOH}$  were performed from room temperature to  $900\text{ }^\circ\text{C}$  at a heating rate of  $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}^{-1}$  under  $\text{N}_2$  atmosphere. Transmission electron microscopy (TEM – JEM 120 EX II; JEOL Ltd., Japan) was used to evaluate the morphology of the  $\text{SiO}_2$  and  $\text{SiO}_2\text{--POOH}$  powder.

#### *2.2.2.1. Experimental one-step self-etch adhesive (1-SEA) formulations*

A model 1-SEA was prepared through intensive mixing of Bis-GMA (42.5% wt.), HEMA (38% wt.), TEGDMA (8.5% wt.), UDMA (8.5% wt.); and a ternary initiation system CQ (0.5% wt.), EDAB (1% wt.) and DPIHFP (1% wt.). 1-SEA with three different acidic phosphate monomer concentrations (HEMA-P at 0, 20 and 40% wt.) were prepared.  $\text{SiO}_2\text{--POOH}$  was added to the 1-SEA in 0.1% wt. As a control group, 1-SEA without  $\text{SiO}_2\text{--POOH}$  was used. Thus, six varied experimental groups were

evaluated in which the HEMA-P concentration/with or without SiO<sub>2</sub>-POOH: filled 1-SEA (HEMA-P<sub>40</sub>/SiO<sub>2</sub>-POOH, HEMA-P<sub>20</sub>/SiO<sub>2</sub>-POOH and HEMA-P<sub>0</sub>/SiO<sub>2</sub>-POOH) and unfilled 1-SEA (HEMA-P<sub>40</sub>/NO, HEMA-P<sub>20</sub>/NO and HEMA-P<sub>0</sub>/NO). To perform monomer photoactivation, a light-emitting diode unit (LED – Radii; SDI, Australia) was used. An irradiation value of 1400 mW/cm<sup>2</sup> was confirmed with a power meter (Ophir Optronics, USA).

#### *2.2.2.2. Microshear bond strength to dentin and SEM fractographic analysis*

Sixty bovine incisors were embedded in epoxy resin and their buccal faces were wet-ground to expose the dentin medium. The element tooth was used as a sample unit (n=10). The dentin surfaces were wet-polished with 600-grit SiC abrasive papers for 60 s. Dentin moisture was controlled with absorbent paper until no surface water was observed. The 1-SEAs were vigorously applied to the prepared dentin surfaces for 20 s by using a microbrush; elastomer molds (thickness 0.5 mm) with a cylindrical orifice (diameter 1.5 mm) were placed onto the adhesive layer and light-activated for 30 s. The orifices were filled with the resin composite (Filtek Z250, 3M ESPE, USA) with bonded area of 1.77 mm<sup>2</sup>; the molds were covered with a polyester strip and a glass slide and the resin composite was photoactivated for 40 s. After storage in distilled water at 37 °C for 24 h, a thin steel wire (diameter 0.2 mm) was looped around the cylinder and aligned with the bonding interface. The shear test was conducted at a crosshead speed of 0.5 mm/min until failure in a universal testing machine (EMIC DL 500, Brazil). Microshear bond strength (μSBS) values were calculated in MPa. All of the specimens that were tested were analyzed for the failure mode by using a stereomicroscope at a magnification of 40×. The failure modes were classified as pre-testing failure, adhesive, cohesive failure within resin, cohesive failure within

dentin and mixed failure, when there is more than one type of failure. Representative failed specimens were selected by scanning electron microscopy (SEM – JEOL; JSM-6610/LB, USA) for examination.

#### *2.2.2.3. Morphological analysis of the bonding interfaces*

Two 2 mm-thick dentin discs were obtained from the mid-coronal portion of the bovine incisors by using a diamond saw under running water. The dentin surfaces were wet-polished with 600-grit SiC abrasive papers for 60 s to standardize the smear layer, and the experimental 1-SEAs were applied as previously described. A thin layer of light-activated resin composite (Filtek Z250, 3M ESPE) was applied, and the two dentin discs were bonded to each other to form a dentin-composite-dentin sandwich specimen. The bonded specimens were stored in distilled water at 37 °C for 24 h. The specimens were then vertically sectioned at the bonding interface and embedded in cold-cure polyester resin (Fiberglass; Brazil). After 24 h, the surfaces were wet-polished with 600, 1200, 1500, 2000, and 2500-grit SiC abrasive papers, and 3, 1, 0.25 and 0.1 µm polycrystalline diamond suspensions (Metadi Supreme; Buehler). The specimens were ultrasonically cleansed for 10 min between each polishing step. The surfaces were etched with a 50% phosphoric acid solution for 5 s, rinsed with distilled water for 30 s and deproteinized by immersion in a 2.5% NaOCl solution for 10 min. After ultrasonic cleansing for 1 h, the specimens were dry-stored in a container with silica gel for 24 h at room temperature. The specimens were coated with gold and the bonding interfaces were examined by SEM (JEOL).

#### 2.2.2.4. *Dynamic contact angle*

The contact angle of the experimental materials was measured by using an Optical Tensiometer (Theta Lite TL101, Biolin Scientific Inc., Finland) with a sessile drop method. Standardized drops of the experimental materials (5  $\mu\text{L}$ ) were directly dispensed onto the dentin surface. The dentin surface was prepared as previously described and the dentin moisture was controlled with absorbent paper until no surface water was observed. Immediately after placing the drop onto the dentin surface, a dynamic reading of the right and left contact angle was taken in real time by One Attension software (Biolin Scientific Inc) while using 20 frames per second for 20 s. The contact angle ( $^{\circ}$ ) was recorded as the mean between the right and left readings (n=3).

#### 2.2.2.5 *Kinetics of polymerization by RT-FTIR spectroscopy*

The reaction of the polymerization of the experimental materials was evaluated by using real-time FTIR spectroscopy (Shimadzu) with an attenuated total reflectance device that was composed of a horizontal diamond crystal. To evaluate the degree of conversion (DC) and rate of polymerization ( $R_p$ ), the experimental materials (n=3) were dispensed on the diamond crystal ( $\sim 3\mu\text{L}$ ). A reading for the material was taken by using a setup monitoring scan mode by IRsolution software (SHIMADZU, USA), at a rate of 1 scan per second and a  $4\text{ cm}^{-1}$  resolution. The sample scanning was performed simultaneously with the photoactivation for 30 s. The DC (%) and  $R_p$  ( $\%/s^{-1}$ ) were calculated as previously described [31] while considering the data-curve fitting that was performed by Hill's three-parameter non-linear regression.

#### *2.2.2.6. Cohesive strength*

Specimens that were 10.0 mm long, 10.0 mm wide and 1.0 mm thick were produced by using a metallic mold. Ten dumbbell-shaped specimens with a cross-sectional constriction area of  $\pm 1.0 \text{ mm}^2$  were made for each 1-SEA. The specimens were light cured for 30 s on both the top and bottom surfaces. Thereafter, the area of the constriction zone was measured with a digital caliper. The specimens were dry-stored for 24 h at room temperature. Afterwards, they were fixed in the metallic device with a cianoacrylate-based glue and tested by ultimate tensile strength in a universal testing machine (EMIC DL 500) at a 0.5 mm/min crosshead speed until fracture. The cohesive strength was calculated and expressed in MPa (n=10).

#### *2.2.2.7. Statistical analysis*

The  $\mu$ SBS and degree of conversion data were submitted to one-way Analysis of Variance and the Holm-Sidak test. The cohesive strength data was submitted to Kruskal-Wallis one-way Analysis of Variance and the Tukey test. A 5% significance level was set for all analyses. Correlation between variables  $\mu$ SBS, degree of conversion and cohesive strength were investigated using Pearson product moment correlation (SigmaPlot 12, Systat Software, USA).

### 3. Results

Fig. 2 shows the FTIR spectra of the SiO<sub>2</sub>-POOH, thus illustrating the characteristic peaks of the POOH which confirm the functionalization. The SiO<sub>2</sub> sample was used as the background prior the SiO<sub>2</sub>-POOH analysis to avoid peaks' overlapping between 500 and 1500 cm<sup>-1</sup>. SiO<sub>2</sub>-POOH shows the appearance of three characteristic peaks at about 801, 1053 and 1730 cm<sup>-1</sup>, which are assigned to the POOH functional group [30]. The organic content of the surface-modified SiO<sub>2</sub> nanoparticles was assessed by TGA. Fig. 3 shows the respective weight loss curves as a function of temperature for the SiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>-POOH, and HEMA-P monomer. The SiO<sub>2</sub>-POOH shows a higher mass loss than that of the SiO<sub>2</sub>. Subtracting the weight loss of SiO<sub>2</sub> (≈26% wt. at 900 °C), the amount of grafted POOH was calculated about a 12% wt. Fig. 4 shows TEM micrographs of SiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub>-POOH.

The results for the dentin bond strength and failure mode are shown in Table 1. Compared with the unfilled 1-SEA, the addition of SiO<sub>2</sub>-POOH resulted in a significant dentin bond strength increase of the filled 1-SEA for all HEMA-P concentrations ( $p \leq 0.001$ ), except for 0% of HEMA-P that did not exhibit bonding to the dentin. The HEMA-P<sub>40</sub>/SiO<sub>2</sub>-POOH showed significantly higher bond strengths than the correspondent unfilled 1-SEA HEMA-P<sub>40</sub>/NO and similar than the HEMA-P<sub>20</sub>/SiO<sub>2</sub>-POOH. The failure analysis indicated the occurrence of mostly mixed failure for filled 1-SEA and interfacial (adhesive) failure for unfilled 1-SEA. The SEM micrographs of the representative failed specimens in the  $\mu$ SBS test are illustrated in Fig. 5. The SEM micrographs of the morphological analysis of the bonding interfaces are shown in Fig. 6.

The filled 1-SEA showed less of a contact angle than the correspondent unfilled 1-SEA (Fig. 7). The results for the kinetics of polymerization are shown in Fig. 8. The

addition of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  in 1-SEA had no harm the degree of conversion values; however, a decrease in the degree of conversion is observed with the increase of the HEMA-P concentration [Fig. 8 (A)]. The rate of polymerization, in contrast, was improved by the incorporation of the  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  in the filled 1-SEA, resulting in a faster polymerization in an acid medium than the correspondent unfilled 1-SEA [Fig. 8 (B)]. The increase in the HEMA-P concentration also has an inhibitory effect in the rate of polymerization of the filled and unfilled 1-SEA. The results for the physical-chemical properties of the 1-SEAs are shown in Table 2. The filled 1-SEA HEMA- $\text{P}_0/\text{SiO}_2\text{-POOH}$  showed the highest cohesive strength value ( $p = 0.009$ ); the HEMA- $\text{P}_{40}/\text{SiO}_2\text{-POOH}$  and HEMA- $\text{P}_{20}/\text{SiO}_2\text{-POOH}$  showed similar cohesive strength as the correspondent unfilled 1-SEA, HEMA- $\text{P}_{40}/\text{NO}$  and HEMA- $\text{P}_{20}/\text{NO}$ , respectively. The degree of conversion, in contrast, was significantly improved in the filled 1-SEA HEMA- $\text{P}_{40}/\text{SiO}_2\text{-POOH}$  and HEMA- $\text{P}_{20}/\text{SiO}_2\text{-POOH}$ , in comparison to the correspondent unfilled 1-SEA HEMA- $\text{P}_{40}/\text{NO}$  and HEMA- $\text{P}_{20}/\text{NO}$ , respectively ( $p \leq 0.001$ ).

According to Pearson product moment correlation, a significantly low inverse correlation was found between the means of bond strength and the cohesive strength (Pearson product-moment correlation coefficient -  $R = -0.34$ ,  $p = 0.004$ ), while a moderate significant inverse correlation was found between bond strength and the degree of conversion ( $R = -0.54$ ,  $p = 0.01$ ). We did not find a significant correlation between cohesive strength and the degree of conversion ( $p = 0.08$ ).

#### 4. Discussion

The grafting of POOH on the SiO<sub>2</sub> nanoparticles was carried out in an alcoholic solution with a silane-coupling agent. The SiO<sub>2</sub> was dispersed in ethanol in the presence of a  $\gamma$ -MPTS (silane-coupling agent), which has silanol and acrylate end groups in the structure. The  $\gamma$ -MPTS reacts with the hydroxyl groups (OH) from SiO<sub>2</sub> via its hydrolyzed alkoxysilane groups (Si-OH) to form covalent siloxane bonds (Si-O-Si-), and also to provide active sites for graft copolymerization via its acrylate end functional group [32]. The polymerization of the acidic phosphate monomer HEMA-P in the presence of SiO<sub>2</sub>,  $\gamma$ -MPTS, and a free radical initiator, PB, leads to both graft polymerization involving the acrylate groups of  $\gamma$ -MPTS and HEMA-P (Fig. 1).

The covalent linkage between acrylates groups of  $\gamma$ -MPTS and HEMA-P could occur by the breaking of double bond C=C in free radical polymerization, and evidence of this polymerization is an absence of the characteristic peak at 1636 cm<sup>-1</sup> corresponding to C=C [22] in FTIR investigation (Fig. 2). The SiO<sub>2</sub>-POOH sample showed characteristic peaks at 801, 1053 and 1730 cm<sup>-1</sup>, corresponding to aliphatic binding of P-O-C, P-OH and OH-P=O (single OH) functional group of HEMA-P structure [30]. As the SiO<sub>2</sub> sample was used as background prior the SiO<sub>2</sub>-POOH analysis, the significant stretch vibration of Si=O=Si bond at 1098 cm<sup>-1</sup> and SiOH at 793 cm<sup>-1</sup> cannot be observed, thus indicating that POOH grafting has occurred on SiO<sub>2</sub> surface [33]. According to the TGA, SiO<sub>2</sub> shows less mass loss than that of the SiO<sub>2</sub>-POOH, which indicates that the amount of POOH grafted onto the SiO<sub>2</sub> is about 12 % (Fig. 3). The weight loss of up to 100 °C is due to the loss of unbound water in SiO<sub>2</sub>, followed by a broad region of weight loss that corresponds to its dehydroxylation process [34]. The SiO<sub>2</sub>-POOH had no sharp weight loss for degradation of POOH grafted, which is probably due to the thermal stabilization



effect of polymer on the  $\text{SiO}_2$  [35]. The higher weight loss of the  $\text{SiO}_2$ -POOH is observed at about 100–300 and 500–600 °C regions, which are in agreement with presented thermal decomposition of the monomer HEMA-P. Moreover, in the micrographs (Fig. 4), it is evident that the  $\text{SiO}_2$ -POOH has a smoother surface than the  $\text{SiO}_2$ . It also has a halo surrounding its particles, which can be attributed to the POOH grafted on the  $\text{SiO}_2$  surface.

The addition of  $\text{SiO}_2$ -POOH to 1-SEA improved the bonding strength to the dentin (Table 1), except for HEMA- $P_0$ -materials. It is known that the 1-SEA requires acidic monomers, such as HEMA-P, to promote demineralization and infiltration in a dental substrate [11] and that without HEMA-P, the HEMA- $P_0$ /  $\text{SiO}_2$ -POOH and HEMA- $P_0$ /NO are not able to perform a micro-mechanical interlocking and, consequently, bond to dentin. However, these experimental groups contributed to clarify that POOH grafted on  $\text{SiO}_2$  nanoparticles alone does not act as a self-etching agent. The addition of  $\text{SiO}_2$ -POOH in 1-SEA with HEMA-P, in contrast, resulted in an increased adhesion to dentin. The HEMA- $P_{40}$ / $\text{SiO}_2$ -POOH showed significantly higher bond strengths than the correspondent unfilled 1-SEA HEMA- $P_{40}$ /NO and was similar to the HEMA- $P_{20}$ / $\text{SiO}_2$ -POOH. The reason for the higher bonding potential of filled 1-SEA is thought to be two-fold: It may be attributed to the increased dentin wettability and the additional chemical attachment between the  $\text{SiO}_2$ -POOH and the dentin. The addition of small amounts of  $\text{SiO}_2$ -POOH into dental adhesive produced a smaller contact angle between the dentin surface and the filled 1-SEA, thereby increasing the wettability and impregnation of monomers within the dentin. Moreover, the POOH<sup>-</sup> on solid  $\text{SiO}_2$  particles then started an additional chemical attachment with  $\text{Ca}^{2+}$  ions of the hydroxyapatite from the demineralized dentin [11]. These effects, however, should be addressed in future studies. The occurrence of mostly

mixed failure for the filled 1-SEA, the good penetration of adhesive into the dentin tubules and the presence of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  on the dentin surface after the shear test confirms this strong adhesion. As the nanofillers form clusters easily and become too large to infiltrate the interfibrillar spaces between the exposed collagen fibrils (20 nm), they were found to be predominantly distributed within the adhesive layer and the tubular orifices [23]. Although unfilled 1-SE also is able to penetrate into the intertubular dentin matrix to provide a micromechanical interlocking, the interfacial debonding failure (most prevalent) shows exposed dentinal tubules and a lack of resin tags that confirm its poor retention.

Surprisingly, an increase in the degree of conversion and the rate of polymerization of the  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ /materials compared with the correspondent unfilled 1-SEA may be observed. However, the polymerization reaction of the 1-SEA might be strongly linked to the HEMA-P concentration, which has detrimental effects on free-radical photopolymerization. It is known that acidic monomers are less reactive than unmodified methacrylate, due to a deactivating effect of the acidic groups on free radicals, [12] thus yielding a lower polymerization rate and degree of conversion for the 1-SEA in comparison to the model resin-adhesive [31]. However, this acidic monomer was crucial to form a micro-mechanical interlocking between the adhesive and the dental substrate [11]. The bonding effectiveness of the 1-SEA had an inverse correlation with the polymerization reaction, thus showing that the HEMA- $\text{P}_{40}/\text{SiO}_2\text{-POOH}$  had the highest bond strength and a low degree of conversion and rate of polymerization, while both properties of the HEMA- $\text{P}_{20}/\text{SiO}_2\text{-POOH}$  were satisfactory. The partially cured adhesives were more permeable to fluid movement [36], thereby expediting water sorption and compromising the long-term integrity of the polymer [10]. The increased degree of conversion and polymerization rate, in

contrast, enhanced the polymer cross-linking of the adhesive layer, leaving a low level of unreacted monomers and decreasing water uptake and the hydrolytic degradation of the material in the long-term [24]. Thus, a more stable adhesive interface over time could be expected for 1-SEAs with  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ .

The mechanical properties of the adhesives are strongly improved by the addition of a silanized inorganic filler [19], which increases the polymer strength through the binding between this silanized filler and the polymeric matrix [37]. Incorporation of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ , however, had no effect on the cohesive strength. This finding is explained by the addition of the low filler concentration (0.1% wt.) and the poor interaction between the polymeric matrix and the  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ . Low filler concentration has not been associated with a mechanical improvement of a one-bottle adhesive; nanofiller-loaded adhesives have a tendency to increase the polymer mechanical strength with increasing nanoparticle content, above 1% wt. [21]. Moreover, phosphate functional groups on fillers' surfaces are not able to perform a covalent linkage with acrylates groups [12] from a polymeric matrix of the 1-SEA by free-radical polymerization.

The present results indicate that the addition of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  associated with acidic monomer in the 1-SEA were able to generate improved dentin bond strength with a slight increase in dentin wettability and polymerization efficiency, compared to the correspondent unfilled 1-SEA, without a significant effect in mechanical strength. However, 1-SEAs with  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  and without an acidic monomer cannot bond to dentin. Therefore, the tested hypothesis should be partially accepted. As the polymer strength was not associated with the high bonding effectiveness of the adhesives, we believe that the improved bond strengths of the filled 1-SEA should be solely associated with its increased dentin wettability and the additional chemical

attachment between the  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  and the dentin. Care should be taken, however, when adding a high fraction of  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  to 1-SEA (unpublished data) to avoid nanofiller clusters, and consequently, the decreased penetration of the adhesive, leading to a decrease in the bonding effectiveness decrease. It is in agreement with other studies that also showed a high level of bond strength to dentin with the addition of a small amount of filler to the adhesive [21, 25-27]. Under clinical conditions, the use of 1-SEA with optimal bonding efficacy could improve the clinical service of restorations, as well as render a clinical procedure simpler, more user-friendly, and less technique-sensitive.

## 5. Conclusion

SiO<sub>2</sub>-POOH was easily obtained through the graft polymerization of phosphate onto the SiO<sub>2</sub> surface. The addition of the SiO<sub>2</sub>-POOH associated with acidic monomer to 1-SEA was crucial for increasing the bonding effectiveness. Its addition as a dentin bonding component may lead to improved bond strength without dramatically affecting other material properties.

## References

- [1] Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2005;21:864-81.
- [2] Peumans M, De Munck J, Mine A, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives for the restoration of non-carious cervical lesions. A systematic review. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2014;30:1089-103.
- [3] Brannstrom M. Etiology of dentin hypersensitivity. *Proceedings of the Finnish Dental Society Suomen Hammaslaakariseuran toimituksia*. 1992;88 Suppl 1:7-13.
- [4] Heintze SD. Systematic reviews: I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II. The correlation between marginal quality and clinical outcome. *The journal of adhesive dentistry*. 2007;9 Suppl 1:77-106.
- [5] Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2010;26:e100-21.
- [6] Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P, et al. Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *The journal of adhesive dentistry*. 2009;11:175-90.
- [7] Sadek FT, Goracci C, Cardoso PE, Tay FR, Ferrari M. Microtensile bond strength of current dentin adhesives measured immediately and 24 hours after application. *The journal of adhesive dentistry*. 2005;7:297-302.
- [8] Munoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *Journal of dentistry*. 2013;41:404-11.
- [9] Foxton RM, Melo L, Stone DG, Pilecki P, Sherriff M, Watson TF. Long-term durability of one-step adhesive-composite systems to enamel and dentin. *Operative dentistry*. 2008;33:651-7.
- [10] Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2008;24:90-101.
- [11] Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2011;27:17-28.
- [12] Adusei G, Deb S, Nicholson JW, Mou L, Singh G. Polymerization behavior of an organophosphorus monomer for use in dental restorative materials. *Journal of Applied Polymer Science*. 2003;88:565-9.
- [13] Sadr A, Ghasemi A, Shimada Y, Tagami J. Effects of storage time and temperature on the properties of two self-etching systems. *Journal of dentistry*. 2007;35:218-25.
- [14] Fujita K, Nishiyama N. <sup>13</sup>C NMR analysis of the etching efficacy of acidic monomers in self-etching primers. *Journal of dentistry*. 2006;34:123-33.
- [15] Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. *The journal of adhesive dentistry*. 2005;7:107-16.

- [16] Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*. 2003;24:3795-803.
- [17] Collares FM, Ogliari FA, Zanchi CH, Petzhold CL, Piva E, Samuel SM. Influence of 2-hydroxyethyl methacrylate concentration on polymer network of adhesive resin. *The journal of adhesive dentistry*. 2011;13:125-9.
- [18] Leal FB, Lima GS, Collares FM, Samuel SM, Petzhold CL, Piva E, et al. Iodonium salt improves the dentin bonding performance in an experimental dental adhesive resin. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 2012;38:1-4.
- [19] Conde MC, Zanchi CH, Rodrigues-Junior SA, Carreno NL, Ogliari FA, Piva E. Nanofiller loading level: Influence on selected properties of an adhesive resin. *Journal of dentistry*. 2009;37:331-5.
- [20] Habekost LV, Camacho GB, Lima GS, Ogliari FA, Cubas GB, Moraes RR. Nanoparticle loading level and properties of experimental hybrid resin luting agents. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*. 2012;21:540-5.
- [21] Kim J-S, Cho B-H, Lee I-B, Um C-M, Lim B-S, Oh M-H, et al. Effect of the hydrophilic nanofiller loading on the mechanical properties and the microtensile bond strength of an ethanol-based one-bottle dentin adhesive. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2005;72B:284-91.
- [22] Leitune VC, Collares FM, Takimi A, de Lima GB, Petzhold CL, Bergmann CP, et al. Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin. *Journal of dentistry*. 2013;41:106-13.
- [23] Tay FR, Moulding KM, Pashley DH. Distribution of nanofillers from a simplified-step adhesive in acid-conditioned dentin. *The journal of adhesive dentistry*. 1999;1:103-17.
- [24] Hosaka K, Nakajima M, Takahashi M, Itoh S, Ikeda M, Tagami J, et al. Relationship between mechanical properties of one-step self-etch adhesives and water sorption. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2010;26:360-7.
- [25] Atai M, Solhi L, Nodehi A, Mirabedini SM, Kasraei S, Akbari K, et al. PMMA-grafted nanoclay as novel filler for dental adhesives. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2009;25:339-47.
- [26] Solhi L, Atai M, Nodehi A, Imani M. A novel dentin bonding system containing poly(methacrylic acid) grafted nanoclay: synthesis, characterization and properties. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2012;28:1041-50.
- [27] Solhi L, Atai M, Nodehi A, Imani M, Ghaemi A, Khosravi K. Poly(acrylic acid) grafted montmorillonite as novel fillers for dental adhesives: synthesis, characterization and properties of the adhesive. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2012;28:369-77.
- [28] Kim S, Kim E, Kim S, Kim W. Surface modification of silica nanoparticles by UV-induced graft polymerization of methyl methacrylate. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2005;292:93-8.
- [29] Fu B, Sun X, Qian W, Shen Y, Chen R, Hannig M. Evidence of chemical bonding to hydroxyapatite by phosphoric acid esters. *Biomaterials*. 2005;26:5104-10.
- [30] Lima Gda S, Ogliari FA, da Silva EO, Ely C, Demarco FF, Carreno NL, et al. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. *The journal of adhesive dentistry*. 2008;10:167-72.

- [31] Meereis CT, Leal FB, Lima GS, de Carvalho RV, Piva E, Ogliari FA. BAPO as an alternative photoinitiator for the radical polymerization of dental resins. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2014;30:945-53.
- [32] Antonucci JM, Dickens SH, Fowler BO, Xu HHK, McDonough WG. Chemistry of silanes: interfaces in dental polymers and composites. *J Res Natl Inst Stand Technol*. 2005;110:541–58.
- [33] Mahmood N, Khan MS, Khan AU, Stockelhuber KW, Heinrich G. Purification, surface modification of coal ash silica and its potential application in rubber composites. *Journal of Applied Polymer Science*. 2010;117:1493-501.
- [34] Lemus MAA, Castañeda OJO, Pérez ADH, González RL. An alcohol-free SiO<sub>2</sub> sol-gel matrix functionalized with acetic acid as drug reservoir for the controlled release of pentoxifylline. *J Nanomater*. 2014;2014:8.
- [35] Zheng K, Chen L, Li Y, Cui P. Preparation and thermal properties of silica-graft acrylonitrile-butadiene-styrene nanocomposites. *Polymer Engineering & Science*. 2004;44:1077–82.
- [36] Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, et al. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *European journal of oral sciences*. 2005;113:525-30.
- [37] Sideridou ID, Karabela MM. Effect of the amount of 3-methacyloxypropyltrimethoxysilane coupling agent on physical properties of dental resin nanocomposites. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2009;25:1315-24.



**Acknowledgements**

CTWM is grateful to CAPES/Brazil for the scholarship. The author thanks Angelus Ind. Ltda for the donation of the SiO<sub>2</sub> nanoparticles; CEME-SUL (Federal University of Rio Grande, Brazil) for the MEV analysis; and LAMAD and CME (Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil) for the TGA and TEM analysis.

**Conflict of Interest**

The authors declare that they have no conflict of interest.

## Tables

**Table 1.** Means (standard deviations) for the microshear bond strength ( $\mu$ SBS) to dentin and failure mode.

| 1-SEA                                        | $\mu$ SBS<br>(MPa)      | Failure Mode (%) |          |             |
|----------------------------------------------|-------------------------|------------------|----------|-------------|
|                                              |                         | Mixed            | Adhesive | Pre-testing |
| HEMA-P <sub>40</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH | 9.0 (2.1) <sup>a</sup>  | 55               | 45       | 0           |
| HEMA-P <sub>20</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH | 6.6 (2.1) <sup>ab</sup> | 65               | 35       | 0           |
| HEMA-P <sub>40</sub> /NO                     | 6.3 (1.8) <sup>b</sup>  | 25               | 75       | 0           |
| HEMA-P <sub>20</sub> /NO                     | 4.7 (1.9) <sup>b</sup>  | 20               | 80       | 0           |

Distinct letters indicate significant differences for experimental one-step self-etching adhesive (1-SEA) ( $P < 0.05$ ). \* It was not possible to test any specimens for HEMA-P<sub>0</sub>/SiO<sub>2</sub>-POOH and HEMA-P<sub>0</sub>/NO as all pre-testing failure.

**Table 2.** Means (standard deviations) for the physico-chemicals properties tested.

| 1-SEA                                        | Cohesive strength (MPa)   | Degree of Conversion* (%) |
|----------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| HEMA-P <sub>40</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH | 46.2 (12.9) <sup>ab</sup> | 44.1 (1.1) <sup>d</sup>   |
| HEMA-P <sub>20</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH | 44.4 (10.8) <sup>ab</sup> | 59.8 (1.4) <sup>b</sup>   |
| HEMA-P <sub>0</sub> /SiO <sub>2</sub> -POOH  | 56.0 (9.5) <sup>a</sup>   | 65.9 (1.7) <sup>a</sup>   |
| HEMA-P <sub>40</sub> /NO                     | 37.0 (5.3) <sup>b</sup>   | 36.2 (2.1) <sup>e</sup>   |
| HEMA-P <sub>20</sub> /NO                     | 41.6 (16.4) <sup>ab</sup> | 56.6 (0.6) <sup>c</sup>   |
| HEMA-P <sub>0</sub> /NO                      | 47.4 (8.1) <sup>ab</sup>  | 65.7 (0.4) <sup>a</sup>   |

For each property, distinct letters indicate significant differences for experimental one-step self-etching adhesive (1-SEA) ( $P < 0.05$ ). \*Degree of conversion after 30 s of photo-activation.

## Figure legends

**Figure 1.** Schematic representation of graft polymerization of the phosphate on an  $\text{SiO}_2$  nanoparticle. Silanization (a) followed by grafting (b) with the acid phosphate monomer HEMA-P.

**Figure 2.** FTIR spectra of  $\text{SiO}_2$ -POOH.

\*The  $\text{SiO}_2$  sample was used as background prior the  $\text{SiO}_2$ -POOH analysis to avoid peaks' overlapping between 500 and  $1500\text{ cm}^{-1}$ .

**Figure 3.** TGA thermograms of the  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ -POOH and HEMA-P monomer.

**Figure 4.** TEM micrographs of the  $\text{SiO}_2$  and grafted  $\text{SiO}_2$ -POOH. The formation of clusters that are made of nanoparticles can be observed in  $\text{SiO}_2$  (arrows) and the same morphologic pattern can be observed in  $\text{SiO}_2$ -POOH. Compared with the  $\text{SiO}_2$ , we could observe that the  $\text{SiO}_2$ -POOH had a smoother surface than the other and had a halo surrounding its particles (arrows), suggesting that this appearance can be attributed to phosphate grafted on the nanoparticles' surface.

**Figure 5.** SEM micrographs of the fracture area in the microshear bond strength test. (A-1) and (B-1) shows a mixed failure from filled and unfilled 1-SEA (HEMA- $\text{P}_{20}$ / $\text{SiO}_2$ -POOH and HEMA- $\text{P}_{40}$ /NO, respectively) and (A-2) and (B-2) shows the corresponding interface dentin-adhesive in higher magnification. (A-2) The area for 1-SEA containing the  $\text{SiO}_2$ -POOH, thus representing good penetration of the adhesive into dentin tubules and  $\text{SiO}_2$ -POOH particles could be observed in the hybrid layer. (B-2) The area for the unfilled 1-SEA is observed the lack of complete penetration. Abbreviations: Ar, adhesive resin; Hy, hybrid layer; Dt, dentinal tubule.

**Figure 6.** SEM micrographs of the morphological analysis of the bonding interfaces for filled and unfilled 1-SEA. (A) HEMA- $\text{P}_{40}$ / $\text{SiO}_2$ -POOH, (B) HEMA- $\text{P}_{40}$ /NO, (C) HEMA- $\text{P}_{20}$ / $\text{SiO}_2$ -POOH and (D) HEMA- $\text{P}_{20}$ /NO show a limited interaction with the dentin. No appreciable differences in the homogeneity and continuity of the hybrid layer were detected along the bonding interface between the materials. A few and short resin-tags (arrow) can be observed in the dentinal tubules. (E) HEMA- $\text{P}_0$ / $\text{SiO}_2$ -POOH and (F) HEMA- $\text{P}_{40}$ /NO show a huge gap between the dentin-resin interface. The hybrid layer and resin-tags cannot be detected. Abbreviations: CR, composite resin; Ar, adhesive resin; Hy, hybrid layer; Dt, dentinal tubule; G, gap.

**Figure 7.** Contact angle of the 1-SEAs.

**Figure 8.** Kinetics of polymerization of the 1-SEAs. (A) Degree of conversion and (B) rate of polymerization.

## FIGURES

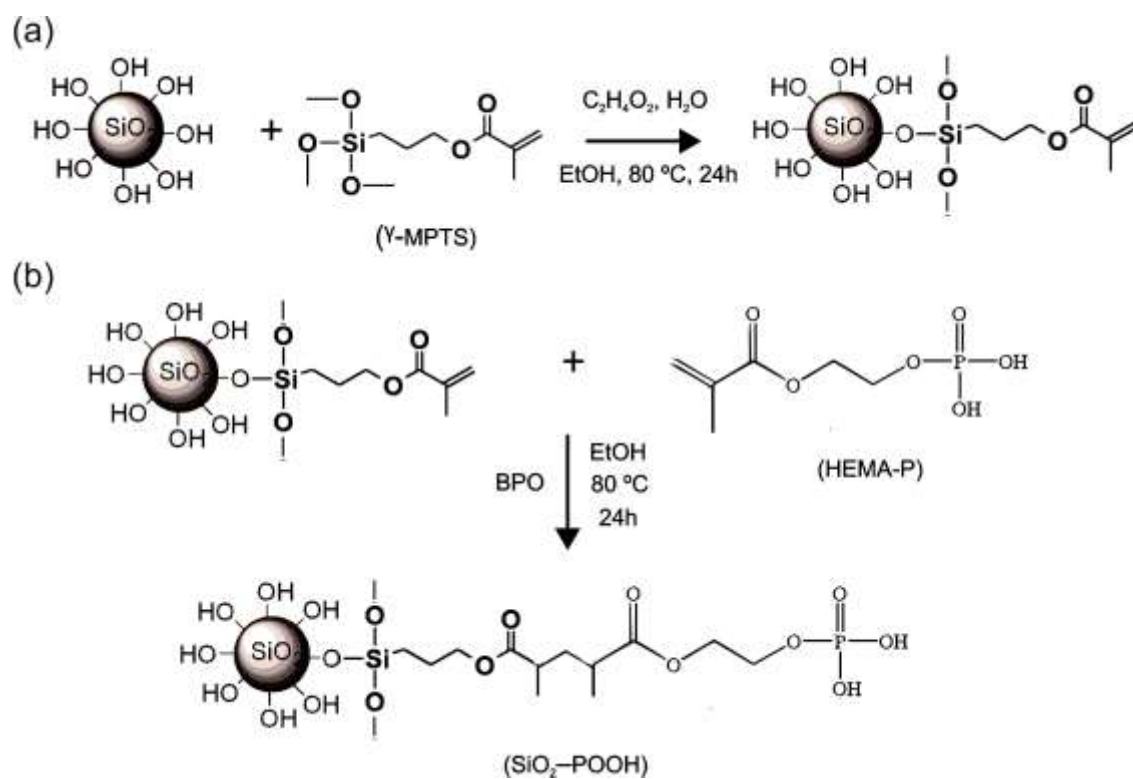


Figure 1.

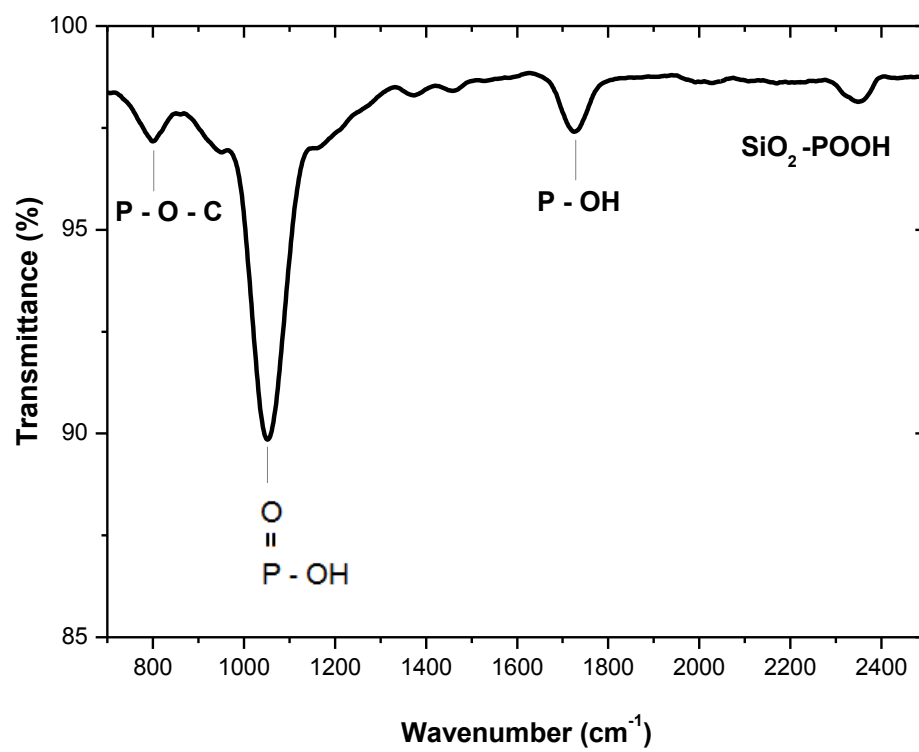


Figure 2.

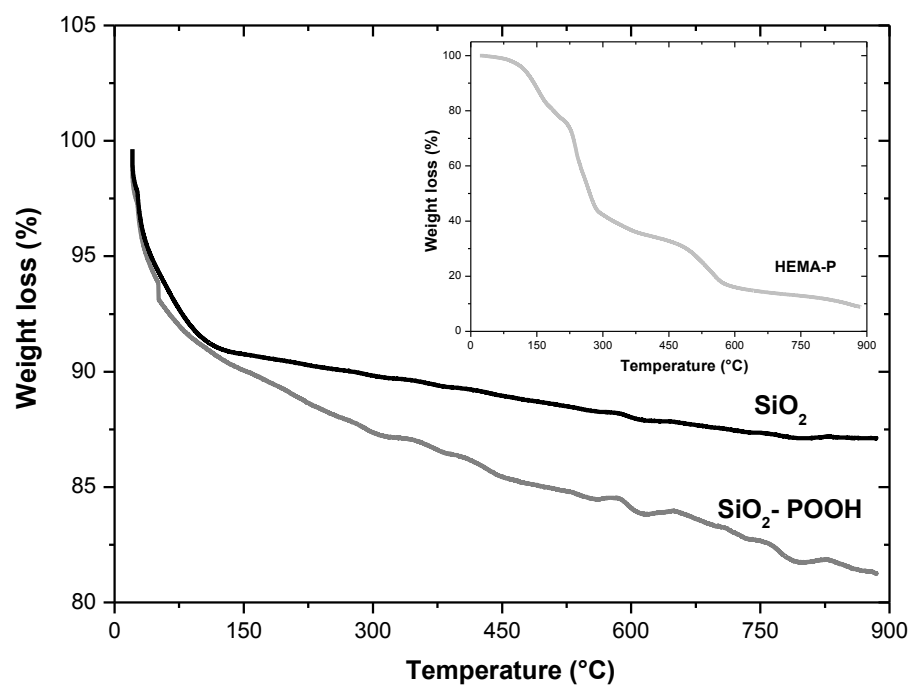


Figure 3.

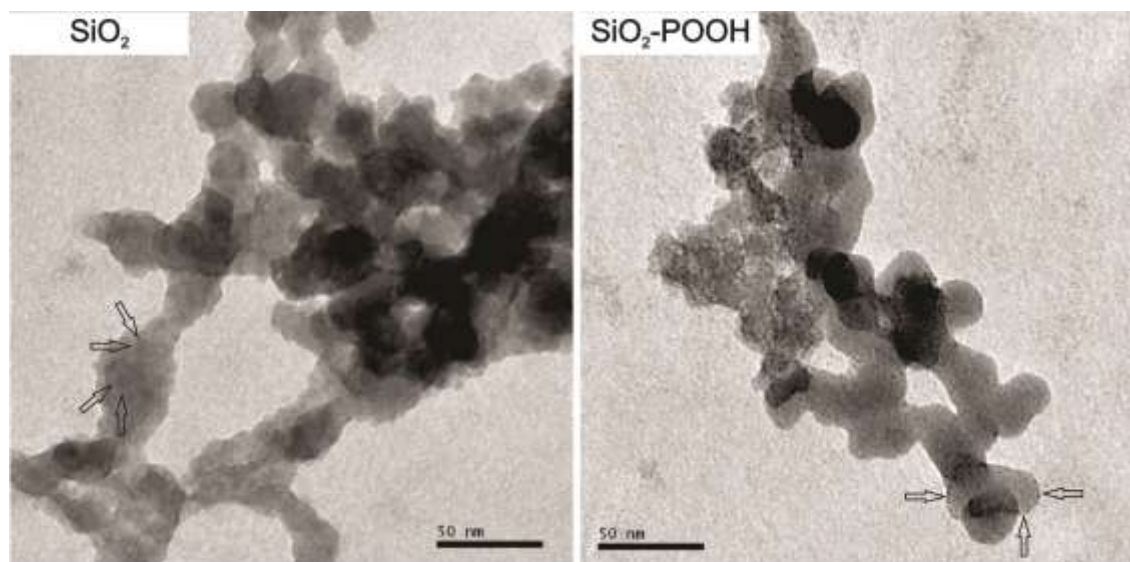


Figure 4.

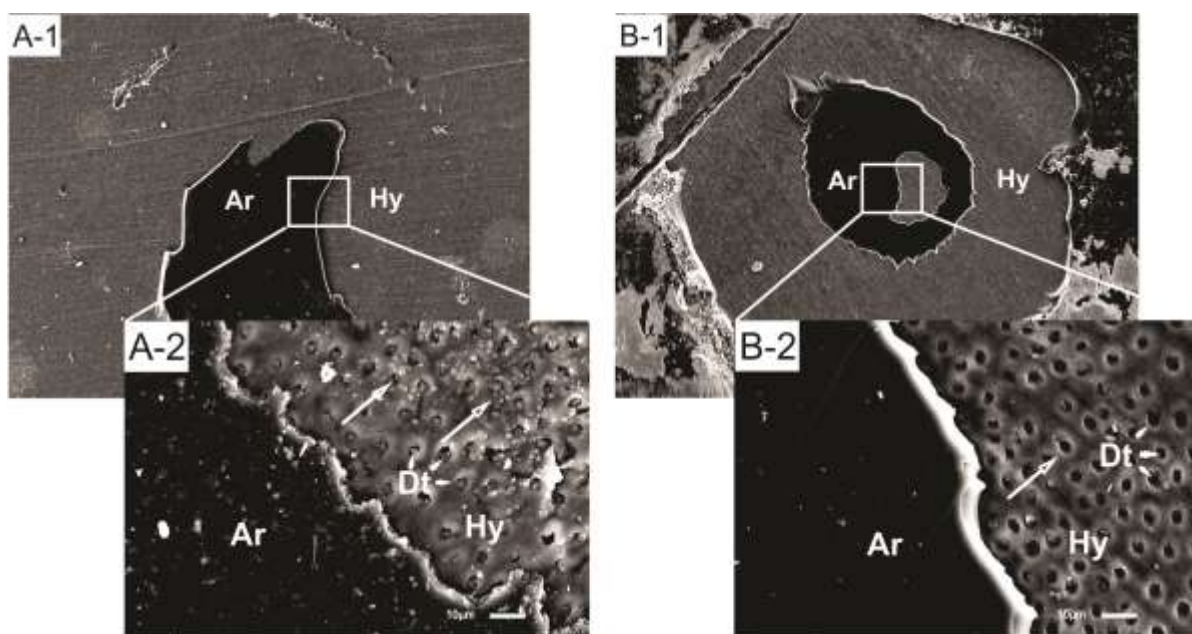


Figure 5.



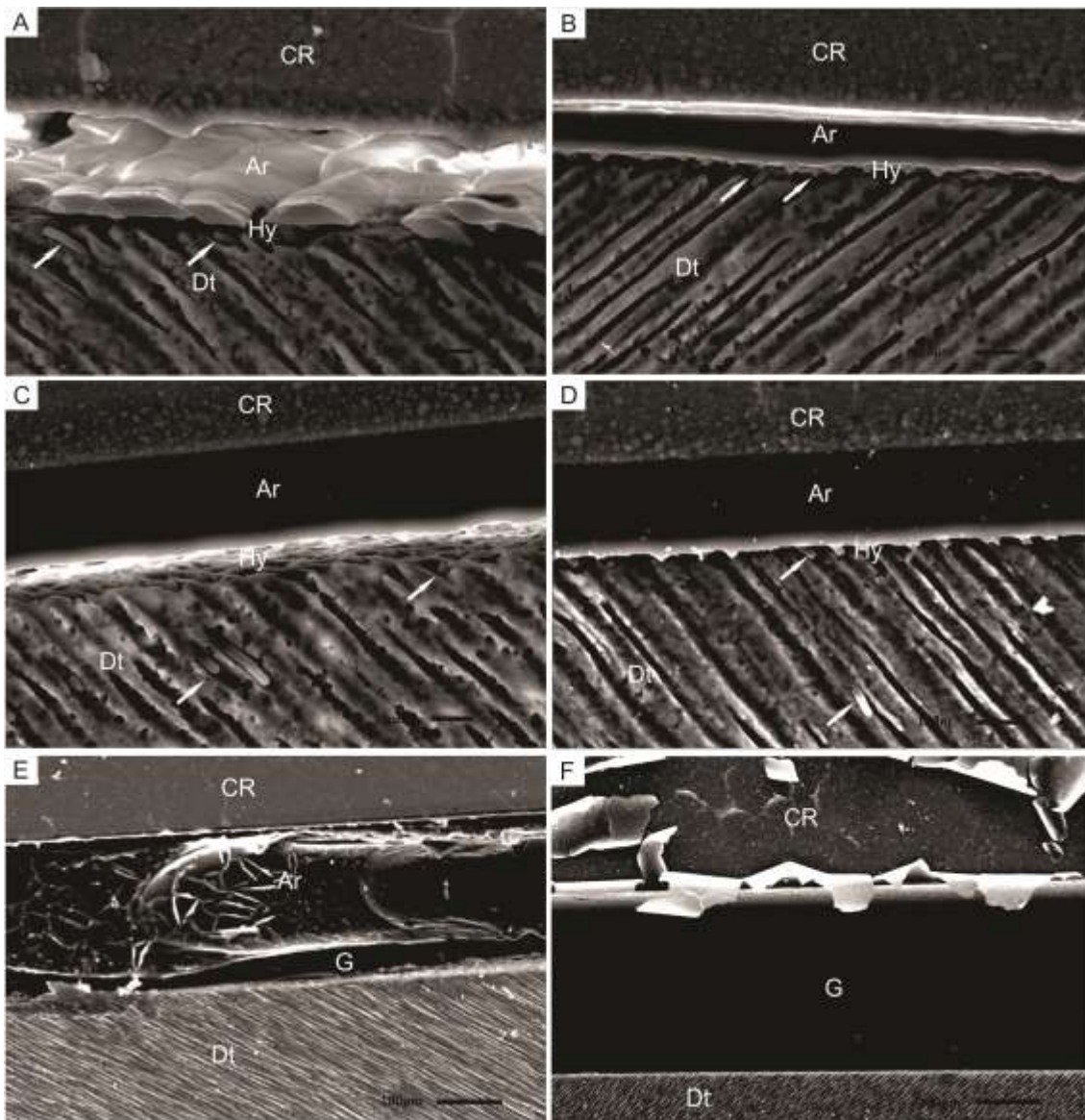


Figure 6.

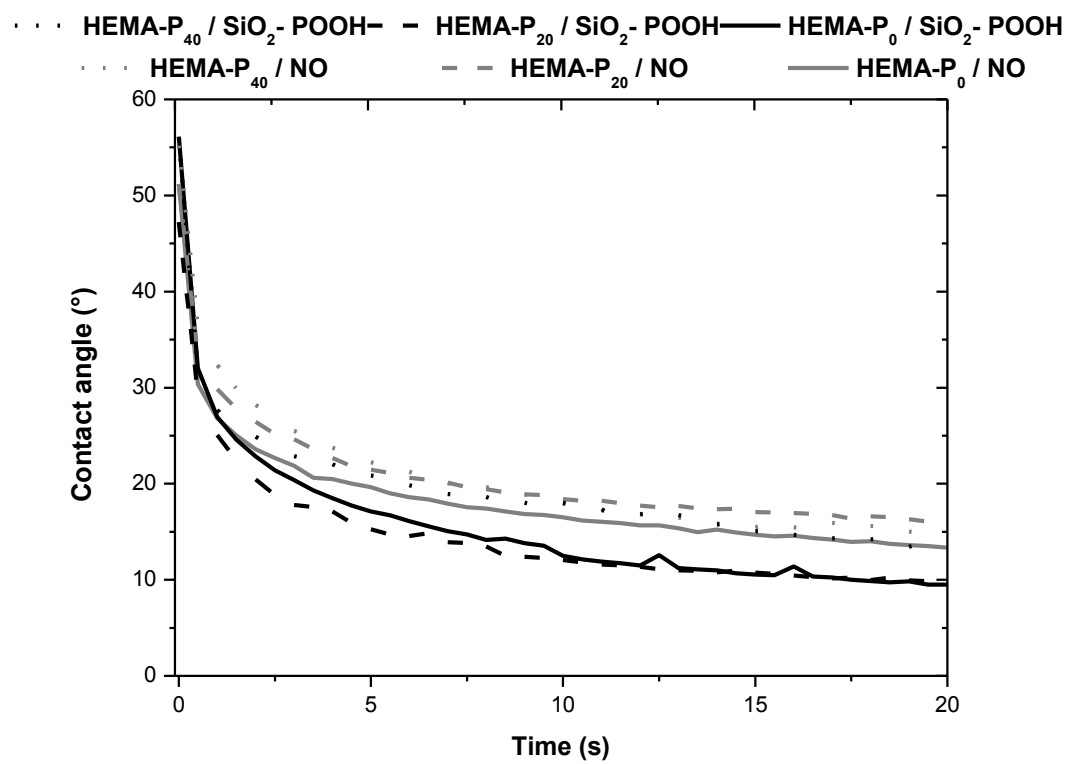


Figure 7.

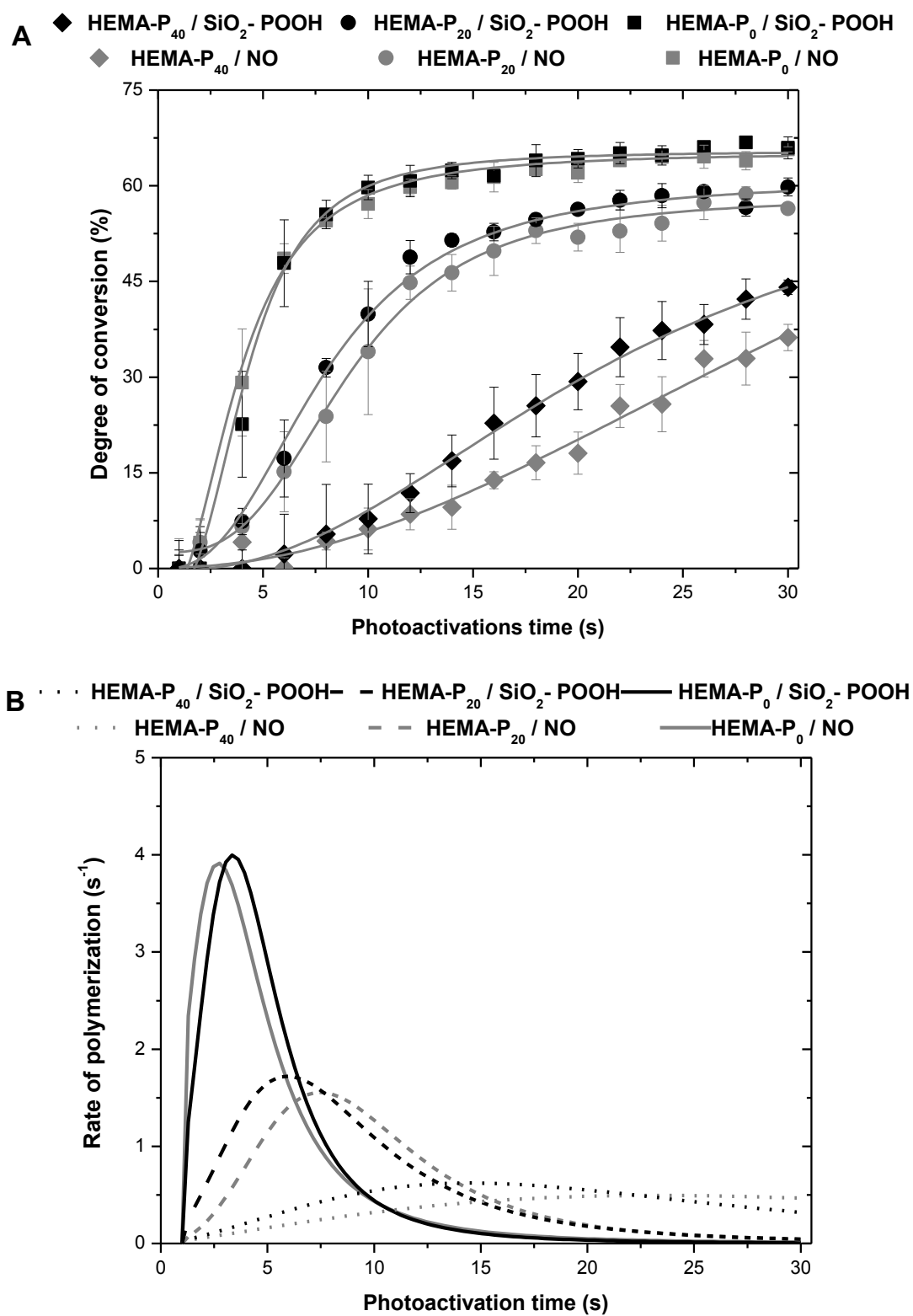


Figure 8.

## 5 Considerações finais

Nanopartículas de sílica funcionalizadas com fosfato ( $\text{SiO}_2\text{-POOH}$ ) podem ser facilmente obtidas através da funcionalização do monômero ácido fosfatado sobre a superfície de nanopartículas de sílica. A associação de  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  e monômero ácido foi crucial para a eficácia da adesão dos sistemas adesivos de passo único. A adição de  $\text{SiO}_2\text{-POOH}$  aos sistemas adesivos de passo único resultou em uma melhor adesão à dentina sem prejudicar outras propriedades do material.

## Referências

- ADUSEI, G.; DEB, S.; NICHOLSON, J. W.; MOU, L.; SINGH, G. Polymerization behavior of an organophosphorus monomer for use in dental restorative materials. **Journal of Applied Polymer Science**, v.88, n.2, p.565-569, 2003.
- ANTONUCCI, J.M.; DICKENS, S.H.; FOWLER, B.O.; XU, H.H.K.; MCDONOUGH, W.G. Chemistry of silanes: interfaces in dental polymers and composites. **Journal of research of the National Institute of Standards Technology**, v.110, p.541–58, 2005.
- ATAI, M.; SOLHI, L.; NODEHI, A.; MIRABEDINI, S. M.; KASRAEI, S.; AKBARI, K.; BABANZADEH, S. PMMA-grafted nanoclay as novel filler for dental adhesives. **Dental Materials**, v.25, n.3, p.339-347, 2009.
- BRANNSTROM, M. Etiology of dentin hypersensitivity. **Proceedings of the finnish dental society**, v.88 Suppl 1, p.7-13, 1992.
- BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; RUGGERI, A.; CADENARO, M.; DI LENARDA, R.; DE STEFANO DORIGO, E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. **Dental Material**, v.24, n.1, p.90-101, 2008.
- CADENARO, M.; ANTONIOLLI, F.; SAURO, S.; TAY, F. R.; DI LENARDA, R.; PRATI, C.; ET AL. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. **European journal of oral sciences**, v.113, p.525-530, 2005.
- COLLARES, F. M.; OGLIARI, F. A.; ZANCHI, C. H.; PETZHOLD, C. L.; PIVA, E.; SAMUEL, S. M. Influence of 2-hydroxyethyl methacrylate concentration on polymer network of adhesive resin. **Journal of Adhesive Dentistry**, v.13, n.2, p.125-129, 2011.
- CONDE, M. C.; ZANCHI, C. H.; RODRIGUES-JUNIOR, S. A.; CARRENO, N. L.; OGLIARI, F. A.; PIVA, E. Nanofiller loading level: Influence on selected properties of an adhesive resin. **Journal of Dentistry**, v.37, n.5, p.331-335, 2009.

DICKENS, S. H.; CHO, B. H. Interpretation of bond failure through conversion and residual solvent measurements and Weibull analyses of flexural and microtensile bond strengths of bonding agents. **Dental Materials**, v.21, n.4, p.354-364, 2005.

FERRACANE, J. L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks **Dental Materials**, v.22, n.3, p.211-222, 2006.

FERRACANE, J. L. Resin composite--state of the art. **Dental Materials**, v.27, n.1, p.29-38, 2011.

FOXTON, R. M.; MELO, L.; STONE, D. G.; PILECKI, P.; SHERRIFF, M.; WATSON, T. F. Long-term durability of one-step adhesive-composite systems to enamel and dentin. **Operative Dentistry**, v.33, n.6, p.651-657, 2008.

FU, B.; SUN, X.; QIAN, W.; SHEN, Y.; CHEN, R.; HANNIG, M. Evidence of chemical bonding to hydroxyapatite by phosphoric acid esters. **Biomaterials**, v.26, n.25, p.5104-5110, 2005.

FUJITA, K.; NISHIYAMA, N. <sup>13</sup>C NMR analysis of the etching efficacy of acidic monomers in self-etching primers. **Journal of Dentistry**, v.34, n.2, p.123-133, 2006.

GOBOLOS, S. T., E.; HEGEDUS, M.; BERTÓTI, I.; MARGITFALVI, J.L. Condensation of allyl alcohol with ammonia over phosphoric acid catalyst supported on controlled pore glass. **Applied Catalysis A: General**, v.152, p.63-68, 1997.

HABEKOST, L. V.; CAMACHO, G. B.; LIMA, G. S.; OGLIARI, F. A.; CUBAS, G. B.; MORAES, R. R. Nanoparticle loading level and properties of experimental hybrid resin luting agents. **Journal of Prosthodontics**, v.21, n.7, p.540-545, 2012.

HASHIMOTO, M.; OHNO, H.; SANO, H.; KAGA, M.; OGUCHI, H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. **Biomaterials**, v.24, n.21, p.3795-3803, 2003.

HEINTZE, S. D. Systematic reviews: I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II. The correlation between marginal quality and clinical outcome. **Journal Adhesive Dentistry**, v.9 Suppl 1, p.77-106, 2007.

HOSAKA, K.; NAKAJIMA, M.; TAKAHASHI, M.; ITOH, S.; IKEDA, M.; TAGAMI, J.; PASHLEY, D. H. Relationship between mechanical properties of one-step self-etch adhesives and water sorption. **Dental Materials**, v.26, n.4, p.360-367, 2010.

KEMP-SCHOLTE, C. M.; DAVIDSON, C.L. Complete marginal seal of ClassV resin composite restorations effected by increased flexibility. **Journal of Dental Research**, v.69, n.6, p.1240-1243, 1990.

KIM, J. S.; CHO, B. H.; LEE, I. B.; UM, C. M.; LIM, B. S.; OH, M. H.; CHANG, C. G.; SON, H. H. Effect of the hydrophilic nanofiller loading on the mechanical properties and the microtensile bond strength of an ethanol-based one-bottle dentin adhesive. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v.15, n.72 (2), p.284-291, 2005.

KIM, S.; KIM, E.; KIM, S.; KIM, W. Surface modification of silica nanoparticles by UV-induced graft polymerization of methyl methacrylate. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.292, p.93-98, 2005.

LEAL, F. B.; LIMA, G. S.; COLLARES, F. M.; SAMUEL, S. M.; PETZHOLD, C. L.; PIVA, E.; OGLIARI, F. A. Iodonium salt improves the dentin bonding performance in an experimental dental adhesive resin. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v.38, n.0, p.1-4, 2012.

LEITUNE, V. C.; COLLARES, F. M.; TAKIMI, A.; DE LIMA, G. B.; PETZHOLD, C. L.; BERGMANN, C. P.; SAMUEL, S. M. Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin. **Journal of Dentistry**, v.41, n.2, p.106-113, 2013.

LEMUS, M. A. A; CASTAÑEDA, O. J. O.; PÉREZ, A. D. H.; GONZÁLEZ, R. L. An alcohol-free SiO<sub>2</sub> sol-gel matrix functionalized with acetic acid as drug reservoir for the controlled release of pentoxifylline. **Journal of Nanomaterials**, v.8, p.8, 2014.

LIMA, G. DA S.; OGLIARI, F. A.; DA SILVA, E. O.; ELY, C.; DEMARCO, F. F.; CARREÑO, N. L.; PETZHOLD, C. L.; PIVA, E. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v.10, n.3, p.167-172, 2008.

MAHMOOD, N.; KHAN, M. S.; KHAN, A. U.; STOCKELHUBER, K. W.; HEINRICH, G. Purification, surface modification of coal ash silica and its potential application in rubber composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v.117, p.1493-501, 2010.

MEEREIS, C. T.; LEAL, F. B.; LIMA, G. S.; DE CARVALHO, R. V.; PIVA, E.; OGLIARI, F. A. BAPO as an alternative photoinitiator for the radical polymerization of dental resins. **Dental materials**, v.30, p.945-53, 2014.

MOSZNER, N.; SALZ, U.; ZIMMERMANN, J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. **Dental Materials**, v.21, n.10, p.895-910, 2005.

MUNOZ, M. A.; LUQUE, I.; HASS, V.; REIS, A.; LOGUERCIO, A. D.; BOMBARDA, N. H. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. **Journal of Dentistry**, v.41, n.5, p.404-411, 2013.

OKADA, K.; NISHIMUTA, K.; KAMESHIMA, Y.; NAKAJIMA, A. Effect on uptake of heavy metal ions by phosphate grafting of allophane. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.286, n.2, p.447-454, 2005.

PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; BRESCHI, L.; TJADERHANE, L.; CARVALHO, R. M.; CARRILHO, M.; TEZVERGIL-MUTLUAY, A. State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dental Materials**, v.27, n.1, p.1-16, 2011.

PEREIRA, A. C.; SANTOS ADE, S.; KUBOTA, L. T. Electrochemical behavior of riboflavin immobilized on different matrices. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.265, n.2, p.351-358, 2003.

PEUMANS, M.; DE MUNCK, J.; MINE, A.; VAN MEERBEEK, B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives for the restoration of non-carious cervical lesions. A systematic review. **Dental Materials**, v.30, n.10, p.1089-1103, 2014.

PEUMANS, M.; KANUMILLI, P.; DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. **Dental Materials**, v.21, n.9, p.864-881, 2005.

PRESTI, C.; ALAUZUN, J. G.; LAURENCIN, D.; MUTIN, H. P. Improvement of the oxidative stability of nanodiamonds by surface phosphorylation. **Chemistry of Materials**, v.25, p.2051-2055, 2013.

SADEK, F. T.; GORACCI, C.; CARDOSO, P. E.; TAY, F. R.; FERRARI, M. Microtensile bond strength of current dentin adhesives measured immediately and 24 hours after application. **Journal Adhesive Dentistry**, v.7, n.4, p.297-302, 2005.



SADR, A.; GHASEMI, A.; SHIMADA, Y.; TAGAMI, J. Effects of storage time and temperature on the properties of two self-etching systems. **Journal of Dentistry**, v.35, n.3, p.218-225, 2007.

SALZ, U.; ZIMMERMANN, J.; ZEUNER, F.; MOSZNER, N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. **Journal Adhesive Dentistry**, v.7, n.2, p.107-116, 2005.

SIDERIDOU, I. D.; KARABELA, M. M. Effect of the amount of 3-methacryloxypropyltrimethoxysilane coupling agent on physical properties of dental resin nanocomposites. **Dental materials**, v.25, p.1315-24, 2009.

SOLHI, L.; ATAI, M.; NODEHI, A.; IMANI, M. A novel dentin bonding system containing poly(methacrylic acid) grafted nanoclay: synthesis, characterization and properties. **Dental Materials**, v.28, n.10, p.1041-1050, 2012.

SOLHI, L.; ATAI, M.; NODEHI, A.; IMANI, M.; GHAEMI, A.; KHOSRAVI, K. Poly(acrylic acid) grafted montmorillonite as novel fillers for dental adhesives: synthesis, characterization and properties of the adhesive. **Dental Materials**, v.28, n.4, p.369-377, 2012.

TAM, L. E.; KHOSHAND, S.; PILLIAR, R. M. Fracture resistance of dentin-composite interfaces using different adhesive resin layers. **Journal of Dentistry**, v.29, n.3, p.217-225, 2001.

TAY, F. R.; MOULDING, K. M.; PASHLEY, D. H. Distribution of nanofillers from a simplified-step adhesive in acid-conditioned dentin. **Journal Adhesive Dentistry**, v.1, n.2, p.103-117, 1999.

VAN LANDUYT, K. L.; MINE, A.; DE MUNCK, J.; JAECQUES, S.; PEUMANS, M.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. **Journal Adhesive Dentistry**, v.11, n.3, p.175-190, 2009.

VAN LANDUYT, K. L.; SNAUWAERT, J.; DE MUNCK, J.; PEUMANS, M.; YOSHIDA, Y.; POITEVIN, A.; COUTINHO, E.; SUZUKI, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, v.28, n.26, p.3757-3785, 2007.

VAN MEERBEEK, B.; DE MUNCK, J.; YOSHIDA, Y.; INOUE, S.; VARGAS, M.; VIJAY, P.; VAN LANDUYT, K.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges **Operative Dentistry**, v.28, n.3, p.215-235, 2003.

VAN MEERBEEK, B.; PEUMANS, M.; POITEVIN, A.; MINE, A.; VAN ENDE, A.; NEVES, A.; DE MUNCK, J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. **Dental Materials**, v.26, n.2, p.e100-121, 2010.

VAN MEERBEEK, B.; YOSHIHARA, K.; YOSHIDA, Y.; MINE, A.; DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K. L. State of the art of self-etch adhesives. **Dental Materials**, v.27, n.1, p.17-28, 2011.

ZHENG, K.; CHEN, L.; LI, Y.; CUI, P. Preparation and thermal properties of silica-graft acrylonitrile-butadiene-styrene nanocomposites. **Polymer Engineering & Science**, v.44, p.1077–82, 2004.