

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**ESTABILIDADE DE FLUORETOS EM  
ENXAGUATÓRIOS COM PRODUTOS NATURAIS:  
ESTUDO *IN VITRO***

**Thays Matias Ribeiro**

**SAPIENTIA AEDIFICAT**

**2024**

**THAYS MATIAS RIBEIRO**

**ESTABILIDADE DE FLUORETOS EM ENXAGUATÓRIOS COM  
PRODUTOS NATURAIS: ESTUDO *IN VITRO***

**STABILITY OF FLUORIDES IN WASHES WITH NATURAL  
PRODUCTS: IN VITRO STUDY**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Biomateriais em odontologia.

Orientador: Prof. Dr.Fábio Correia Sampaio

João Pessoa

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



ATA DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
(DOCUMENTO ANEXO – 1)

39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88

A Comissão Examinadora do Trabalho Final (dissertação) de Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba, em sessão pública, após apreciação da apresentação oral e arguição do trabalho:

CANDIDATO: THAYS MATIAS RIBEIRO  
ORIENTADOR: Prof. Dr. FABIO CORREIA SAMPAIO

BANCA EXAMINADORA:  
1º Examinador: Prof. Dr. NIKEILA CHACON DE OLIVEIRA CONDE (Membro Externo)  
2º Examinador: Prof. Dr. RICARDO DIAS DE CASTRO (Membro Interno)  
3º Examinador: Prof. Dr. FABIO CORREIA SAMPAIO (orientador e presidente)

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Estabilidade de fluoretos em enxagatúrios com produtos naturais: estudo in vitro".

Houve sugestão de alteração do título do trabalho final? ( ) Sim (X) Não
Se sim, qual o novo título sugerido?
_____
_____
_____

no dia 25 de Julho de 2024, e observando o que determina a Resolução do Colegiado do Programa de Pós-graduação em Odontologia atribuem o conceito final:

(X) Aprovado ( ) Insuficiente ( ) Reprovado

ao candidato o que lhe permitirá fazer jus ao título de Mestre em Odontologia, após a tramitação pertinente.

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** NIKEILA CHACON DE OLIVEIRA CONDE  
Data: 26/07/2024 11:22:55-900  
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

\_\_\_\_\_  
1º Examinador – Membro Externo

\_\_\_\_\_  
2º Examinador – Membro interno

\_\_\_\_\_  
3º Examinador – Presidente



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



ATA DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
(DOCUMENTO ANEXO – 2)

João Pessoa, 25 de julho de 2024.

CANDIDATO: THAYS MATIAS RIBEIRO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Estabilidade de fluoretos em enxaguatórios com produtos naturais: estudo in vitro"

1º EXAMINADOR: Prof. Dr. NIKEILA CHACON DE OLIVEIRA CONDE

Parecer:  Aprovado ( ) Insuficiente ( ) Reprovado

Documento assinado digitalmente  
gov.br NIKEILA CHACON DE OLIVEIRA CONDE  
Data: 26/07/2024 13:22:53-0300  
Verifique em <https://salidar.jf.gov.br>

1º Examinador

2º EXAMINADOR: Prof. Dr. RICARDO DIAS DE CASTRO

Parecer:  Aprovado ( ) Insuficiente ( ) Reprovado

2º Examinador

3º EXAMINADOR: Prof. Dr. FABIO CORREIA SAMPAIO

Parecer:  Aprovado ( ) Insuficiente ( ) Reprovado

3º Examinador



ATA DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
2024

Aos vinte e cinco dias do mês de julho do ano de 2024, às 15:00 horas, no Auditório do Núcleo de Estudos e Pesquisas Interdisciplinares em Biomateriais (NEPIBio), reuniram-se os membros da banca examinadora composta pelas professores doutores: FABIO CORREIA SAMPAIO (Orientador(a) e Presidente), RICARDO DIAS DE CASTRO (membro interno ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – UFPB) e NIKEILA CHACON DE OLIVEIRA CONDE (membro externo ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – UFPB) a fim de argüirem o(a) mestrando(a) THAYS MATIAS RIBEIRO, com relação ao seu trabalho final de curso de mestrado (dissertação), sob o título “Estabilidade de fluoretos em enxagatatórios com produtos naturais: estudo in vitro”. Aberta a sessão pelo presidente da mesma, coube o(a) candidato(a), na forma regimental, expor o tema de sua dissertação, dentro do tempo regulamentar. Em seguida, foi questionado pelos membros da banca examinadora, sendo as explicações necessárias fornecidas e as modificações solicitadas registradas. Logo após, os membros da banca examinadora reuniram-se em sessão secreta, tendo chegado ao seguinte julgamento, que, de público, foi anunciado: 1º Examinador (membro externo): Conceito “Aprovado”; 2º Examinador (membro interno): Conceito “Aprovado”, 3º Examinador (Orientador e presidente): Conceito “Aprovado”. O que resultou em conceito final igual: “APROVADO”, o que permite o(a) candidato(a) fazer jus ao título de Mestre em Odontologia. Os documentos utilizados para avaliação da candidata durante o processo aqui descrito apresentam-se como prova documental do mesmo e, como tal, serão anexadas a esta ata para arquivamento. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que será assinada pelo presidente, pelos demais membros da banca e pelo(a) candidato (a).

Documento assinado digitalmente  
NIKEILA CHACON DE OLIVEIRA CONDE  
Data: 26/07/2024 11:22:33-0300  
Verifique em <https://validar4i.gov.br>

1º Examinador – Membro Externo

2º Examinador – Membro interno

3º Examinador – Presidente

Candidato (a)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL DO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
BIBLIOTECÁRIO:

Catálogo na publicação  
Seção de Catalogação e Classificação

R484e Ribeiro, Thays Matias.

Estabilidade de fluoretos em enxaguatórios com  
produtos naturais : estudo in vitro / Thays Matias  
Ribeiro. - João Pessoa, 2024.  
89 f. : il.

Orientação: Fábio Correia Sampaio.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Odontologia - Estabilidade de cosméticos. 2.  
Fluoreto de sódio. 3. Físico-química. 4. Antissépticos  
bucais. 5. Antimicrobianos. I. Sampaio, Fábio Correia.  
II. Título.

UFPB/BC

CDU 616.314(043)

Elaborado por WALQUELINE DA SILVA ARAUJO - CRB-15/514

**Informações Complementares:**

Título em outro idioma: Stability of fluorides in mouthwashes with natural products:  
*in vitro* study

Parte superior do formulário

Palavras-chave em outro idioma: Fluorine; Physicochemical; Herbal medicine;  
Products with antimicrobial action; Drug stability.

Área de concentração: Ciências Odontológicas

Linha de Pesquisa: Biomateriais em odontologia

Banca examinadora: Examinador 1 (Orientador, Instituição); Examinador 2  
(Instituição); Examinador 3 (Instituição); Examinador 4 (Instituição); Examinador 5  
(Instituição).

Data de defesa: xx-05-2024

**Informações acadêmicas e profissionais do(a) aluno(a)**

- ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0714-3106>

- Link do Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7634458115077125>

## **DEDICATÓRIA**

À Deus, meus pais, meu marido e aos meus irmãos. O apoio e incentivo de vocês foi fundamental em todo esse percurso.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela força, sabedoria e coragem concedidas ao longo desta jornada. Sem a Tua luz, este sonho não teria se tornado realidade. Eu, com minha pequenez não conseguiria chegar tão longe se não fosse a mão do Senhor.

À minha família, especialmente aos meus pais, pelo apoio incessante e por sempre acreditarem em mim. Sou eternamente grata por tudo que fizeram e fazem por mim. Por todas as vezes que abdicaram da sua vontade para que eu pudesse ir mais longe.

Ao meu marido, cuja compreensão e incentivo foram fundamentais para a conclusão deste trabalho. A sua presença constante ao meu lado foi um pilar de força e motivação. Agradeço por todo apoio e por estar ao meu lado sempre.

Aos meus irmãos, pela amizade, companheirismo e por sempre estarem prontos a oferecer um ombro amigo e palavras de encorajamento. Aos meus amigos, que compreenderam as ausências e celebraram as conquistas ao longo do caminho.

Ao meu orientador, Fábio Correia Sampaio, por quem tenho tanta admiração. Gratidão pela sua paciência e competência na condução deste trabalho. Sem as suas milhares de ideias nada disso seria possível.

À minha querida professora, eterna orientadora e amiga: Jociannelle. Seu apoio e incentivo durante toda a graduação e também após o término dela também foram fundamentais.

Aos amigos e companheiros do Labial, que em todo momento me ajudaram com paciência e perseverança. Agradeço por todas as risadas, conselhos e momentos de descontração que tornaram esta jornada mais leve.

Que Deus abençoe e recompense a todos de forma abundante!

## EPÍGRAFE

"Esforça-te, e tem bom ânimo; não temas, nem te espantes, porque o Senhor teu Deus é contigo, por onde quer que andares." **Josué 1:9**

## RESUMO

O objetivo foi monitorar a estabilidade físico-química e o sequestro de fluoreto de sódio (NaF), além de determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) frente ao *S. mutans* (INCQS00446) em extratos naturais e enxaguatórios herbais comerciais. Trata-se de estudo *in vitro* analisando parâmetros como: pH, concentração de fluoretos e turbidez/formação de fases alteração de cor. A partir de uma solução de 200 mg/L (ppm) de NaF foram preparadas as amostras de 5 enxaguatórios (Água Rabelo® Tradicional, Romã, Gengibre, Citrus e Aloe Vera) que resultassem em 10 mg/L de NaF. Os 5 extratos vegetais (1,5g; Eucalipto, Romã, Gengibre, Hortelã e Aroeira) foram solubilizados em água deionizada e diluentes (tween 80 e DMSO) e NaF para atingir 10 mg/L de NaF. As análises de fluoreto foram realizadas por potenciometria e soluções padrões de 0,5 a 10 ppm F e TISAB II. As amostras foram armazenadas por 2 meses em temperaturas de 25°C (ambiente), e de envelhecimento precoce (37°C e 45°C). Como grupo controle utilizou-se o FluorPlax com 0,05% de flúor. Os resultados demonstraram que os enxaguatórios comerciais apresentam perda gradual e constante de fluoreto livre variando de 14,18 a 0,96 ppm F no Aloe Vera em temperatura ambiente (semana 6) e o Citrus em 37°C (semana 8), respectivamente. Para os extratos vegetais os valores de fluoreto foram de 2,50 e 12,65 ppm F para extrato de aroeira em temperatura ambiente (semana 5) e de eucalipto 37°C (semana 2). O pH variou nas diferentes temperaturas ao longo do tempo, sobretudo com tendência ácida. Na análise microbiológica verificou-se que houve efeito aditivo entre o flúor e a Água Rabelo® gengibre, assim como entre o fluoreto e os extratos naturais avaliados. Os resultados indicam que a incorporação de fluoretos em enxaguatórios herbais exige procedimentos farmacotécnicos ou biotecnológicos que possam minimizar a interação química do fluoreto com grupamentos funcionais orgânicos. Logo, é possível concluir que a identificação e eliminação dos constituintes que sequestram o fluoreto nos enxaguatórios são essenciais, assim como a incorporação planejada de fluoreto para alcançar concentrações ideais para a remineralização dental simultaneidade de ação antimicrobiana.

**Palavras-chave:** Estabilidade de Cosméticos; Fluoreto de Sódio; Físico-química; Antissépticos Bucais; Antimicrobianos.

## ABSTRACT

The study aimed to monitor the physicochemical stability and sodium fluoride (NaF) sequestration, as well as determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against *Streptococcus mutans*\* (INCQS00446) in natural extracts and commercial herbal mouthwashes. This in vitro study analyzed parameters such as pH, fluoride concentration, turbidity, and phase/color alterations. Samples were prepared from a 200 mg/L NaF solution to achieve 10 mg/L NaF in five mouthwashes (Água Rabelo® Traditional, Pomegranate, Ginger, Citrus, and Aloe Vera). Five plant extracts (1.5 g; Eucalyptus, Pomegranate, Ginger, Peppermint, and Brazilian Pepper Tree) were solubilized in deionized water, Tween 80, DMSO, and NaF to reach 10 mg/L NaF. Fluoride analysis was conducted using potentiometry with standard solutions (0.5–10 ppm F) and TISAB II. Samples were stored for two months at 25°C (ambient) and accelerated aging temperatures (37°C and 45°C). FluorPlax (0.05% fluoride) served as the control group. Results indicated a gradual loss of free fluoride in commercial mouthwashes, ranging from 14.18 ppm F (Aloe Vera at ambient temperature, week 6) to 0.96 ppm F (Citrus at 37°C, week 8). For plant extracts, fluoride levels varied from 2.50 ppm F (Brazilian Pepper Tree at ambient temperature, week 5) to 12.65 ppm F (Eucalyptus at 37°C, week 2). pH exhibited acidic tendencies over time and across temperatures. Microbiological analysis showed an additive effect between fluoride and Água Rabelo® Ginger, as well as between fluoride and natural extracts. Findings highlight that incorporating fluoride into herbal mouthwashes requires pharmaceutical or biotechnological adjustments to minimize fluoride interactions with organic functional groups. Identifying and eliminating fluoride-sequestering constituents is essential, alongside optimized fluoride incorporation, to achieve effective dental remineralization and antimicrobial activity.

**Keywords:** Cosmetic Stability; Sodium fluoride; Chemistry, Physical; Mouthwashes; Anti-Infective Agents.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- [ ] – concentração
- ANOVA - Analysis of Variance
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CHX – Clorexidina
- DMSO - Dimetilsulfóxido
- F – Flúor
- mg - Miligrama
- mV - Milivoltagem
- NaF – Fluoreto de sódio
- OMS - Organização Mundial da Saúde
- pH - Potencial hidrogeniônico
- ppm – Partes por milhão
- TISAB - total ionic strength adjustment buffer
- CIM – Concentração inibitória mínima
- CBM – Concentração bactericida mínima

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	4
<b>3. OBJETIVOS</b>	8
<b>4. Artigo 1</b>	9
<b>5. CONCLUSÃO</b>	72
<b>REFERÊNCIAS</b>	73

## 1. INTRODUÇÃO

Pesquisas na área da odontologia apontam a cárie dentária como a doença mais prevalente na cavidade bucal e a maior responsável pela perda de dentes (Benoit *et al.*, 2019). A cárie dentária é uma doença complexa e multifatorial, na qual há interação de características genéticas, ambientais e comportamentais. Um fator biológico indispensável para a formação da lesão de cárie é o biofilme dental (Maltz *et al.*, 2016).

A formação do biofilme cariogênico trata-se de um processo dinâmico, no qual ocorre a produção de uma matriz rica em exopolissacarídeos derivados de bactérias acidogênicas, especialmente do grupo *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp., *Actinomyces* spp. e *Bifidobacterium* spp. (Bueno-Silva *et al.*, 2013; Takahashi & Nyvad, 2011).

Analisando métodos de prevenção da cárie e na demanda pelo desenvolvimento de novos materiais, busca-se o controle do biofilme bacteriano em avaliações laboratoriais de agentes antimicrobianos para determinar o potencial dos mesmos (Pratten *et al.*, 1998).

O controle mecânico do biofilme por meio da escovação dentária e interdentária é o melhor método de prevenção para reduzir a cárie dentária. Esta ação mecânica é enriquecida com o uso de produtos para controle químico do biofilme (Van Der Weijden e Slot, 2015). Logo, a associação entre os métodos mecânicos e químicos é mais eficaz para reduzir a formação de biofilme e conseqüentemente reduzir a formação da cárie dentária (Sampaio *et al.*, 2020; Valkenburg *et al.*, 2020; Walsh *et al.*, 2019).

Nesse sentido, produtos com atividade antimicrobiana, como enxaguatórios bucais, podem ser usados como adjuvantes nas medidas de higiene bucal devido à sua capacidade de controlar a formação de biofilme e entregar agentes ativos aos dentes e gengivas (De Luca *et al.*, 2017; Chatterjee *et al.*, 2017; Lynch *et al.*, 2018). Os enxaguatórios bucais têm importante papel no controle químico de microorganismos (Pattnaik *et al.*, 2021).

Para tanto, um enxaguatório bucal ideal deve possuir alguns requisitos como: estabilidade, baixa tensão superficial, poder antimicrobiano e ausência de toxicidade. Como exemplo de enxaguatório temos a clorexidina (CHX), que é considerada o padrão-ouro, com significativo uso na odontologia e eficácia comprovada (Zheng e Wang, 2011; Mathur *et al.*, 2011; Villa *et al.*, 2018). Porém, mesmo apresentando os benefícios clínicos, os efeitos colaterais da CHX preocupam (Kouadio *et al.*, 2017; Pattnaik *et al.*, 2021).

Portanto, há uma busca constante por enxaguatórios com eficácia comparável a clorexidina e mínimos efeitos colaterais (Kouadio *et al.*, 2017; Pattnaik *et al.*, 2021). Por isso, muita ênfase tem sido colocada em produtos naturais contendo diversas substâncias com atividade antimicrobiana para o controle de biofilmes cariogênicos com efeitos colaterais mínimos ou inexistentes (Martins *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2019).

Nesse sentido, analisando algumas das características propostas pela marca ao mercado como: propriedades biológicas, ação antiinflamatória, antioxidante e antimicrobiano, realizou-se a escolha dos enxaguatórios da Empresa Água Rabelo® para avaliação de seu potencial para associação de fluoretos em sua formulação. Porém, a ação deste produto em meio bucal tem deixado lacunas que necessitam de mais evidências para verificar essa hipótese (Martins *et al.*, 2019).

Além disso, para que o enxaguatório bucal seja indicado para uso, seja ele a base de produtos naturais ou não, o mesmo precisa ter ação remineralizadora, logo, a presença do fluoreto é indispensável. O fornecimento diário de F na saliva e no biofilme favorece a remineralização e inibe a desmineralização das lesões de cárie (Marinho *et al.*, 2003).

Amplamente estudados na odontologia moderna, os fluoretos desempenham um papel fundamental, sendo utilizados na prevenção de cáries dentárias. A introdução de fluoretos em tratamentos odontológicos e em produtos de higiene bucal, como cremes dentais e enxaguantes bucais, tem demonstrado uma eficácia significativa na redução da incidência de cáries, principalmente em populações de alto risco (Buzalaf *et al.*, 2011). O flúor age no processo de

remineralização do esmalte dentário, tornando os dentes mais resistentes à ação dos ácidos produzidos pelas bactérias presentes no biofilme dental (Ten Cate & Featherstone, 1991). Assim como, sua presença no ambiente bucal pode inibir a atividade bacteriana, reduzindo a produção de ácidos (Marinho et al., 2003).

Estudos têm demonstrado que a aplicação tópica de fluoretos em consultórios dentários, através de géis, vernizes e soluções concentradas, proporciona uma proteção adicional, especialmente em pacientes com alto índice de cáries (Marinho et al., 2015). Contudo, o equilíbrio na administração de fluoretos é essencial para maximizar seus benefícios preventivos enquanto se minimizam os riscos associados (Cury & Tenuta, 2008).

Logo, o objetivo da pesquisa foi monitorar a estabilidade físico-química e o sequestro de fluoreto de sódio (NaF) em soluções de extratos naturais e enxaguatórios herbais comerciais para produção de enxaguatórios com simultaneidade de ação antimicrobiana e remineralizante.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

A cárie dentária é uma doença multifatorial que resulta da interação entre bactérias, substratos fermentáveis (principalmente açúcares), e o esmalte dentário. As bactérias presentes no biofilme bacteriana metabolizam os açúcares da dieta, produzindo ácidos que desmineralizam o esmalte dental, levando à formação de lesões cariosas. Essas lesões, se não tratadas, podem progredir e comprometer a estrutura dentária, resultando em dor, infecção e perda dentária (Selwitz, Ismail & Pitts, 2007).

As manchas brancas são um estágio inicial da cárie dentária, caracterizadas pela desmineralização do esmalte sem formação de cavidades visíveis. Elas ocorrem devido à perda de minerais, como cálcio e fosfato, resultando em uma aparência opaca e esbranquiçada nos dentes. Essas lesões representam um sinal de alerta para a desmineralização do esmalte e indicam a necessidade de intervenção para evitar a progressão para lesões mais graves (Featherstone, 2008).

As lesões de mancha branca são os primeiros sinais de desmineralização do esmalte e podem progredir para cáries se não tratadas adequadamente. O uso de fluoreto em enxaguantes bucais é uma abordagem eficaz para remineralizar essas lesões e prevenir a progressão da cárie (Wang et al., 2021). A incorporação de produtos naturais que ajudem a estabilizar o fluoreto pode potencializar esse efeito, melhorando a remineralização e a saúde bucal geral (Suhardja et al., 2021).

O biofilme, desempenha um papel fundamental no desenvolvimento da cárie dentária e das manchas brancas. Trata-se de uma comunidade microbiana complexa que se forma na superfície dos dentes e é composta por uma variedade de microorganismos, principalmente bactérias. Esses microorganismos metabolizam os carboidratos da dieta, produzindo ácidos que podem causar a desmineralização do esmalte dental. Além disso, o biofilme fornece um ambiente protegido para as bactérias, permitindo sua adesão aos dentes e facilitando a formação de tártaro (Marsh, 2003).

Analisando métodos de prevenção da cárie e na demanda pelo desenvolvimento de novos materiais, busca-se o controle do biofilme bacteriano em

avaliações laboratoriais de agentes antimicrobianos para determinar o potencial dos mesmos (Pratten et al., 1998). Logo, a associação entre os métodos mecânicos e químicos é mais eficaz para reduzir a formação de biofilme (Sampaio et al., 2020; Valkenburg et al., 2020; Walsh et al., 2019).

Os enxaguatórios bucais podem ser usados como um complemento aos métodos de prevenção convencionais. Eles podem fornecer benefícios adicionais, como a redução das bactérias causadoras de cárie e o fortalecimento do esmalte dentário. Alguns ingredientes ativos comuns em enxaguatórios bucais com propriedades anti-cárie incluem: o flúor, que é um mineral essencial na prevenção da cárie dentária, pois fortalece o esmalte dos dentes e pode ajudar a remineralizar áreas pré-cariogênicas (Slot et al., 2014).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece o flúor como um fármaco. A OMS classifica o flúor como um fármaco essencial, especialmente quando se trata da prevenção da cárie dentária. A inclusão do flúor como fármaco essencial se baseia na sua eficácia comprovada na prevenção da cárie dentária. O flúor atua fortalecendo o esmalte dos dentes, tornando-os mais resistentes à desmineralização causada pelos ácidos produzidos pelas bactérias do biofilme dental. Isso reduz o risco de desenvolvimento de cáries (OMS, 2003).

A estabilidade do fluoreto em enxaguantes bucais é um fator crucial para garantir sua eficácia na prevenção de cáries e na promoção da saúde bucal. Nos últimos anos, a incorporação de produtos naturais em formulações odontológicas tem ganhado destaque devido ao aumento da demanda por alternativas mais seguras e sustentáveis. Estudos recentes têm mostrado que compostos como extratos de plantas, óleos essenciais e biopolímeros não apenas oferecem benefícios terapêuticos, mas também apresentam menor toxicidade em comparação aos produtos sintéticos tradicionais (Singh et al., 2021; Gupta et al., 2022).

Além disso, a utilização de produtos naturais está alinhada com a crescente conscientização ambiental e a preferência por práticas de consumo ecologicamente responsáveis (Kumari et al., 2023). Essas formulações têm demonstrado eficácia na prevenção de cáries, redução da placa bacteriana e tratamento de doenças

periodontais, destacando seu potencial como uma alternativa viável e sustentável na odontologia moderna (Ahmad et al., 2022; Patel et al., 2021).

No que diz respeito ao fluoreto, este é amplamente reconhecido por sua eficácia na prevenção de cáries dentárias e na remineralização do esmalte. No entanto, como qualquer fármaco, seu uso deve ser cuidadosamente controlado para evitar e/ou reduzir os efeitos colaterais, como a fluorose dental (Nguyen et al., 2020). A formulação de enxaguantes bucais que utilizem sistemas de liberação controlada de fluoreto e que incorporem estabilizadores naturais pode melhorar a segurança e a eficácia desses produtos (Patel et al., 2022).

O fluoreto facilita a incorporação de minerais no esmalte, fortalecendo a estrutura dental (Featherstone & ten Cate, 2019). Estudos indicam que extratos naturais, como os de chá verde e aloe vera, podem aumentar sinergicamente a capacidade de remineralização do fluoreto (Lima et al., 2020). Esses produtos não apenas ajudam a estabilizar o fluoreto nas formulações, mas também podem fornecer minerais adicionais que contribuem para a remineralização.

Plantas medicinais têm sido utilizadas na odontologia devido às suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Estudos têm investigado a combinação de plantas medicinais com flúor para potencializar os efeitos preventivos e terapêuticos no cuidado dental.

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Brasil foi instituída pelo Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006, com o objetivo de garantir à população o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade e o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (Serviços e Informações do Brasil). No mesmo ano, através de portaria do Ministério da Saúde GM/MS nº 971, já havia sido criada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC), abrangendo, além da Fitoterapia, a Homeopatia, a Medicina Tradicional Chinesa/Acupuntura, o Termalismo/Crenoterapia e a Medicina Antroposófica.

Essas duas políticas incrementaram a discussão sobre a oportunidade, a importância, as dificuldades, as facilidades e as vantagens da implementação da Fitoterapia nos serviços de saúde do SUS, e sobre as diferentes visões a respeito

de como isso deve ocorrer (Figueredo; Gurgel; Gurgel Junior, 2014). Em 2009, foi criada a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), que inclui 71 espécies vegetais de potencial terapêutico. A lista orienta pesquisas e estudos sobre essas plantas, promovendo a segurança e eficácia dos fitoterápicos utilizados no SUS (Brasil, 2009).

A combinação de fluoreto com produtos naturais em enxaguantes bucais pode resultar em efeitos sinérgicos que aumentam a eficácia geral do produto. Extratos de plantas, óleos essenciais e outros componentes naturais podem atuar como estabilizadores de fluoreto, aumentar a atividade antimicrobiana e melhorar a biocompatibilidade do produto (Ganesan et al., 2021).

Estudos demonstram que a inclusão de extratos naturais, como o óleo de eucalipto e a própolis, pode proporcionar uma atividade antimicrobiana significativa contra patógenos orais (Wozniak et al., 2019). Esses componentes não apenas complementam a ação do fluoreto, mas também podem reduzir a necessidade de agentes antimicrobianos sintéticos, que muitas vezes estão associados a efeitos adversos e resistência bacteriana de forma proporcionalmente maior (Carvalho et al., 2022).

Um estudo realizado por Verdi e colaboradores (2022), com associação do óleo de Melaleuca (Tea Tree Oil) e o flúor, afirma que esta combinação pode aumentar a resistência do esmalte dental contra a desmineralização causada por ácidos bacterianos. Estudos também indicam que extratos de ervas como a aloe vera, quando usados em conjunto com flúor, podem oferecer benefícios adicionais na redução do biofilme bacteriano e no combate à gengivite (Gallo; Fonseca; Mendes, 2022). Assim como o uso de géis de flúor enriquecidos com extratos de plantas como camomila e própolis tem mostrado eficácia superior na prevenção de cáries e na promoção da saúde periodontal (Silva; Martinez; Souza, 2021).

O enxaguatório Água Rabelo, produzido na Paraíba, é um produto bucal tradicional e amplamente reconhecido em regiões do Nordeste do Brasil. Ele possui um histórico interessante, sendo frequentemente associado a usos populares e receitas caseiras que atravessam gerações. O Água Rabelo é um produto tradicional que, segundo o fabricante, inclui componentes como aroeira (*Schinus*

terebinthifolia), eucalipto e hortelã, os quais possuem propriedades antimicrobianas e antissépticas relatadas na literatura científica (Silva., 2017).

Assim, a pesquisa contínua sobre os mecanismos de ação desses componentes naturais e suas interações com o fluoreto é essencial para o desenvolvimento de formulações de enxaguantes bucais mais eficazes e seguras.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Incorporar fluoreto (NaF) aos enxaguatórios comerciais da Empresa Água Rabelo® e em soluções de extratos naturais, assim como monitorar estabilidade físico-química e o sequestro de fluoreto em tempos e condições de armazenamento pré-estabelecidos. Além de avaliar a atividade antimicrobiana determinando a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) das soluções de testadas (com e sem adição de NaF) frente ao *S. mutans* (INCQS00446).

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar *in vitro* e ao longo do tempo a estabilidade físico-química de enxaguatórios fitoterápicos com adição de fluoreto.
- Avaliar *in vitro* e ao longo do tempo a estabilidade físico-química de soluções de extratos naturais com adição de fluoreto.
- Verificar o sequestro de fluoreto das soluções testadas.
- Analisar estabilidade de pH durante envelhecimento dos produtos.
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) enxaguatórios fitoterápicos e soluções de extratos naturais (com e sem adição de NaF) frente ao *S. mutans* (INCQS00446).

#### **4. ARTIGO 1**

O manuscrito a seguir será submetido para publicação no periódico Plos One.  
(Qualis: A1).

**Estabilidade de fluoreto em enxaguantes bucais contendo produtos naturais: estudo *in vitro***

Thays Matias Ribeiro<sup>1</sup>, Danielle da Silva Guimarães<sup>1</sup>, Maria Vitoria Oliveira Dantas<sup>1</sup>, Rafael Ferreira Norat<sup>2</sup>, Elizabety do Nascimento Silva<sup>2</sup>, Victor Samuel de Almeida Lopes<sup>2</sup>, Alexandre Almeida Júnior<sup>3</sup>, Jocianelle Maria Félix Fernandes Nunes<sup>1</sup>, Fábio Correia Sampaio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Clínica e Odontologia Social, Centro de Ciências da Saúde, Universidade federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil;

<sup>2</sup>Curso de Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil;

<sup>3</sup>Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil;

\* Autor correspondente

E-mail: [fcsampa@gmail.com](mailto:fcsampa@gmail.com) (FCS)

Departamento de Clínica e Odontologia Social, Centro de Ciências da Saúde, Universidade federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil 58051-900

Estes autores contribuíram igualmente para este trabalho.

## Resumo

O objetivo foi monitorar a estabilidade físico-química e o sequestro de fluoreto de sódio (NaF), além de determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) frente ao *S. mutans* (INCQS00446) em extratos naturais e enxaguatórios herbais comerciais. Trata-se de estudo *in vitro* analisando parâmetros como: pH, concentração de fluoretos e turbidez/formação de fases alteração de cor. A partir de uma solução de 200 mg/L (ppm) de NaF foram preparadas as amostras de 5 enxaguatórios (Água Rabelo® Tradicional, Romã, Gengibre, Citrus e Aloe Vera) que resultassem em 10 mg/L de NaF. Os 5 extratos vegetais (1,5g; Eucalipto, Romã, Gengibre, Hortelã e Aroeira) foram solubilizados em água deionizada e diluentes (tween 80 e DMSO) e NaF para atingir 10 mg/L de NaF. As análises de fluoreto foram realizadas por potenciometria e soluções padrões de 0,5 a 10 ppm F e TISAB II. As amostras foram armazenadas por 2 meses em temperaturas de 25°C (ambiente), e de envelhecimento precoce (37°C e 45°C). Como grupo controle utilizou-se o FluorPlax com 0,05% de flúor. Os resultados demonstraram que os enxaguatórios comerciais apresentam perda gradual e constante de fluoreto livre variando de 14,18 a 0,96 ppm F no Aloe Vera em temperatura ambiente (semana 6) e o Citrus em 37°C (semana 8), respectivamente. Para os extratos vegetais os valores de fluoreto foram de 2,50 e 12,65 ppm F para extrato de aroeira em temperatura ambiente (semana 5) e de eucalipto 37°C (semana 2). O pH variou nas diferentes temperaturas ao longo do tempo, sobretudo com tendência ácida. Na análise microbiológica verificou-se que houve efeito aditivo entre o flúor e a Água Rabelo® gengibre, assim como entre o fluoreto e os extratos naturais avaliados. Os resultados indicam que a incorporação de fluoretos em enxaguatórios herbais exige procedimentos farmacotécnicos ou biotecnológicos que possam minimizar a interação química do fluoreto com grupamentos funcionais orgânicos. Logo, é possível concluir que a identificação e eliminação dos constituintes que sequestram o fluoreto nos enxaguatórios são essenciais, assim como a incorporação planejada de fluoreto para alcançar concentrações ideais para a remineralização dental simultaneidade de ação antimicrobiana.

**Palavras-chave:** Estabilidade de Cosméticos; Fluoreto de Sódio; Físico-química; Antissépticos Bucais; Antimicrobianos;

## Introdução

Pesquisas na área da odontologia apontam a cárie dentária como a doença mais prevalente na cavidade bucal e a maior responsável pela perda de dentes [Benoit *et al.*, 2019]. A cárie dentária é uma doença complexa e multifatorial, na qual há interação de características genéticas, ambientais e comportamentais. Um fator biológico indispensável para a formação da lesão de cárie é o biofilme dental [Maltz *et al.*, 2016], já que se trata de uma doença biofilme dependente de sacarose, cujo início está relacionado à interação de microrganismos acidogênicos e acidúricos na cavidade bucal [Machiulskiene *et al.*, 2020].

A formação do biofilme cariogênico trata-se de um processo dinâmico, no qual ocorre a produção de uma matriz rica em exopolissacarídeos derivados de bactérias acidogênicas. Dentre os principais microrganismos envolvidos, o que se destaca por sua capacidade de colonizar superfícies dentárias, metabolizar carboidratos e produzir ácido láctico é o *Streptococcus mutans* [Klein *et al.*, 2015]. Outras bactérias estão relacionadas ao início e progressão da doença, como os *Lactobacillus spp.*, *Actinomyces spp.* e *Bifidobacterium spp.* [Bueno-Silva *et al.*, 2013; Takahashi & Nyvad, 2011; Ribeiro, 2023].

Analisando métodos de prevenção da cárie e na demanda pelo desenvolvimento de novos materiais, busca-se o controle do biofilme bacteriano em avaliações laboratoriais de agentes antimicrobianos para determinar o potencial dos mesmos [Pratten *et al.*, 1998].

O controle mecânico do biofilme por meio da escovação dentária e interdentária é o melhor método de prevenção para reduzir a cárie dentária. Esta ação mecânica é enriquecida com o uso de produtos para controle químico do biofilme [Van Der Weijden e Slot, 2015]. Logo, a associação entre os métodos mecânicos e químicos é mais eficaz para reduzir a formação de biofilme [Sampaio *et al.*, 2020; Valkenburg *et al.*, 2020; Walsh *et al.*, 2019].

Nesse sentido, produtos com atividade antimicrobiana podem ser usados como adjuvantes nas medidas de higiene bucal devido à sua capacidade de controlar a formação de biofilme e entrega de agentes ativos aos dentes e gengivas

[De Luca *et al.*, 2017; Chatterjee *et al.*, 2017; Lynch *et al.*, 2018]. Os cremes dentais apresentam em sua composição agentes ativos que têm ação mineralizante e/ou antimicrobiana, como o fluoreto (F) [Valkenburg *et al.*, 2020; Walsh *et al.*, 2019]. Bem como os enxaguatórios bucais que também possuem importante papel no controle químico de microrganismos [Pattnaik *et al.*, 2022].

Para tanto, um enxaguatório bucal ideal deve possuir alguns requisitos como: estabilidade, baixa tensão superficial, poder antimicrobiano e ausência de toxicidade. Como exemplo de enxaguatório temos a clorexidina (CHX), que é considerada o padrão-ouro, com significativo uso na odontologia e eficácia comprovada [Zheng e Wang, 2011; Mathur *et al.*, 2011; Villa *et al.*, 2018]. Porém, mesmo apresentando os benefícios clínicos, os efeitos colaterais da CHX preocupam [Kouadio *et al.*, 2017; Pattnaik *et al.*, 2021].

O uso prolongado de enxaguatórios bucais contendo clorexidina está associado a vários efeitos colaterais que podem impactar a saúde bucal e geral dos pacientes. Um dos efeitos adversos mais frequentemente relatados é a descoloração dos dentes e da língua, já que a clorexidina pode causar manchas marrons ou amarelas nas superfícies dentárias, especialmente em áreas de acúmulo de biofilme [Jones, 200]. Além disso, o uso prolongado de clorexidina pode levar a uma alteração temporária do paladar, incluindo um gosto metálico ou amargo persistente na boca [Addy; Wade; Goodfield, 1995]. e também pode causar irritação da mucosa oral, resultando em sensação de queimação, secura ou dor nas gengivas e outras partes da boca. [Flotra, 1971].

Além disso, para que o enxaguatório bucal seja indicado para uso, seja ele a base de produtos naturais ou não, o mesmo precisa ter ação remineralizadora, logo, a presença do fluoreto é indispensável. O fornecimento diário de F na saliva e no biofilme favorece a remineralização e inibe a desmineralização das lesões de cárie [Marinho *et al.*, 2003].

Portanto, há uma busca constante por enxaguatórios com eficácia comparável a clorexidina e mínimos efeitos colaterais [Kouadio *et al.*, 2017; Pattnaik *et al.*, 2022]. Por isso, muita ênfase tem sido colocada em produtos naturais contendo diversas substâncias com atividade antimicrobiana para o controle de

biofilmes cariogênico com mínimos efeitos colaterais [Martins *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2019].

Plantas medicinais têm sido utilizadas na odontologia devido às suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Estudos têm investigado a combinação de plantas medicinais com flúor para potencializar os efeitos preventivos e terapêuticos no cuidado dental. Ensaio clínico demonstraram que os produtos de higiene bucal que contêm fluoretos e arginina possuem um maior efeito anti-cárie em comparação com aqueles que contêm apenas íon flúor, indicando sinergia entre fluoreto e arginina no tratamento da cárie [Kraivaphan 2013.; Li *et al.*, 2015; Goyal *et al.*, 2023].

Mais recentemente, enxaguatórios contendo a associação de polifenóis e fluoretos foram formuladas para prevenção de erosão dentária. As soluções foram preparadas com polifenóis de extrato de semente de uva ou extrato de cranberry, com adição de 500 ppm de fluoretos de estanho e foram promissoras como agentes anti-erosão [Baumann *et al.*, 2023]. Essas observações demonstram o potencial para formulação de produtos de oral *care* de origem natural em associação do fluoreto combinando a ação antimicrobiana e remineralizante no mesmo produto.

Nesse sentido, analisando algumas das características propostas pela marca ao mercado como: propriedades biológicas, ação antiinflamatória, antioxidante e potencial antimicrobiano, além da solicitação da indústria para avaliação dos seus produtos, realizou-se a escolha dos enxaguatórios da Empresa Água Rabelo® para análise de seu potencial para associação com fluoretos em sua formulação [Martins *et al.*, 2019].

O enxaguatório Água Rabelo, produzido na Paraíba, é um produto bucal tradicional e amplamente reconhecido em regiões do Nordeste do Brasil. Ele possui um histórico interessante, sendo frequentemente associado a usos populares e receitas caseiras que atravessam gerações. O Água Rabelo é um produto tradicional que, segundo o fabricante, inclui componentes como aroeira (*Schinus terebinthifolia*), eucalipto e hortelã, os quais possuem propriedades antimicrobianas e antissépticas relatadas na literatura científica [Silva., 2017].

O Produto Água Rabelo, tradicionalmente conhecido como um medicamento, passou por uma reclassificação e agora é categorizado como um produto de cuidado oral (oral care). Esse movimento foi motivado por diversos fatores que refletem tanto as mudanças nas regulamentações sanitárias quanto a evolução das práticas de consumo e necessidades dos usuários. A Água Rabelo, que contém componentes como extratos de ervas e óleos essenciais, foi identificada como adequada para a categoria de cuidado oral, na qual seus ingredientes são mais comumente utilizados [ANVISA, 2001]

Os produtos herbais fluoretados têm ganhado destaque como uma abordagem inovadora e natural na odontologia preventiva, combinando os benefícios terapêuticos das plantas medicinais com a eficácia comprovada do flúor na prevenção de cáries. Estes produtos são formulados com extratos de ervas, como a aloe vera, camomila e própolis, que possuem propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes. A combinação com o flúor não apenas reforça a remineralização do esmalte dental, mas também proporciona uma defesa adicional contra a formação do biofilme bacteriano e da doença cárie. Estudos recentes indicam que essa sinergia entre compostos naturais e flúor pode oferecer uma alternativa eficaz e segura, atendendo à crescente demanda por produtos de higiene bucal mais naturais e ecologicamente sustentáveis [Gallo; Fonseca; Mendes, 2022; Verdi *et al.*, 2022]. Além disso, a utilização de ingredientes herbais reduz a probabilidade de efeitos colaterais associados a produtos sintéticos, promovendo uma saúde bucal mais holística e integrada [Silva; Martinez; Souza 2021; Gupta; Dhingra; Sharma, 2022].

Assim, o objetivo da pesquisa foi incorporar fluoreto (NaF) aos enxaguatórios herbais comerciais da Empresa Água Rabelo® e em soluções de extratos naturais os quais estão presentes nos enxaguatórios selecionados e possuem ação comprovada, assim como monitorar estabilidade físico-química, o sequestro de fluoreto em tempos e condições de armazenamento pré-estabelecidos e avaliar a atividade antimicrobiana das soluções de testadas (com e sem adição de NaF) frente ao *S. mutans* (INCQS00446). Com a finalidade de produção de enxaguatórios com simultaneidade de ação antimicrobiana e remineralizante.

## **Materiais e métodos**

### **Delineamento experimental**

Trata-se de estudo laboratorial experimental *in vitro*, do tipo exploratório, que consistirá na incorporação e avaliação da estabilidade físico-química do enxaguatório fitoterápico Água Rabelo® e em soluções de extratos naturais em tempos e condições de armazenamento pré-estabelecidos [Marconi; Lakatos, 2002; Freitas, 1984].

### **Local da pesquisa e produtos**

Os ensaios físico-químico e microbiológico foram realizados no Laboratório de Biologia Bucal (Labial) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

**Tabela 1: Produtos testados na pesquisa com incorporação de fluoreto.**

<b>ÁGUA RABELO</b>	<b>DESCRIÇÃO</b>
<b>T1</b>	Água Rabelo® Tradicional + 10 ppm F
<b>R1</b>	Água Rabelo® Romã + 10 ppm F
<b>A1</b>	Água Rabelo® Aloe Vera + 10 ppm F
<b>G1</b>	Água Rabelo® Gengibre + 10 ppm F
<b>C1</b>	Antisséptico Natural Água Rabelo® Citrus+ 10 ppm F
<b>CONTROLE POSITIVO</b>	Solução de fluoreto de sódio - Fluorplax day® (0,05%)
<b>CONTROLE NEGATIVO</b>	Água deionizada
<b>EXTRATOS NATURAIS</b>	<b>Descrição</b>
<b>E1</b>	Óleo essencial de eucalipto® (Eucalyptus) + 10 ppm F (Phytoterápica®)
<b>E2</b>	Extrato flúido de Romã (Punica granatum) + 10 ppm F (manipulado em farmácia)
<b>E3</b>	Extrato etanólico de Gengibre (Zingiber officinale) + 10 ppm F (extraído em laboratório)
<b>E4</b>	Óleo essencial de Hortelã (Nectar Plus®) (Mentha spicata ou Mentha piperita) + 10 ppm F
<b>E5</b>	Extrato flúido de Aroeira (Schinus terebinthifolia) + 10 ppm F (manipulado em farmácia)
<b>CONTROLE NEGATIVO</b>	Água deionizada
<b>CONTROLE NEGATIVO + DILUENTES</b>	Tween 80 + DMSO + água deionizada

**Quadro 1: Propriedades químicas dos fitoconstituintes dos produtos utilizados na pesquisa.**

<b>Propriedades químicas dos fitoconstituintes</b>
<p><b>Romã (Punica granatum)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ácidos Fenólicos: Inclui ácido gálico, ácido elágico e punicalaginas, conhecidos por suas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias [Gil et al., 2000; Li et al., 2006].</li> <li>• Flavonoides: Como quercetina e kaempferol, que contribuem para a capacidade antioxidante e potenciais benefícios para a saúde cardiovascular [Seeram, 2021].</li> <li>• Antocianinas: Pigmentos responsáveis pela cor vermelha do romã, com propriedades</li> </ul>

antioxidantes [Mphahlele et al., 2018].

- Taninos: Especialmente as punicalaginas, associadas à atividade antioxidante e outros benefícios biológicos [Jurenka, 2008].

#### **Aloe Vera (Aloe vera)**

- Polissacarídeos: Como a glucomanana, responsável pelas propriedades hidratantes e calmantes da pele [Surjushe et al., 2008].
- Antraquinonas: Como aloína e emodina, com propriedades laxativas e anti-inflamatórias [Foster et al., 2000].
- Saponinas: Com efeitos antimicrobianos e anti-inflamatórios [Rodrigues et al., 2016].

#### **Gengibre (Zingiber officinale)**

- Gingeróis e Shogaóis: Compostos bioativos responsáveis pelo sabor picante e propriedades antioxidantes [Semwal et al., 2015].
- Fenóis e Flavonoides: Contribuem para as propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes do gengibre [Ghasemzadeh et al., 2018].
- Terpenos: Como o zingibereno, com potencial atividade antimicrobiana e anti-inflamatória [Butt et al., 2020].

#### **Hortelã (Mentha spicata ou Mentha piperita)**

- Mentol: Composto principal responsável pelo aroma refrescante e propriedades analgésicas [McKay & Blumberg, 2006].
- Flavonoides: Como hesperidina e luteolina, com atividade antioxidante e potencial anti-inflamatório [Burdock & Carabin, 2009].
- Óleos Essenciais: Rico em monoterpenos como o mentol e o carvona, que têm efeitos antiespasmódicos e relaxantes musculares [Juergens et al., 2014].

#### **Eucalipto (Eucalyptus)**

- Óleos Essenciais: Contém cineol (eucaliptol), que possui propriedades antissépticas e expectorantes [Sadlon & Lamson, 2010].
- Fenóis: Contribuem para as propriedades antioxidantes e antimicrobianas do eucalipto [Silva et al., 2017].
- Taninos e Flavonoides: Com potencial atividade anti-inflamatória e cicatrizante [Almeida et al., 2018].

#### **Aroeira (Schinus spp.)**

- Fenóis e Polifenóis: Inclui ácido gálico e derivados, que contribuem para as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da aroeira [Leite et al., 2018].

- Óleos Essenciais: Compostos como o  $\alpha$ -pineno e o  $\beta$ -pineno, que possuem atividades antimicrobiana e anti-inflamatória [Silva et al., 2016].
- Taninos: Presentes na casca, com potencial atividade adstringente e cicatrizante [Braga et al., 2007].

## Incorporação de fluoreto (NaF) nos colutórios e extratos

As amostras da pesquisa do grupo Água Rabelo® foram adicionadas de fluoreto de sódio (NaF) para incorporação de fluoreto na mesma. Realizou-se o cálculo para que a amostra final obtivesse 10ppm de fluoreto livre. Assim, foi preparada uma solução, intitulada “solução mãe de flúor” contendo 200ppm de flúor.

### **Cálculo equivalente a 1L – solução mãe de flúor**

$$\begin{array}{r}
 1 \text{ mol NaF} \text{ ----- } 1 \text{ mol de F} \\
 42 \text{ g/mol de NaF} \text{ ----- } 19 \text{ g/mol de F} \\
 x \text{ ----- } 0,200 \text{ g/mol de F} \\
 \rightarrow x = \mathbf{0,4421 \text{ g de NaF}} \text{ (para diluir em 1 litro de água deionizada)}
 \end{array}$$

A partir dessa solução, foram preparadas as amostras que posteriormente foram analisadas sendo elas compostas por: 47,5mL de Água Rabelo® + 2,5mL da solução mãe contendo flúor, logo a amostra final apresentou 10 ppm de flúor.

Já a incorporação de fluoreto aos extratos foi realizada com a pesagem inicial de 1,5g do extrato para que ao final se obtivesse 3% deste na solução de 50mL. Portanto, em um tubo falcon de 50mL foi adicionado 42,5mL de água deionizada, mais 5% de tween 80 (2,5mL) e 5% DMSO (2,5mL) como diluentes do extrato e 2,5mL da solução mãe contendo flúor com 200 ppmF, ou seja, obtentose 10 ppm de fluoreto na concentração final [Carvalho et al., 2022].

## Análise de estabilidade

Para análise foi realizada a calibração do eletrodo. As análises de fluoreto nas amostras foram realizadas pelo método de leitura direta, utilizando o eletrodo Half Cell flúor-íon-específico (BN modelo 9409, Orion, Cambridge, MA, EUA) e um potenciômetro (Modelo 290 A+ Orion) foram usados para medições de fluoreto

específico.

As soluções padrões de 0,5 a 10 ppm F foram preparadas em água destilada e deionizada a partir de solução estoque-padrão por diluição seriada [Luciano, 2020]. Já as soluções padrões para análise dos extratos foram acrescidas dos diluentes tween 80 (5%) e DMSO (5%), contudo mantendo as mesmas concentrações. As amostras foram analisadas na proporção 1:1 com TISAB II (Total Ionic Strength Adjustor Buffer), pipetando-se o volume de 500µL de cada padrão acrescido de 500µL de TISAB II.

A solução de TISAB II tem a função de manter constante a força iônica da solução analisada e ajustar o pH para 5,0, dissociando todo o fluoreto presente. As leituras foram fornecidas em milivolts (mV), em triplicata para cada padrão.

Os potenciais de milivoltagem foram convertidos em mg/L utilizando para isso uma curva padrão com coeficiente de correlação  $r^2 \geq 0,99$ . Somente curvas de calibração com porcentagem de variação menor que 10 foram consideradas. A cada 9 amostras foi verificada a calibração com soluções de fluoreto com concentração conhecida. As leituras em milivoltagem (mV), em triplicata para cada padrão, foram transformadas em concentração (teor) de fluoreto (mg/L F) no programa Windows-Excel® e, assim, registrados.

A concentração de fluoreto foi obtida pela média das três leituras das amostras analisadas e uma análise descritiva dos dados foi realizada e cada uma das amostras analisadas, classificada segundo sua concentração de fluoreto [Brasil, 2004b]. As amostras foram classificadas como adequadas quando as concentrações de fluoreto estiveram preservadas.

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada N°04 [2014] da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a rotulagem para produtos de enxaguatórios bucais deve indicar o nome do composto de fluoreto utilizado e sua concentração em ppm (parte por milhão). Mais especificamente na RDC N° 530 [2021], a concentração máxima autorizada no produto final é de 0,15% expresso como flúor. Em caso de mistura com outros compostos fluorados permitidos, a concentração máxima total de fluoreto não excederá 0,15%. Assim, seguindo a RDC N°79 [2000] da ANVISA a concentração deve estar compreendida entre o

mínimo de 202,5 ppm e o máximo de 247,5 ppm F.

Por se tratar de um estudo exploratório, foi realizado um protocolo de envelhecimento e análise da estabilidade do fluoreto semelhante ao envelhecimento de cremes dentais [Freitas, 1984]. As amostras foram marcadas de forma cuidadosa com a identificação de cada produto. Grupos de cada tipo do colutório Água Rabelo® e extratos foram armazenados em área climatizada controlada durante 2 meses. Sendo elas: 25°C (temperatura ambiente), 37°C em estufa e 45°C em estufa.

## **Teste de pH**

Aferiu-se o pH através do potenciômetro, onde a calibração do aparelho foi realizada com soluções-tampão pH 4,0 e 7,0, as quais possibilitam que haja uma linearidade nas respostas em relação às alterações de potencial observadas. Os resultados corresponderam à média das leituras, em triplicata, de cada amostra.

## **Avaliação da atividade antimicrobiana**

A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foram realizadas de acordo com o protocolo de referência do Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI M100-S22 [CLSI, 2012]. A avaliação da atividade antimicrobiana foi verificada nas soluções testadas previamente selecionadas com base no desempenho da análise físico-química (Água Rabelo® Tradicional com e sem o íon flúor e Água Rabelo® Gengibre com e sem o íon flúor; Extrato de gengibre com e sem o íon flúor e Extrato de eucalipto com e sem o íon flúor).

Para avaliar a CIM, foram utilizadas placas de microtitulação de 96 poços, na qual foram distribuídas as soluções testadas com diferentes concentrações do produto teste, com variação decrescente do espécime testado [Martins et al., 2019] pela técnica de diluição seriada. Os enxaguatórios bucais e o extratos foram diluídos em série pela transferência de 100 µL do conteúdo do poço mais concentrado para o menos concentrado [CARDOSO et al., 2016 ; DA CUNHA et al., 2013; MARTINS et al., 2019]. Após a diluição, 100 µL do conteúdo da última

coluna foram dispensados para igualar o volume de todos os poços. Finalmente, 5 µL do inóculo bacteriano ( $5 \times 10$  UFC/mL) foram inserido em cada poço.

Como validação da metodologia, foi utilizada a clorexidina 0,12% como controle antimicrobiano; uma suspensão microbiana em desenvolvimento como controle de crescimento, sem adição de antimicrobianos; e um meio de cultura estéril, sem adição de antimicrobianos ou microorganismos, como controle de esterilidade. Após o preenchimento de todos os poços, as microplacas foram fechadas e incubadas nas condições exigidas pelo *S. mutans* (INCQS00446). As placas preparadas foram incubadas por 24 h a 37 °C, com 5% de CO<sub>2</sub> (CARDOSO *et al.*, 2016; MARTINS *et al.*, 2018).

Em seguida, a viabilidade dos microrganismos foi avaliada pelo método de redução do sal de resazurina (Martins *et al.*, 2018; Sarker, Nahar, & Kumarasamy, 2007). 70 µL de resazurina (Sigma, Steinheim, Alemanha) foram adicionados em cada poço da microplaca, em seguida as placas foram seladas e reincubadas por mais 30 minutos, e após este período [ANDREWS, 2001] foi realizado o gotejamento da diluição seriada em placa petri, subcultivando (20 µL) a partir das diluições dos enxagatários correspondentes.

Após cultivo das placas (24h) foi realizada a leitura e determinada a CIM e a CBM visualmente. A menor concentração das substâncias que impediram o crescimento visível da subcultura ou a formação de até três Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foi considerada a CBM (Pozzatti *et al.*, 2009). Concentrações que forem formadas mais de três UFCs foram consideradas apenas inibitórias para o crescimento microbiano.

## **Análise estatística**

Os dados foram conduzidos para banco de dados informatizados, e analisados pela estatística descritiva (média, desvio-padrão, mediana) e inferencial. Foram aplicados testes paramétricos e não paramétricos de acordo com seus pressupostos. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5% ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Foi realizado um teste preliminar de normalidade, o Kolmogorov-Smirnov.

Se trata de uma ferramenta poderosa para verificar a conformidade de uma amostra com uma distribuição teórica ou para comparar duas amostras [Massey, 1951; Gibbons & Chakraborti, 2020; Conover, 2018].

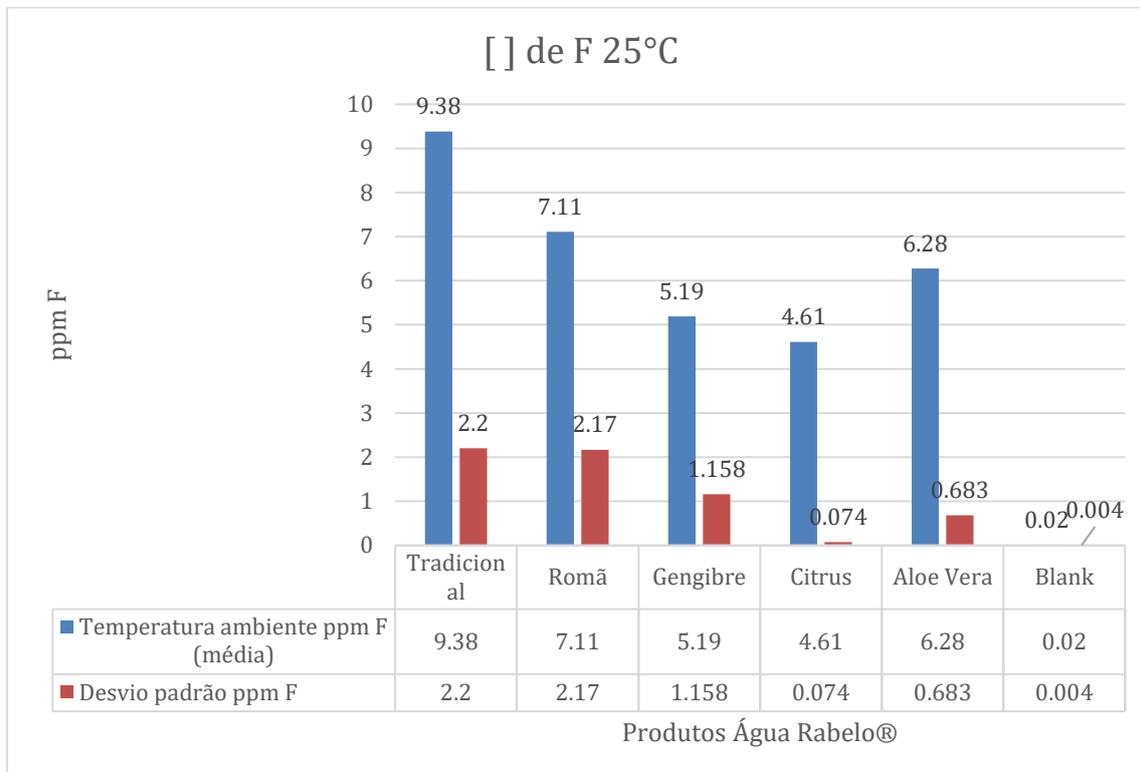
Então, foi realizado o teste de Friedman, que se trata de uma técnica estatística não paramétrica usada para comparar três ou mais grupos em que as mesmas amostras são medidas repetidamente. É uma alternativa ao teste ANOVA de medidas repetidas quando os pressupostos de normalidade não são atendidos. Ele é útil para analisar dados que consistem em classificações ou medições em diferentes condições [Howell, 2012; Siegel & Castellan, 1988].

## **Resultados**

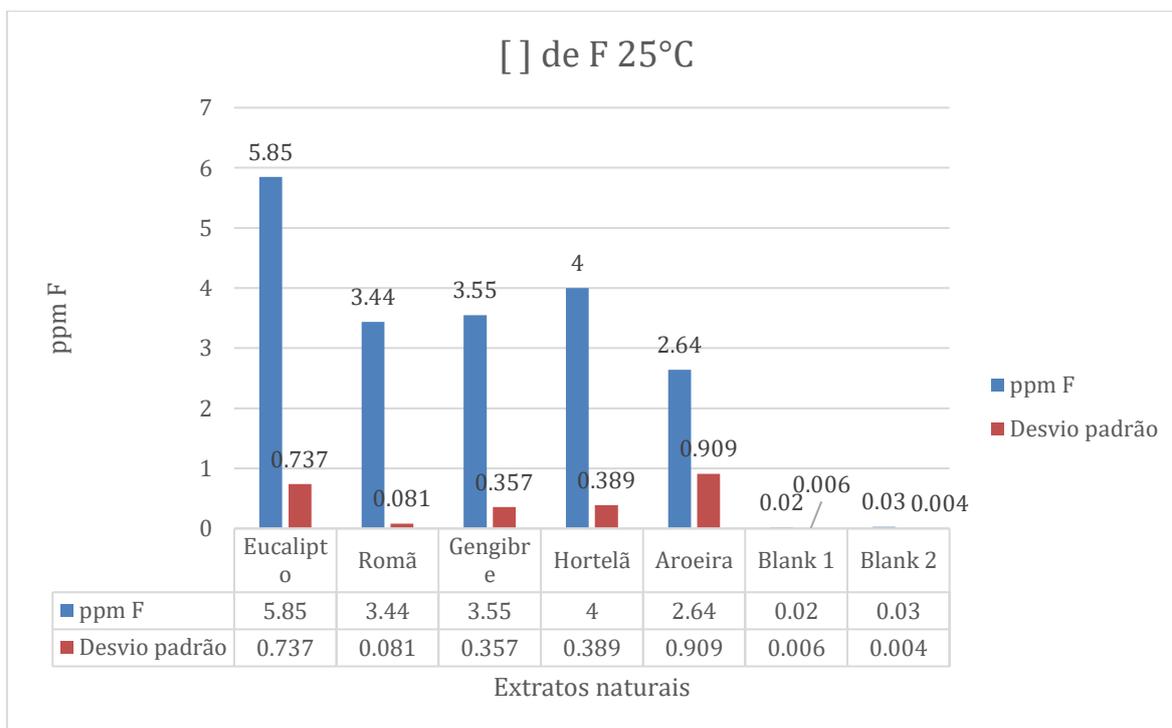
### **Análise físico-química**

O primeiro dia das análises foi considerado como dia zero, já que foi o dia de preparo das soluções. Nesse mesmo dia, foi realizada a leitura das amostras em temperatura ambiente. Nessas condições, verificou-se que a solução do grupo Água Rabelo® que possuiu maior concentração de fluoreto foi o enxaguatório Tradicional com 9,38 ppm de fluoreto e a menor concentração foi o Citrus com 4,61 ppm de fluoreto (Fig.1). No grupo dos extratos, o que apresentou maior concentração de fluoreto foi a solução de eucalipto (5,85 ppm F) e a menor concentração obtida foi do extrato de aroeira (2,64 ppm F), como pode ser observado na figura 2.

**Figura 1: Concentração de fluoreto dos produtos Água Rabelo® a 25°C (temperatura ambiente) – primeira análise.**

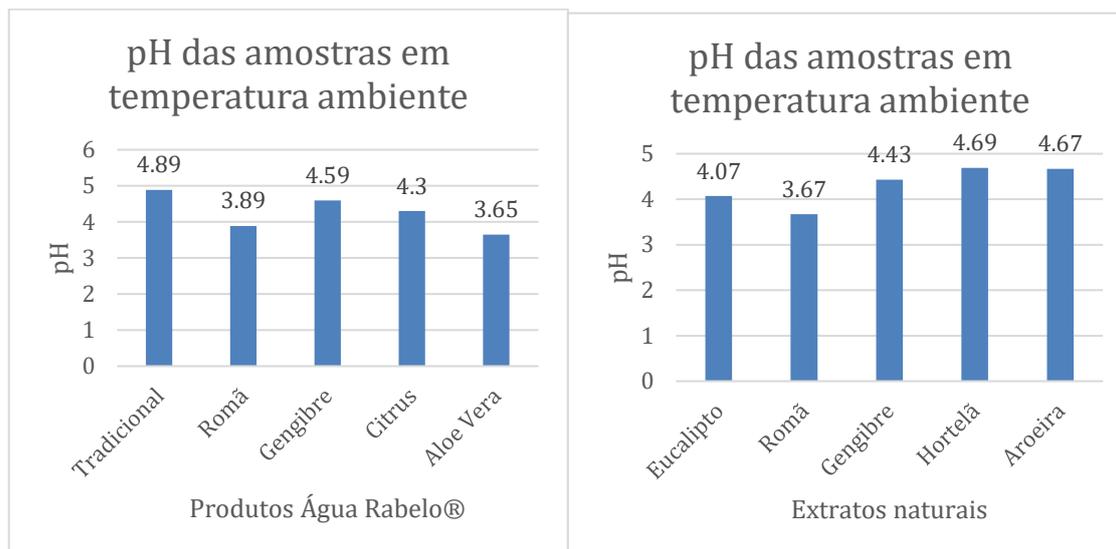


**Figura 2: Concentração de fluoreto nos Extratos Naturais a 25°C (temperatura ambiente) – primeira análise.**



Já no que diz respeito ao pH (Fig.3), o mesmo variou entre 3,89 (Água Rabelo® - Romã) e 4.89 (Água Rabelo® - Tradicional), mantendo-se equilibrado. No grupo dos extratos, este variou entre 3,67(extrato de romã) e 4,69 (extrato de hortelã).

**Figura 3: pH dos produtos testados em temperatura ambiente.**



No segundo dia as soluções foram analisadas segundo as temperaturas pré-estabelecidas, sendo elas: 25°C (temperatura ambiente), 37°C e 45°C semelhante ao protocolo de envelhecimento para cremes dentais [Freitas, 1984].

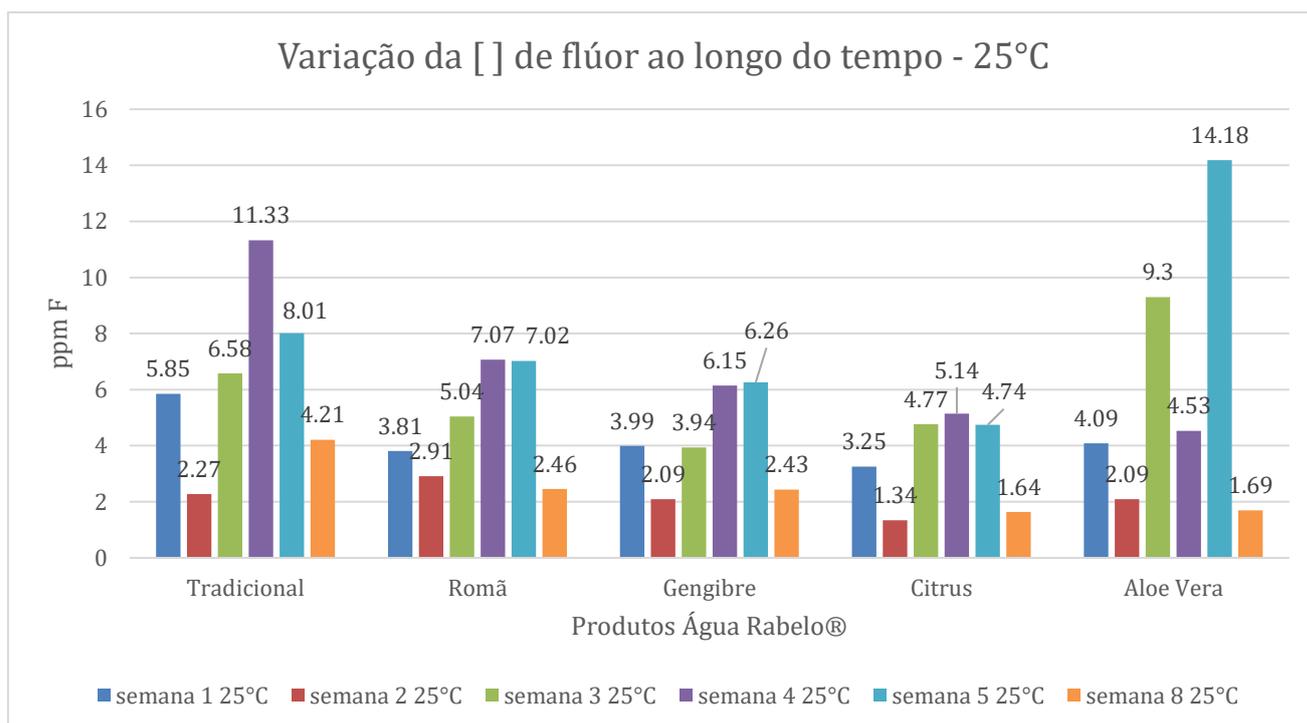
No grupo das soluções de Água Rabelo® armazenadas em temperatura ambiente (Fig. 4), a que possuiu maior concentração de fluoreto foi a Água Rabelo® Tradicional (5,85 ppm F) e a menor concentração foi o Citrus (3,25 ppm F). Já na segunda semana de análise, houve variação da concentração de fluoreto de forma decrescente comparado a primeira. O enxaguatório que possuiu maior concentração de fluoreto foi o Romã (2,91 ppm F) e o de menor concentração foi novamente o Citrus (1,34 ppm F). Na terceira semana, a maior concentração de fluoreto foi na Água Rabelo® Aloe Vera (9,30 ppm F) e a menor concentração foi a de Gengibre (3,94 ppm F).

Na quarta semana o enxaguatório Água Rabelo® Tradicional retomou a maior concentração de fluoreto (11,33 ppm F) e a menor concentração permaneceu sendo o enxaguatório de Aloe Vera (4,53 ppm F). Na quinta semana a concentração de fluoreto mudou consideravelmente sendo a maior no enxaguatório Água

Rabelo® Aloe Vera (14,18 ppm F) e a menor concentração sendo o enxaguatório de Citrus (4,74 ppm F). E na oitava semana retomou a maior concentração na Água Rabelo® Tradicional (4,21 ppm F) e a menor concentração na Água Rabelo® Aloe Citrus (1,64 ppm F).

Durante as semanas houve instabilidade no valor de concentração do fluoreto nas amostras em temperatura ambiente. Sobretudo, levando em consideração as 8 semanas avaliadas, o melhor desempenho foi apresentado na Água Rabelo® Tradicional, já que durante as semanas a mesma se manteve com maior conservação da incorporação do fluoreto, apesar do declínio de todas as amostras. E a de menor incorporação do fluoreto durante as semanas foi a Água Rabelo® Citrus.

**Figura 4: Variação da concentração de fluoreto dos enxaguatórios da Água Rabelo® armazenados a 25°C.**



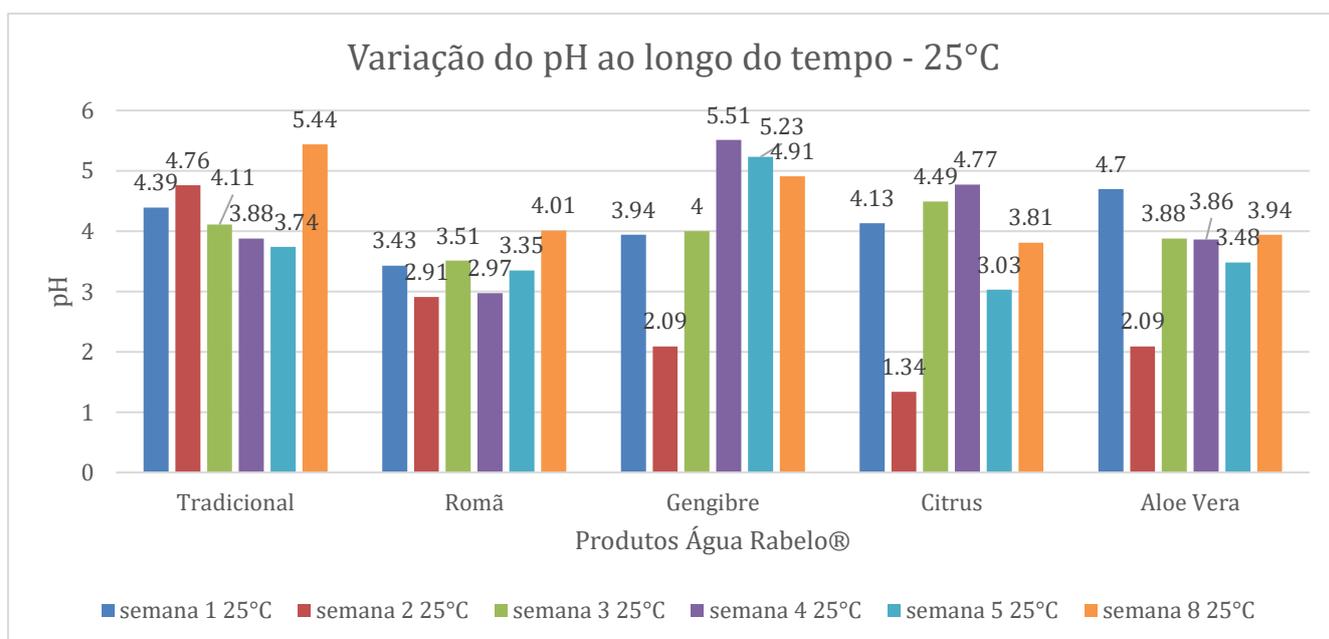
Em relação ao pH nas amostras de Água Rabelo® armazenados em temperatura ambiente (Fig. 5), variou entre 3,43 (Água Rabelo® Romã) e 4,70 (Água Rabelo® Aloe Vera) na primeira semana de envelhecimento. Na segunda semana, o pH com menor valor obtido foi 1,34 (Água Rabelo® Citrus) e o maior valor 4,76 (Água Rabelo® Tradicional). Da primeira para a segunda semana de

envelhecimento, nota-se, numa visão geral, uma queda de pH das amostras testadas, porém, foi identificado um discreto aumento de pH na Água Rabelo® Tradicional ao longo das duas semanas. E na terceira semana, o pH variou entre 3,51 (Água Rabelo® Romã) e 4,49 (Água Rabelo® Citrus). Notou-se disparidade no valor de pH da Água Rabelo® Citrus da segunda para a terceira semana.

Na quarta semana o pH variou entre 2,97 (Água Rabelo® Romã) e 5,51 (Água Rabelo® Gengibre) mantendo-se com tendência ácida em todas as amostras. Já na quinta semana, o pH variou entre 3,03 (Água Rabelo® Citrus) e 5,23 (Água Rabelo® Gengibre). E na oitava semana o pH variou entre 3,81 (Água Rabelo® Citrus) e 5,44 (Água Rabelo® Tradicional).

Verificou-se, ao longo de 8 semanas, a Água Rabelo® Citrus apresentando um pH muito ácido em comparação com outras soluções, o menor pH apresentado foi de 1,34. Já o maior pH registrado foi na Água Rabelo® gengibre (5,51), contudo também foi possível observar que a Água Rabelo® Tradicional manteve concentrações de fluoreto relativamente mais altas em comparação com outras amostras.

**Figura 5: Variação de pH dos enxaguatórios da Água Rabelo® armazenados a 25°C.**



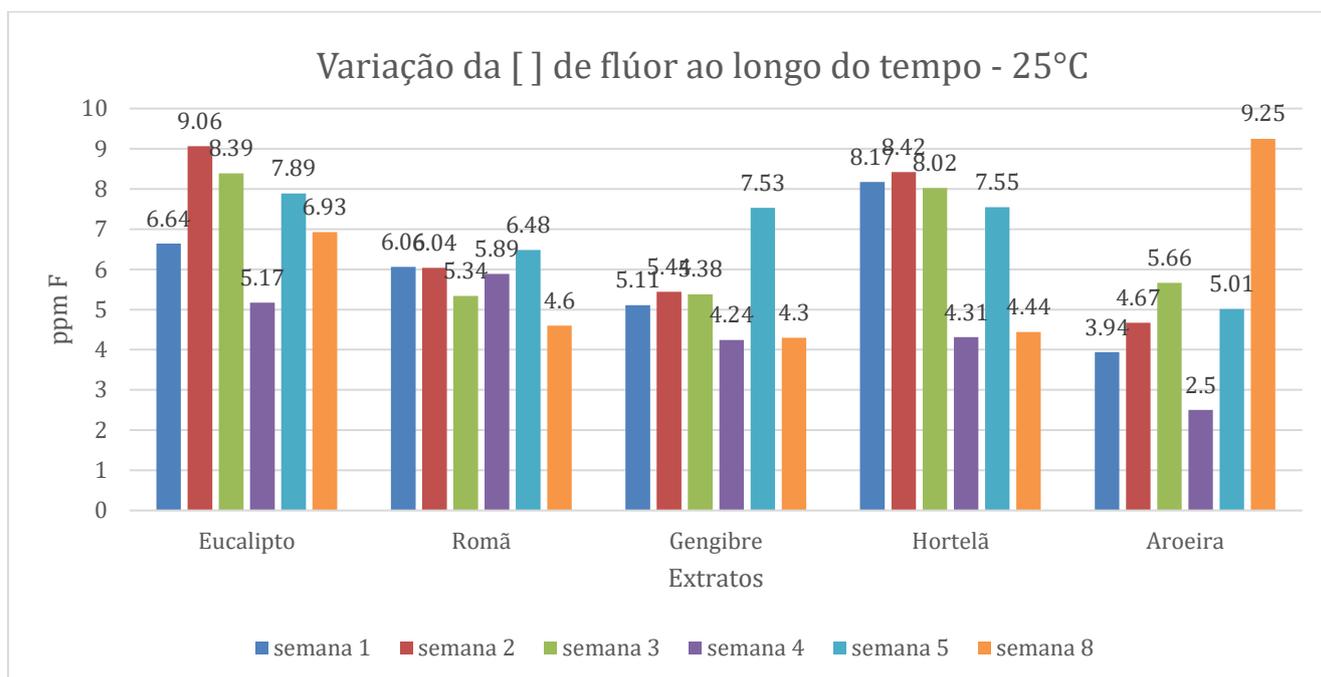
No grupo dos extratos armazenados em temperatura ambiente (Fig. 6), o que apresentou maior concentração de fluoreto na primeira semana foi a solução

de hortelã (8,17 ppm F) e a menor concentração obtida foi do extrato de aroeira (3,94 ppm F). Na segunda semana a variação se deu entre o extrato de eucalipto (9,06 ppm F) e o extrato de aroeira (4,67 ppm F). Entre as duas semanas analisadas, observou-se discreto aumento na concentração de flúor, com ênfase no extrato de eucalipto que aumentou consideravelmente sua concentração. E na terceira semana, a maior concentração se apresentou no extrato de eucalipto (8,39 ppm F) e a menor no extrato de romã (5,34 ppm F).

Na quarta semana a maior concentração obtida foi no extrato de romã (5,89 ppm F) e a menor no extrato de aroeira (2,5 ppm F). Na quinta semana a maior concentração se apresentou no extrato eucalipto (7,89 ppm F) e a menor concentração novamente no extrato de aroeira (5,01 ppm F). Diferentemente das semanas anteriores, pode-se observar na oitava semana a maior concentração no extrato aroeira (9,25 ppm F) e a menor no extrato de gengibre (4,3 ppm F).

Durante as oito semanas, os extratos de eucalipto e gengibre mostraram melhor desempenho em termos de concentração de fluoreto, em comparação com outros extratos avaliados. O extrato de eucalipto, em particular, manteve consistentemente altas concentrações de fluoreto, sugerindo uma composição química que favorece a estabilização do fluoreto. Em contraste, o extrato de aroeira apresentou um desempenho mais baixo na incorporação de fluoreto em temperatura ambiente, com grandes variações ao longo do tempo.

**Figura 6: Variação da concentração de fluoreto nos extratos naturais armazenados a 25°C.**



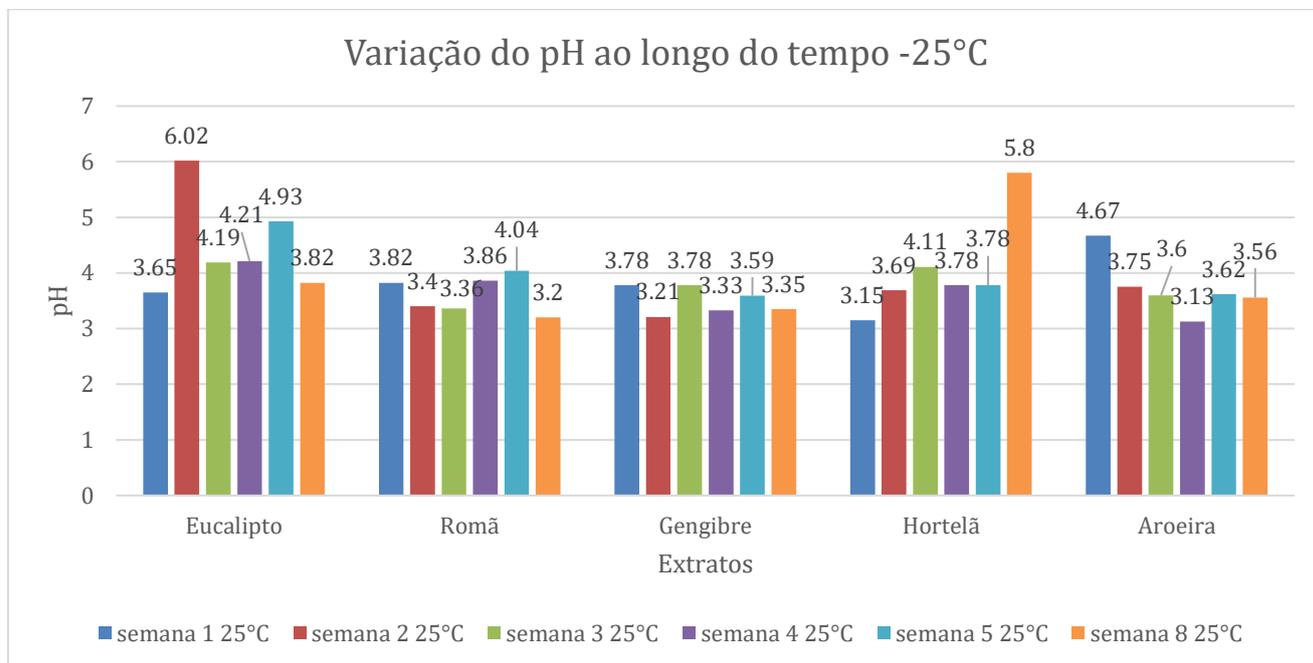
Em relação ao pH dos extratos armazenados em temperatura ambiente (Fig. 7), variou entre 3,15 (extrato de hortelã) e 4,67 (extrato de aroeira) na primeira semana e na segunda semana houve discrepância entre o extrato de gengibre (pH 3,21) com pH mais ácido e o extrato de eucalipto (pH 6,02) com pH em tendência ao neutro. Comparado a terceira semana, o pH dos extratos variou entre o extrato de romã (pH 3,36) e o extrato de eucalipto (pH 4,19). Observa-se o extrato de eucalipto novamente com tendência ao neutro.

Na quarta semana o pH dos extratos variou entre o extrato de aroeira (pH 3,13) e o extrato de eucalipto (pH 4,21). Na quinta semana o pH dos extratos variou entre o extrato de gengibre (pH 3,59) e o extrato de eucalipto (pH 4,93). O extrato de eucalipto continuou mostrar uma tendência a um pH mais próximo do neutro. Oitava semana o pH dos extratos variou entre o extrato de romã (pH 3,2) e o extrato de hortelã (pH 5,8).

Os dados de pH ao longo das oito semanas indicam que os extratos de eucalipto e hortelã mostraram uma tendência a manter um pH mais neutro. Em contraste, os extratos de aroeira e gengibre apresentaram pHs mais ácidos. A ampla variação nos valores de pH ao longo do tempo sugere que a estabilidade do

pH pode ser influenciada por vários fatores, incluindo a composição química dos extratos e possíveis interações com o ambiente de armazenamento.

**Figura 7: Variação de pH dos extratos naturais armazenados a 25°C.**

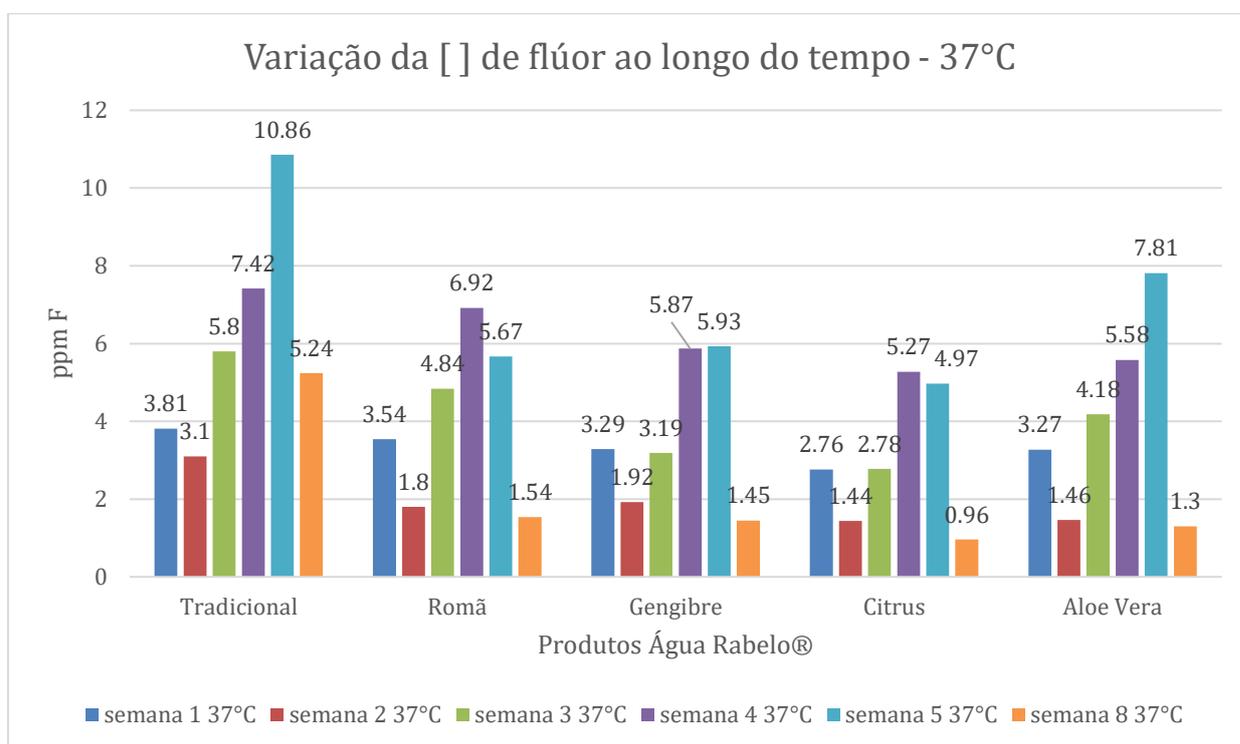


No grupo das amostras de Água Rabelo® armazenadas à 37°C (Fig. 8), a maior concentração foi obtida na Tradicional (3,81 ppm F) e a menor concentração foi na Citrus (2,76 ppm F). Segunda semana a maior concentração permaneceu na Água Rabelo® Tradicional (3,1 ppm F) e a menor na Água Rabelo® Citrus (1,44 ppm F). Seguindo a tendência na terceira semana com maior concentração de fluoreto na Água Rabelo® Tradicional (5,80 ppm F) e a menor concentração foi na Citrus (2,78 ppm F). Durante as três semanas analisadas, foi observada a permanência da maior concentração de fluoreto na Água Rabelo® Tradicional e a menor concentração na Água Rabelo® Citrus na temperatura de 37°C.

Quarta semana a maior concentração foi obtida na Água Rabelo® Tradicional (7,42 ppm F) e a menor concentração foi na Água Rabelo® Citrus (5,27 ppm F). De modo semelhante, na quinta semana a maior concentração foi obtida na Água Rabelo® Tradicional (10,86 ppm F) e a menor concentração foi na Água Rabelo® Citrus (4,97 ppm F). E na oitava semana repetidamente, a maior concentração foi obtida na Água Rabelo® Tradicional (5,24 ppm F) e a menor concentração foi na Água Rabelo® Citrus (0,96 ppm F).

Ao longo das semanas, a Água Rabelo® Tradicional apresentou as maiores concentrações de fluoreto, em contraste, a Água Rabelo® Citrus manteve as menores concentrações, variando de 5,27 ppm F na quarta semana a apenas 0,96 ppm F na oitava semana. Este declínio acentuado na concentração de fluoreto na Água Rabelo® Citrus ao longo do tempo indica uma possível instabilidade na formulação.

**Figura 8: Variação da concentração de fluoreto dos enxaguatórios da Água Rabelo® armazenados a 37°C.**

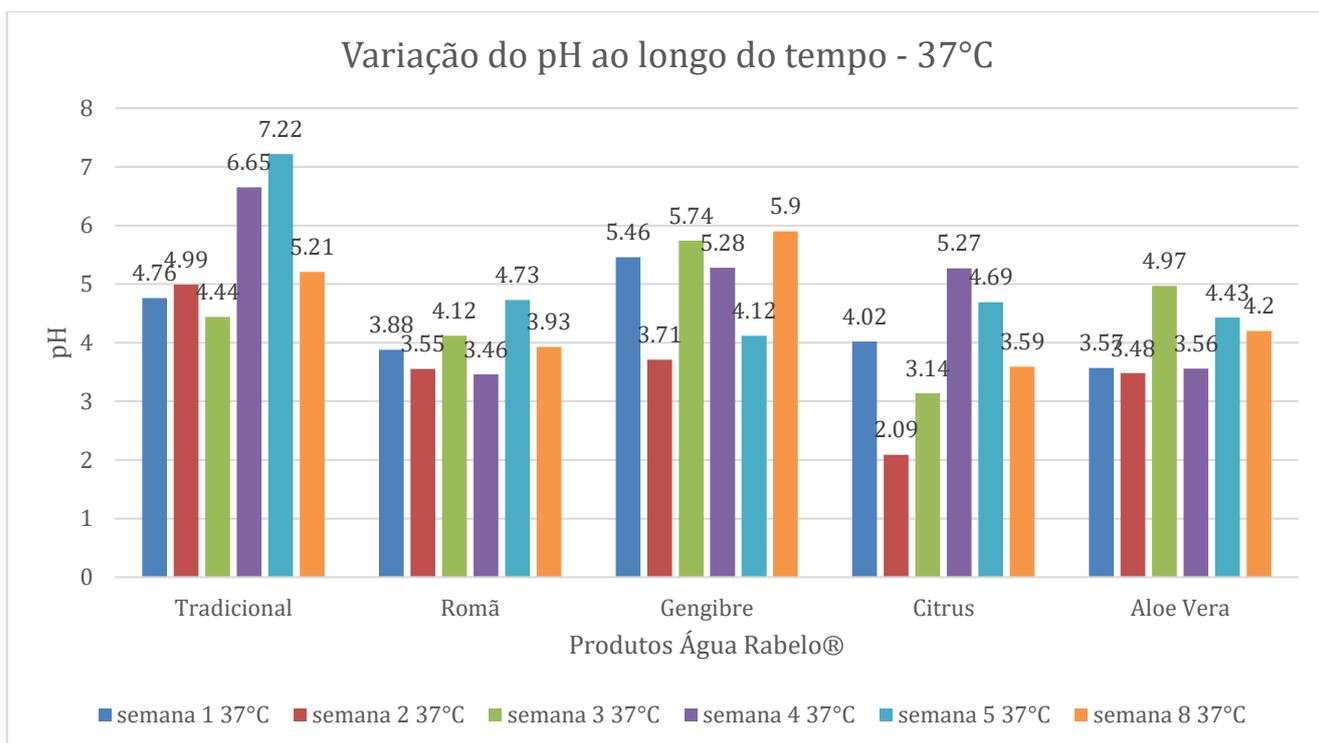


Sobre a variação de pH dos enxaguatórios da Água Rabelo® armazenados a 37°C (Fig. 9), na primeira semana de análise o pH variou entre 3,57 (Água Rabelo® Aloe vera) e 5,46 (Água Rabelo® Gengibre). E na segunda semana obteve o menor valor de 2,09 (Água Rabelo® Citrus) e o maior valor 4,99 (Água Rabelo® Tradicional). Já na terceira semana o menor valor de pH foi 3,14 (Água Rabelo® Citrus) e o maior valor 5,74 (Água Rabelo® Gengibre). De modo geral, ao longo de três semanas o pH das amostras demonstrou significativa variação quando armazenados à 37°C.

Na quarta semana o pH variou entre 3,46 (Água Rabelo® Romã) e 6,65 (Água Rabelo® Tradicional). Na quinta semana o pH variou entre 4,12 (Água

Rabelo® Gengibre) e 7,22 (Água Rabelo® Tradicional). Na oitava semana o pH variou entre 3,59 (Água Rabelo® Citrus) e 5,9 (Água Rabelo® Gengibre). Assim como em temperatura ambiente, Água Rabelo® Tradicional em 37°C manteve concentrações de pH relativamente mais altas em comparação com outras amostras, bem como a Citrus manteve o pH mais baixo.

**Figura 9: Variação de pH dos enxaguatórios da Água Rabelo® armazenados a 37°C.**



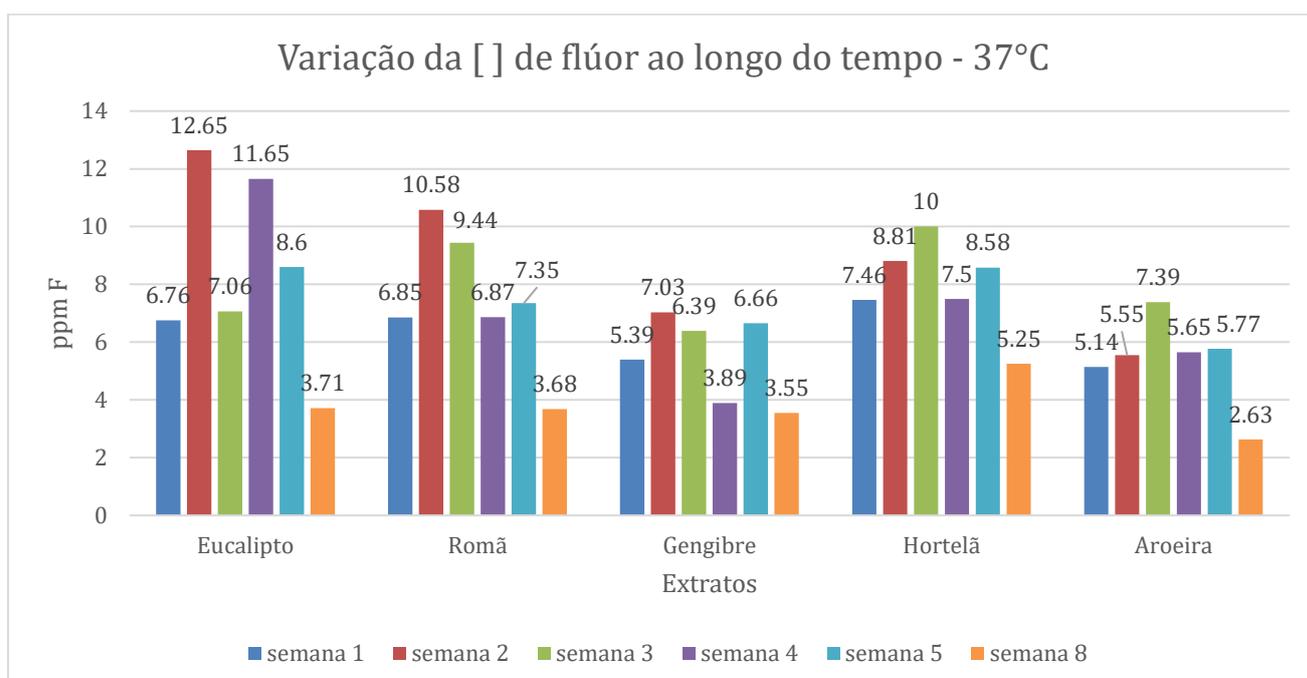
Já no grupo dos extratos armazenados à 37°C (Fig. 10), a solução que apresentou maior concentração de fluoreto foi o extrato de hortelã (7,46 ppm F) e a menor concentração foi o extrato de aroeira (5,14 ppm F). Na segunda semana, o extrato de maior concentração foi o extrato de eucalipto (12,65 ppm F) e o de menor concentração permaneceu sendo o de aroeira (5,55 ppm F), porém com aumento ao longo do tempo. Na terceira semana a maior concentração apresentou-se no extrato de hortelã (10 ppm F) e a menor no extrato de gengibre (6,39 ppm F). Sobretudo, ao decorrer das semanas, a concentração de fluoreto presente nos extratos naturais mantidos a 37°C tem mostrado aumento gradativo.

Na quarta semana a maior concentração se apresentou no extrato de eucalipto (11,65 ppm F) e a menor no extrato de gengibre (3,89 ppm F). Assim

como, na quinta semana a maior concentração se apresentou no extrato eucalipto (8,6 ppm F) e a menor no extrato de aroeira (5,77 ppm F). E na oitava semana a maior concentração se apresentou no extrato hortelã (5,25 ppm F) e a menor no extrato de aroeira (2,63 ppm F).

Assim, durante as semanas avaliadas, os extratos de eucalipto e hortelã mostraram-se mais eficazes na retenção de fluoreto quando armazenados a 37°C, apresentando as maiores concentrações ao longo das semanas. Em contraste, o extrato de aroeira demonstrou menor capacidade de retenção de fluoreto, consistentemente exibindo as menores concentrações.

**Figura 10: Variação da concentração de fluoreto nos extratos naturais armazenados a 37°C.**



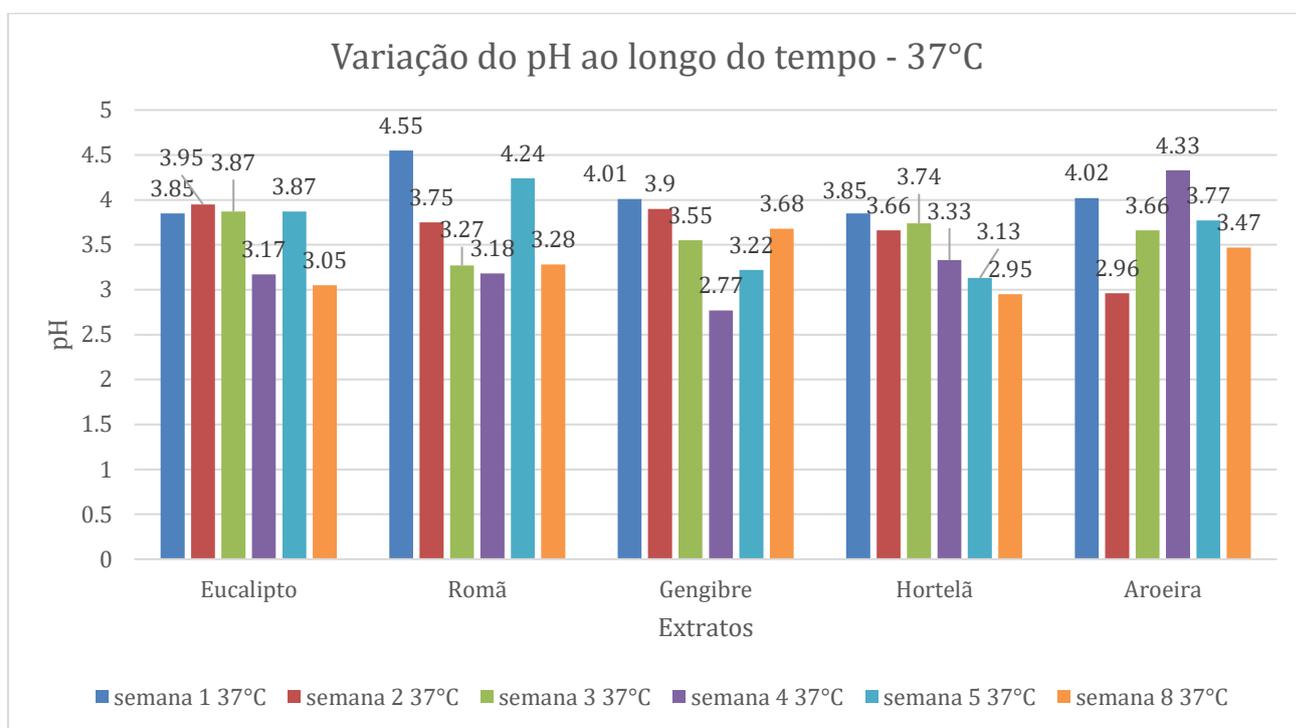
Em relação ao pH dos extratos naturais armazenados a 37°C (Fig. 11), houve variação entre 3,85 (extrato de hortelã) e 4,55 (extrato de romã). Na segunda semana variou entre 2,96 (extrato de aroeira) e 3,95 (extrato de eucalipto). E na terceira semana a variação se apresentou entre o extrato de romã (pH 3,27) e o extrato de eucalipto (pH 3,87).

Quarta semana o pH dos extratos variou entre o extrato de gengibre (pH 2,77) e o extrato de aroeira (pH 4,33). Na quinta semana o pH dos extratos variou entre o extrato de hortelã (pH 3,13) e o extrato de romã (pH 4,24). E na oitava

semana o pH dos extratos variou semelhantemente entre o extrato de hortelã (pH 2,95) e o extrato de gengibre (pH 3,68).

Essas variações de pH indicam que, embora alguns extratos como o de eucalipto e romã mantenham um pH mais estável, outros, como o de gengibre e hortelã, apresentam maiores flutuações ao longo do tempo na temperatura de 37°C. Esses dados são importantes para a formulação de produtos de higiene bucal, indicando que a escolha dos extratos naturais deve considerar não apenas a concentração de fluoreto, mas também a estabilidade do pH para garantir a eficácia do produto.

**Figura 11: Variação de pH dos extratos naturais armazenados a 37°C.**



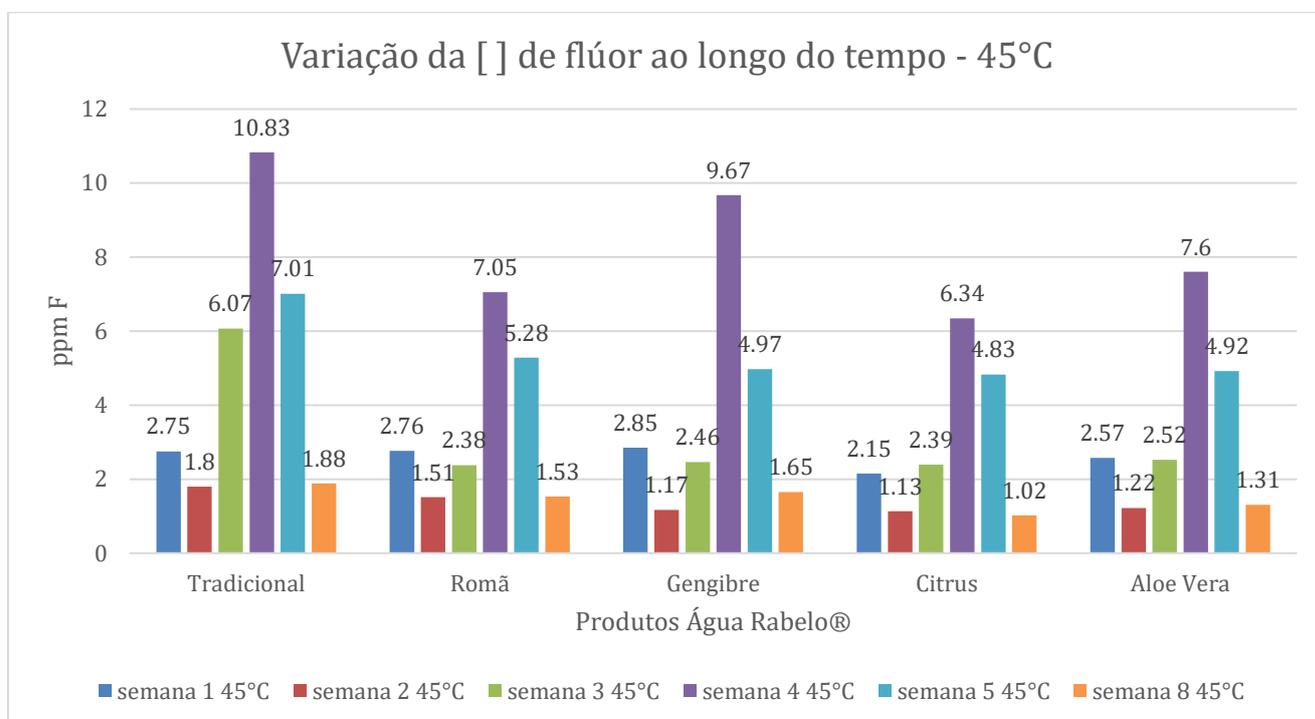
O terceiro grupo de amostras foram armazenadas em estufa a 45°C (Fig. 12). Ao analisar, foi possível verificar que a amostra com maior concentração de fluoreto foi a Água Rabelo® Gengibre (2,85 ppm F) e a menor concentração se deu na Água Rabelo® Citrus (2,15 ppm F). Segunda semana, verificou a maior concentração de fluoreto na Água Rabelo® Tradicional (1,8 ppm F) e a menor concentração novamente na Água Rabelo® Citrus (1,13 ppm F). Na terceira semana a maior concentração de fluoreto se apresentou novamente na Água

Rabelo® Tradicional (6,07 ppm F) e a menor na Água Rabelo® Romã (2,38 ppm F), seguida da Água Rabelo® Citrus (2,39 ppm F).

Na quarta semana a maior concentração foi obtida na Água Rabelo® Tradicional com elevada concentração (10,83 ppm F), destacando-se novamente como a amostra com melhor retenção de fluoreto, e a menor concentração foi na Água Rabelo® Citrus (6,34 ppm F). Na quinta semana a maior concentração foi novamente na Água Rabelo® Tradicional (7,01 ppm F) e a menor concentração foi na Água Rabelo® Citrus (4,83 ppm F). E semelhantemente, na oitava semana a maior concentração foi obtida na Água Rabelo® Tradicional (1,88 ppm F) e a menor concentração foi na Água Rabelo® Citrus (1,02 ppm F).

Os dados indicam que a Água Rabelo® Tradicional possui estabilidade que favorece a retenção de fluoreto em condições de alta temperatura, enquanto a Água Rabelo® Citrus consistentemente apresenta as menores concentrações de fluoreto ao longo das semanas.

**Figura 12: Variação da concentração de fluoreto dos enxaguatórios da Água Rabelo® armazenados a 45°C.**

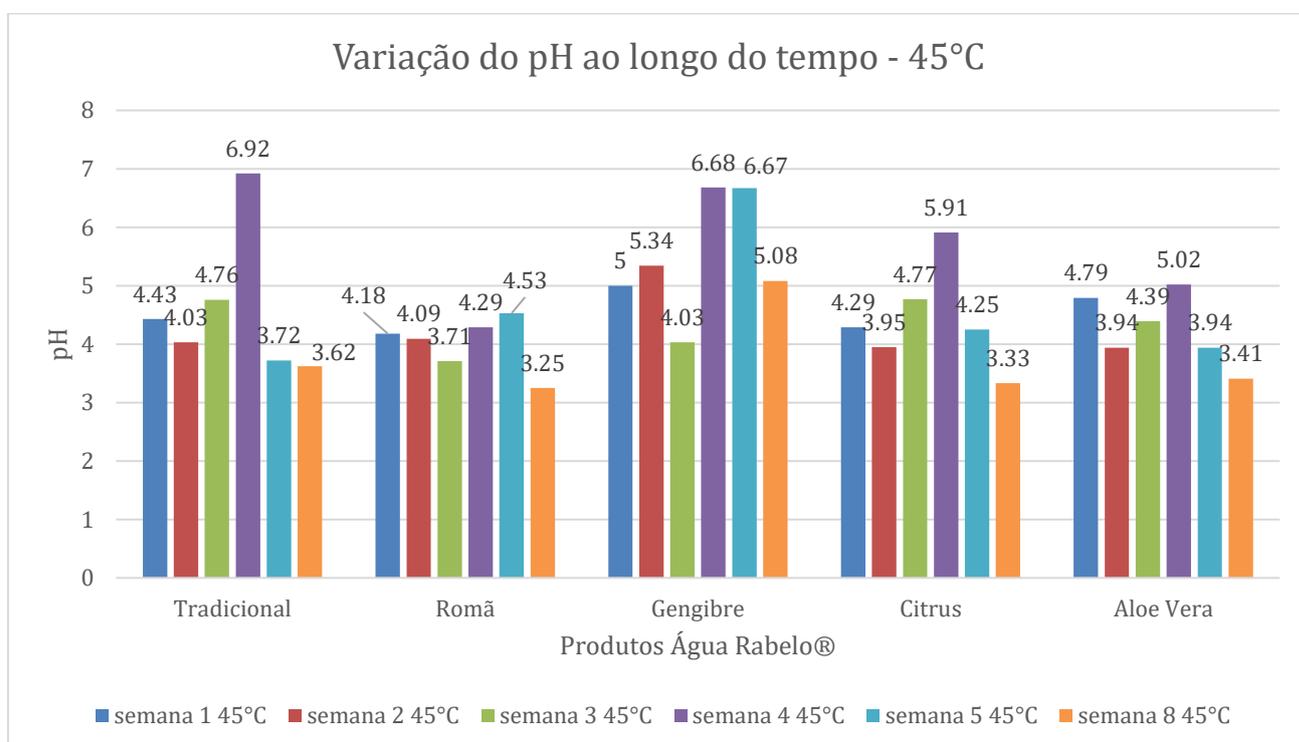


No que diz respeito ao pH dos enxaguatórios da Água Rabelo® armazenados à 45°C (Fig. 13), na primeira semana variou entre 4,18 (Água

Rabelo® Romã) e 5,0 (Água Rabelo® Gengibre). E na segunda semana variou entre 3,94 (Água Rabelo® Aloe Vera) e 5,34 (Água Rabelo® Gengibre). Já na terceira semana o menor valor de pH foi 3,71 (Água Rabelo® Romã) e o maior valor foi 4,77 (Água Rabelo® Citrus). Demonstrando que a 45°C a Água Rabelo® romã possui tendência mais ácida e a Água Rabelo® Gengibre com tendência ao pH neutro.

Na quarta semana o pH variou entre 4,29 (Água Rabelo® Romã) e 6,92 (Água Rabelo® Tradicional). E na quinta semana o pH variou entre 6,67 (Água Rabelo® Gengibre) e 3,72 (Água Rabelo® Tradicional) com queda acentuada do pH na Água Rabelo® Tradicional em relação a semana anterior. Na oitava semana, o pH variou entre 3,25 (Água Rabelo® Romã) e 5,08 (Água Rabelo® Gengibre). A Água Rabelo® Romã manteve uma tendência mais ácida ao longo do tempo, enquanto a Água Rabelo® Gengibre continuou a demonstrar um pH relativamente mais neutro, especialmente nas primeiras semanas.

**Figura 13: Variação de pH dos enxaguatórios da Água Rabelo® armazenados a 45°C.**



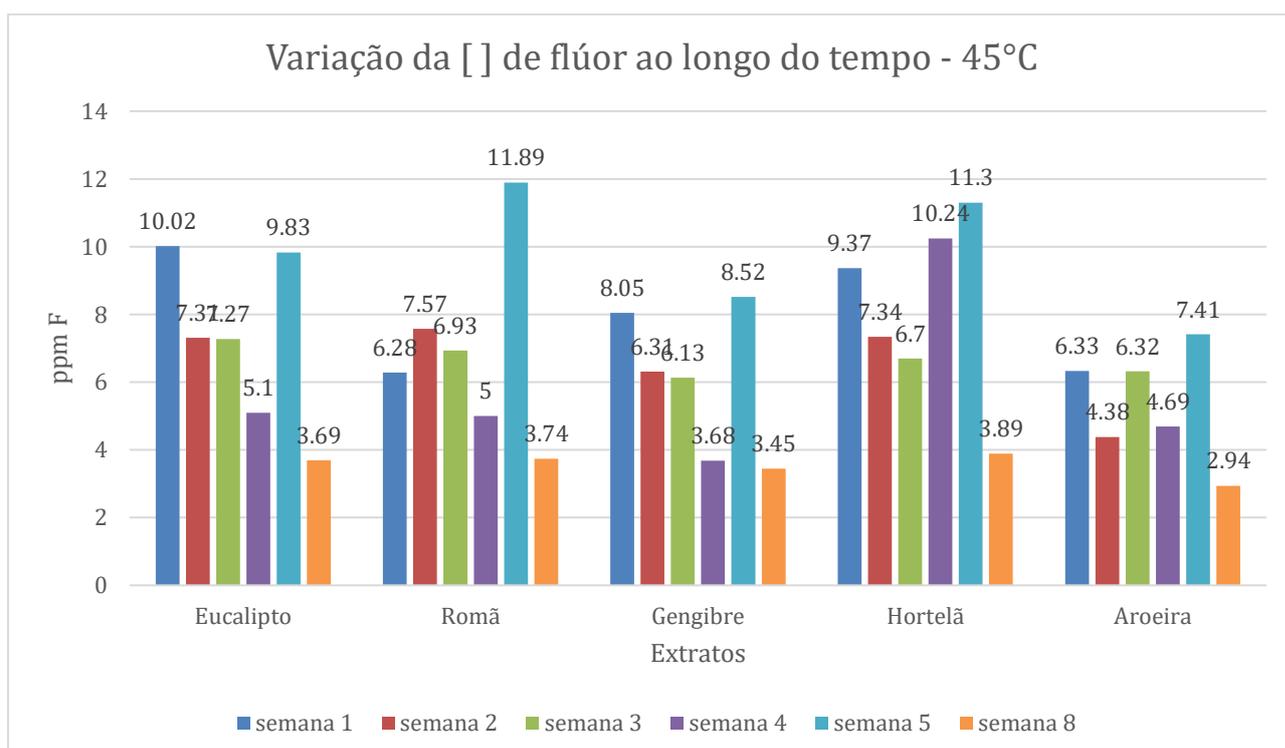
Avaliando a variação da concentração de fluoreto nos extratos naturais armazenados a 45°C (Fig. 14), a maior concentração de fluoreto se deu no extrato de eucalipto (10,02 ppm F) e a menor concentração no extrato de romã (6,28 ppm

F). Na segunda semana a maior concentração de fluoreto se deu no extrato de romã (7,57 ppm F) e a menor concentração no extrato de aroeira (4,38 ppm F). e na terceira semana a maior concentração de fluoreto se apresentou no extrato de eucalipto (7,27 ppm F) e a menor no extrato de gengibre (6,13 ppm F).

Na quarta semana a maior concentração se apresentou no extrato de hortelã (10,24 ppm F) e a menor no extrato de gengibre (3,68 ppm F). E na quinta semana a maior concentração se apresentou no extrato de romã (11,89 ppm F) com acentuado crescimento da concentração e a menor concentração apresentou-se no extrato de aroeira (7,41 ppm F). Já na oitava semana a maior concentração se apresentou no extrato hortelã (3,89 ppm F) e a menor novamente no extrato de aroeira (2,94 ppm F).

Os dados indicam que há uma grande variação na concentração de fluoreto nos extratos naturais quando armazenados a 45°C. Extratos como o de eucalipto e hortelã demonstraram uma maior capacidade de retenção de fluoreto em condições de alta temperatura, enquanto o extrato de aroeira apresentou consistentemente as menores concentrações.

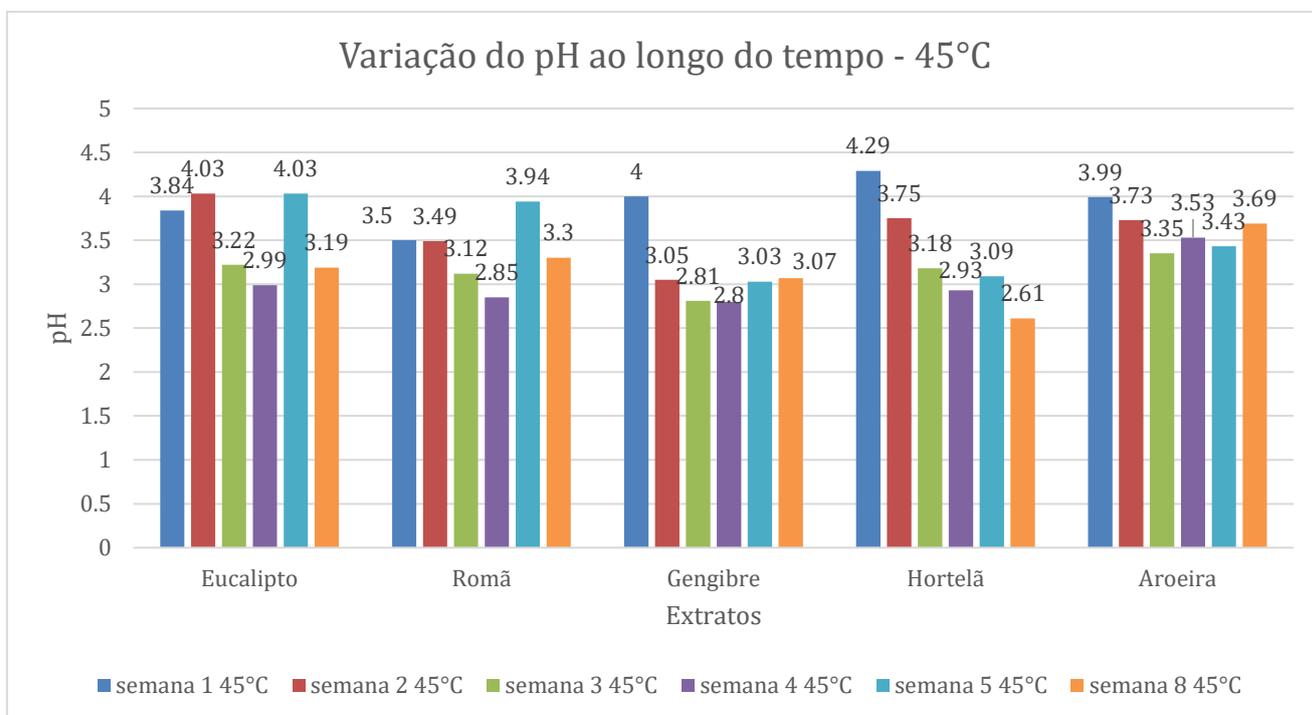
**Figura 14: Variação da concentração de fluoreto nos extratos naturais armazenados a 45°C.**



O pH das amostras dos extratos naturais armazenados a 45°C (Fig. 15) variou entre 3,5 (extrato de romã) e 4,29 (extrato de hortelã) na primeira semana. Já na segunda semana variou entre 3,05 (extrato de gengibre) e 4,03 (extrato de eucalipto). E na terceira semana houve variação entre 2,81 (extrato de gengibre) e 3,35 (extrato de aroeira). Observa-se que há variação no pH dos extratos ao longo do tempo, entretanto eles se mantêm em tendência ácida quando armazenados à 45°C.

Na quarta semana o pH variou entre 2,8 (extrato de gengibre) e 3,53 (extrato de aroeira). Na quinta semana o pH variou entre 3,03 (extrato de gengibre) e 4,03 (extrato de eucalipto). Na oitava semana o pH variou entre 2,61 (extrato de hortelã) e 3,69 (extrato de aroeira). A variação contínua do pH ao longo do tempo indica que, apesar das diferenças iniciais, todos os extratos naturais mantêm uma tendência ácida quando armazenados a 45°C, com o extrato de gengibre consistentemente mostrando os valores de pH mais baixos. Estas variações de pH são importantes para entender a estabilidade e a eficácia dos extratos naturais em diferentes condições de armazenamento.

**Figura 15: Variação de pH dos extratos naturais armazenados a 45°C.**



A solução do grupo Água Rabelo® que obteve melhor desempenho quanto a concentração de fluoreto durante o envelhecimento da amostra foi a Aloe Vera na temperatura de 25°C (14,18 ppm F) na quinta semana de análise, porém com discrepância no decorrer das semanas e a que se manteve mais consistente no decorrer das semanas foi a Água Rabelo® Tradicional, com variações menos discrepantes entre as semanas comparado as outras amostras. E a menor concentração de fluoreto foi o Água Rabelo® Citrus (0,96 ppm F) na temperatura de 45°C na oitava semana de análise.

No grupo dos extratos naturais, o extrato de eucalipto apresentou a maior concentração de fluoreto (12,65 ppm F) na segunda semana a 37°C, indicando uma eficácia significativa na retenção de fluoreto. Em contraste, o extrato de aroeira apresentou o menor desempenho, especialmente na quarta semana em temperatura ambiente (2,5 ppm F).

O pH das amostras manteve-se variável ao longo das semanas e condições de armazenamento, com uma tendência geral de acidez em todas as amostras. Na Água Rabelo®, as variações de pH foram notáveis, com tendências ácidas predominando em temperaturas mais altas, como observado em água Rabelo® Citrus a 45°C (pH 3,25 na oitava semana). O mesmo padrão de acidez foi identificado nos extratos naturais armazenados a 45°C, com variações de pH indicando uma tendência ácida contínua, especialmente nos extratos de gengibre e romã.

Esses dados destacam a importância de considerar tanto a concentração de fluoreto quanto o pH na formulação e armazenamento de produtos de higiene bucal para garantir eficácia e estabilidade ao longo do tempo.

## **Análise microbiológica**

A análise na eficácia antimicrobiana das combinações de flúor, entre extratos naturais e Água Rabelo® gengibre/tradicional, com a clorexidina como controle, focou em determinar se esses componentes têm um efeito aditivo na inibição e eliminação de bactérias. As principais métricas utilizadas foram a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM).

**Tabela 2: Concentrações de fluoreto, extratos naturais e Água Rabelo® (controle - CLX) no teste antimicrobiano.**

Poço	[ ] de F	[ ] Extratos Naturais	[ ] Água Rabelo®	[ ] CLX
1	5 ppm	1500 µg/L	100%	0,06%
2	2,5 ppm	750 µg/L	50%	0,03%
3	1,25 ppm	375 µg/L	25%	0,015%
4	0,625 ppm	187,5 µg/L	12,5%	0,0075%
5	0,3125 ppm	93,75 µg/L	6,25%	0,00375%
6	0,156 ppm	46,87 µg/L	3,125%	0,001875%
7	0,078 ppm	23,43 µg/L	1,56%	0,0009375%
8	0,039 ppm	11,71 µg/L	0,78%	0,00046875%
9	0,0195ppm	5,855 µg/L	0,39%	0,00023438% ou 2,34 µg/L
10	0,00975ppm	2,9275 µg/L	0,195%	0,00011719% ou 1,17 µg/L

1. Água Rabelo® gengibre com flúor:

- a. CIM: poço 2 (2,5 ppm de F + 50% de Água Rabelo® gengibre)
- b. CBM: poço 3 (1,25 ppm de F + 50% de Água Rabelo® gengibre)

Os resultados indicam um efeito aditivo entre o flúor e a Água Rabelo® gengibre. O flúor e os componentes da Água Rabelo® gengibre contribuíram individualmente para a inibição e eliminação bacteriana. A CIM foi atingida com 2,5 ppm de flúor em combinação com 50% de Água Rabelo® gengibre, enquanto a CBM foi atingida em uma concentração reduzida de 1,25 ppm de flúor com 50% de Água Rabelo® gengibre.

2. Água Rabelo® gengibre sem flúor:

- a. CIM: não localizada/não identificada (+)
- b. CBM: não localizada/não identificada (+)

A ausência de flúor pode ter resultado na falta de eficácia antimicrobiana, sugerindo que os componentes da Água Rabelo® gengibre sozinhos não foram suficientes para inibir ou eliminar as bactérias.

3. Água Rabelo® tradicional com flúor:

- a. CIM: não localizada/não identificada (+)
- b. CBM: não localizada/não identificada (+)

Sem eficácia antimicrobiana significativa, a Água Rabelo® tradicional com flúor não demonstrou um efeito aditivo forte o suficiente para inibir ou eliminar bactérias.

4. Água Rabelo® tradicional sem flúor:

- a. CIM: não localizada/não identificada (+)
- b. CBM: não localizada/não identificada (+)

Similarmente, a Água Rabelo® tradicional sem flúor também não mostrou eficácia antimicrobiana, destacando a importância do flúor ou de componentes específicos para a atividade antimicrobiana.

5. Extrato gengibre com flúor:

- a. CIM: poço 5 (0,3125 ppm de F + 93,75 µg/L de extrato de gengibre)
- b. CBM: poço 6 e 7 (0,156 ppm de F + 46,87 µg/L de extrato de gengibre; 0,078 ppm + 23,43 µg/L de extrato de gengibre)

O extrato de gengibre com flúor apresentou um efeito aditivo claro. A combinação de pequenas concentrações de flúor e extrato de gengibre resultou em atividade antimicrobiana significativa. A CIM e a CBM foram alcançadas em concentrações relativamente baixas, sugerindo que ambos os componentes contribuíram para a eficácia antimicrobiana.

6. Extrato de gengibre sem flúor:

- a. CIM: poço 6 (0,156 ppm de F + 46,87 µg/L de extrato de gengibre)
- b. CBM: não localizada/não identificada (+)

O extrato de gengibre sem flúor foi capaz de inibir o crescimento bacteriano (CIM), mas não conseguiu eliminar as bactérias (CBM), indicando que o efeito antimicrobiano completo necessita do flúor.

7. Extrato de eucalipto com flúor:

- a. CIM: poço 4 (0,625 ppm de F + 187,5 µg/L de extrato de eucalipto)
- b. CBM: poço 5 (0,3125 ppm de F + 93,75 µg/L de extrato de eucalipto)

O extrato de eucalipto com flúor também mostrou um efeito aditivo. Pequenas quantidades de ambos os componentes foram suficientes para inibir e eliminar bactérias, sugerindo que o flúor e o extrato de eucalipto juntos foram mais eficazes do que cada um isoladamente.

8. Extrato de eucalipto sem flúor:

- a. CIM: poço 4 (0,625 ppm de F + 187,5 µg/L de extrato de eucalipto)
- b. CBM: não localizada/não identificada (+)

O extrato de eucalipto sem flúor conseguiu inibir o crescimento bacteriano (CIM), mas não eliminar completamente as bactérias (CBM), novamente destacando a importância do flúor na combinação.

9. Clorexidina (controle):

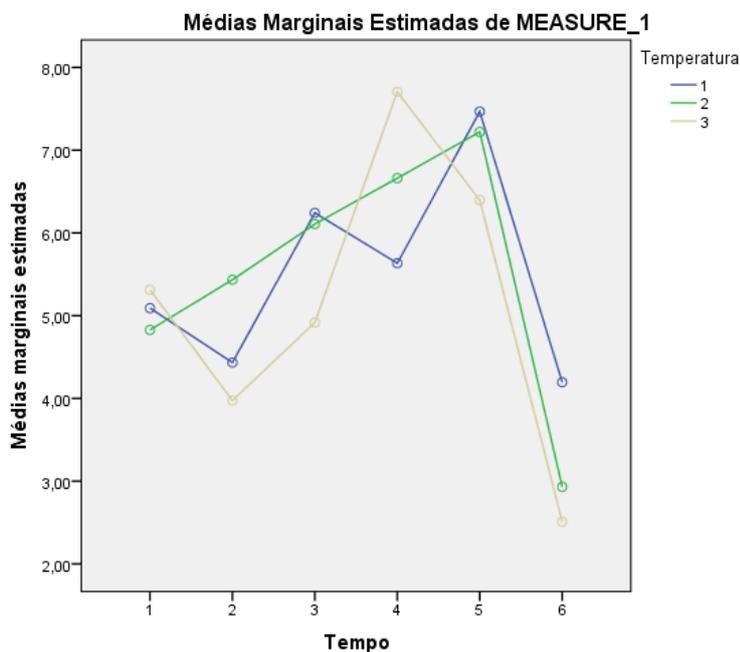
- a. CIM: poço 10 = 1,17 µg/L
- b. CBM: poço 9 = 2,34 µg/L

A clorexidina, serviu como controle, apresentou a maior eficácia antimicrobiana, confirmando sua superioridade em relação aos outros tratamentos testados.

## Análise estatística

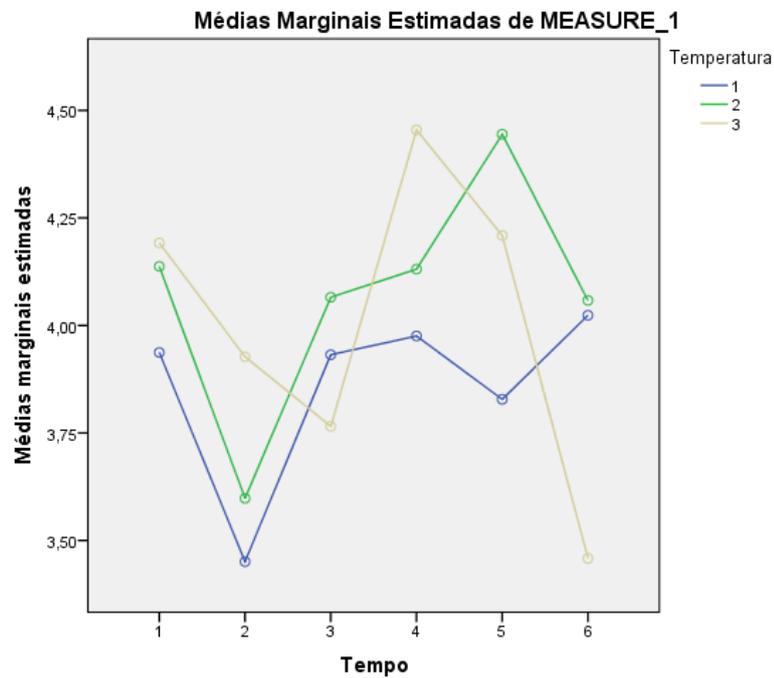
Segundo o teste Friedman realizado, o resultado indica que o comportamento da variável pH é independente do comportamento da variável concentração de flúor, isso significa que não há uma associação completamente significativa entre essas duas variáveis. Em termos práticos, isso implica que não podemos prever ou inferir o valor de uma variável com base no valor da outra.

**Gráfico 1: Resultados de medidas repetidas para valores de flúor**



A análise estatística identificou o comportamento do pH mais rápido do que o do fluoreto ao longo das semanas de envelhecimento e em diferentes condições de temperatura. Isso pode sugerir que o pH é mais suscetível a mudanças nas condições ambientais ou de armazenamento. Em outras palavras, as variações nos valores de pH não são totalmente condicionadas ou influenciadas pelas variações nos valores de concentração de flúor, e vice-versa.

**Gráfico 2: Resultados de medidas repetidas para valores de potencial hidrogeniônico (pH).**



Essa independência pode ter implicações importantes dependendo do contexto. Por exemplo, se estamos investigando os efeitos do flúor no pH de uma solução, a independência sugerida pelo teste de Friedman indica que mudanças na concentração de flúor não estão diretamente correlacionadas com mudanças no pH.

## Discussão

O estudo avaliou na estabilidade físico-química dos enxaguatórios Água Rabelo® e de soluções de extratos naturais com a adição de 10 ppm de fluoreto. Trata-se da melhor faixa de leitura de fluoreto de um eletrodo com potenciômetro é de 1 a 10 ppm, pois se refere à faixa de concentração de íons fluoreto em uma solução na qual o dispositivo fornece medições mais precisas e confiáveis [Blaedel & Meloche, 1963; Orion Research, 2003].

A faixa de 1 a 10 ppm é considerada ideal para um eletrodo íon-seletivo de fluoreto porque equilibra sensibilidade, precisão e aplicabilidade prática. Isso garante que as medições sejam precisas e confiáveis, o que é crucial para aplicações em monitoramento de produtos de higiene bucal [Blaedel & Meloche, 1963; Orion Research, 2003].

Em concentrações muito baixas (abaixo de 1 ppm), o ruído de fundo e a interferência de outros íons podem afetar significativamente a precisão das medições [Blaedel & Meloche, 1963; Orion Research, 2003]. Em concentrações muito altas (acima de 10 ppm), o eletrodo pode atingir um ponto de saturação ou ter uma resposta não-linear, comprometendo a precisão. Produtos como cremes dentais e enxaguatórios bucais contêm altas concentrações de fluoreto, contudo se fossem realizadas altas diluições aumentariam os riscos impedindo uma monitorização eficaz da sua concentração.

No que diz respeito a diminuição da concentração de fluoreto nos enxaguatórios da Água Rabelo® com o aumento da temperatura e do tempo de armazenamento sugere que esses produtos possuem constituintes que sequestram o flúor, diminuindo sua eficácia potencial como agente remineralizador [Cury et al., 2021]. Sugere-se que esse fato pode estar relacionado à presença de compostos orgânicos nos enxaguatórios que interajam com o fluoreto incorporado, formando complexos menos solúveis e biodisponíveis [Freitas et al., 2018].

Os extratos naturais, especialmente o de eucalipto, mostraram uma capacidade superior de manter e até aumentar a concentração de fluoreto ao longo do tempo, indicando que esses extratos podem ser mais estáveis e eficazes em formulações de enxaguatórios bucais [Oliveira, Diniz & Cury, 2022; Souza, Freitas

& Tenuta, 2023]. Entretanto, a tendência ácida do pH pode ser um fator limitante para a utilização segura desses produtos a longo prazo, necessitando de ajustes para evitar a desmineralização do esmalte dental, ou seja, o efeito contrário ao remineralizador proposto pelo estudo [Duarte et al., 2017].

Um estudo realizado por Vieira e colaboradores [2024] exploraram o uso de extrato de romã em um enxaguatório bucal com polifosfato-fluoreto, observando uma redução significativa na desmineralização do esmalte. A presença de extrato de romã não só proporcionou um efeito antimicrobiano, mas também colaborou na remineralização do esmalte dentário. Esse estudo destaca a importância de componentes naturais específicos, como o extrato de romã, em potencializar os efeitos protetores do flúor.

Sobre a estabilidade do fluoreto nos enxaguatórios bucais da Água Rabelo® e soluções de extratos naturais, os resultados deste estudo indicam uma variação significativa na estabilidade do fluoreto em diferentes formulações de enxaguatórios e soluções de extratos. A estabilidade do fluoreto é um fator determinante para garantir a eficácia desses produtos na prevenção da cárie dentária. Este estudo observou que os enxaguatórios da marca Água Rabelo® apresentaram uma tendência de redução na concentração de fluoreto ao longo do tempo, especialmente em temperaturas mais elevadas. Em contraste, as soluções com extratos naturais demonstraram uma incorporação mais estável do flúor, observados em algumas amostras [Souza, Freitas & Tenuta, 2023].

Carvalho e colaboradores [2022] investigaram o efeito sinérgico entre extratos de plantas e flúor na proteção contra a erosão do esmalte. O estudo *in vitro* demonstrou que a combinação de extratos de plantas com fluoreto proporciona uma proteção superior contra a erosão do esmalte em comparação com o uso isolado de fluoreto. Esses resultados sugerem que a incorporação de componentes naturais pode potencializar os efeitos benéficos do fluoreto, promovendo uma abordagem mais holística e eficaz para a saúde bucal.

Braga e colaboradores [2019] analisaram o impacto de cremes dentais e enxaguatórios bucais à base de ervas na prevenção da desmineralização do esmalte usando um modelo de biofilme microcosmo. Os resultados indicaram que produtos herbais comerciais podem reduzir significativamente a desmineralização

do esmalte. Este estudo apoia a viabilidade de utilizar produtos herbais na prática odontológica diária como uma alternativa ou complemento aos produtos tradicionais à base de flúor.

A temperatura tem um impacto significativo na estabilidade tanto da concentração de fluoreto quanto do pH em enxaguatórios bucais e extratos naturais. Produtos armazenados a temperaturas mais altas tendem a mostrar maiores variações na concentração de fluoreto e pH, o que pode afetar sua eficácia e segurança. A Água Rabelo® Tradicional demonstrou uma melhor estabilidade em comparação com outras amostras, enquanto a Água Rabelo® Citrus e os extratos naturais apresentaram desafios de estabilidade em temperaturas elevadas. O controle de temperatura é, portanto, essencial para garantir a eficácia e a segurança dos produtos ao longo de seu período de validade [Silva, 2024].

Em temperatura ambiente, os enxaguatórios Água Rabelo® mostraram uma variação na concentração de flúor, porém com a maior estabilidade observada na formulação Tradicional. Este comportamento pode ser atribuído à presença de compostos sequestradores de fluoreto nas outras formulações, como a de Citrus (0,96 ppm F), que apresentou a menor concentração de fluoreto em 45°C após o envelhecimento [Santos, Duarte & Cury, 2024]. Estes resultados sugerem que a estabilidade do fluoreto em enxaguatórios pode ser comprometida pela presença de certos ingredientes ativos ou excipientes que interagem com o flúor, sequestrando-o e diminuindo sua concentração disponível para a função esperada que é a remineralização dentária.

Por outro lado, as soluções de extratos naturais mostraram uma tendência diferente. A estabilidade do fluoreto nessas soluções foi maior a 37°C, com o extrato de eucalipto (12,65 ppm F) apresentando boa performance em termos de concentração de flúor. Isso indica que, em algumas situações, os extratos naturais podem oferecer uma matriz mais adequada para a incorporação e retenção do flúor, possivelmente devido a uma menor presença de compostos sequestradores, além de possibilitar maior disponibilidade do flúor [Oliveira, Diniz & Cury, 2022; Souza, Freitas & Tenuta, 2023].

O pH das soluções também foi monitorado ao longo do estudo, sendo um parâmetro crítico que pode influenciar a solubilidade e a dissociação do flúor.

Observou-se que, embora o pH das amostras tenha variado, a maioria das soluções manteve-se dentro de uma faixa ligeiramente ácida. As amostras de Água Rabelo® mostraram uma tendência de queda no pH ao longo do tempo, o que pode ter contribuído para a redução na concentração de flúor, uma vez que ambientes ácidos podem aumentar a solubilidade de compostos sequestradores de flúor [Cury et al., 2021].

O eucalipto, dentre os extratos naturais, apresentou pH estável mais próximo do neutro. Poderia ser a razão para promover a estabilidade do flúor, favorecendo-o. Essa ação pode ser entendida como devida à capacidade tamponante dos constituintes do eucalipto que atuam em conjunto com outros componentes do extrato para manter um pH estável e, portanto, uma concentração estável de flúor [Oliveira, Diniz & Cury, 2022; Souza, Freitas & Tenuta, 2023].

Os achados deste estudo corroboram com a literatura existente que destaca a importância da matriz de incorporação para a estabilidade do flúor. Estudos anteriores têm mostrado que a estabilidade do fluoreto pode ser influenciada por fatores como a presença de agentes sequestradores, o pH da solução, e a temperatura de armazenamento [Marinho et al., 2003; Mathur et al., 2011]. A presença de compostos sequestradores em produtos comerciais é uma área de preocupação, pois pode comprometer a eficácia do fluoreto na prevenção de cáries. Por isso, a identificação e eliminação desses compostos são fundamentais para o desenvolvimento de produtos eficazes.

Os resultados deste estudo têm implicações importantes para a prática clínica e o desenvolvimento de produtos odontológicos. Para produtos comerciais como os enxaguatórios da Água Rabelo®, é crucial realizar uma reformulação que minimize ou elimine os compostos sequestradores de flúor. Além disso, os extratos naturais mostraram-se promissores como veículos de incorporação de flúor, especialmente em condições de armazenamento a 37°C [Cury et al., 2021; Oliveira, Diniz & Cury, 2022; Souza, Freitas & Tenuta, 2023].

Esses achados sugerem que produtos baseados em extratos naturais podem oferecer uma alternativa viável aos enxaguatórios comerciais, desde que sejam formulados corretamente para manter a estabilidade do flúor. Isso pode levar ao desenvolvimento de novos produtos com menor incidência de efeitos colaterais,

o que é uma demanda crescente entre os consumidores preocupados com a segurança e a eficácia dos produtos que utilizam [Cury et al., 2021; Oliveira, Diniz e Cury, 2022; Souza, Freitas e Tenuta, 2023; Santos, Duarte e Cury 2024].

Um estudo realizado por Martins e colaboradores [2019] investigaram o efeito citotóxico e antibacteriano de um enxaguatório bucal de própolis vermelho, com e sem flúor, no crescimento de um biofilme cariogênico. O estudo concluiu que o enxaguatório de própolis vermelho, especialmente quando combinado com flúor, apresentou efeitos antibacterianos significativos sem causar citotoxicidade elevada.

O presente estudo apresenta algumas limitações, como a realização de testes apenas *in vitro* e a necessidade de validação dos resultados em estudos clínicos. Futuros estudos devem considerar a avaliação da eficácia clínica dos enxaguatórios e soluções de extratos naturais com fluoreto em termos de remineralização dentária e prevenção de cárie. Além disso, investigações sobre os mecanismos exatos pelos quais certos componentes sequestram o fluoreto podem ajudar no desenvolvimento de formulações mais estáveis.

Portanto, os achados da análise físico-química da pesquisa demonstraram a importância de avaliar a estabilidade do fluoreto em diferentes matrizes e condições de armazenamento. Os extratos naturais mostraram-se promissores, contudo, mais pesquisas são necessárias para confirmar sua eficácia clínica e otimizar suas formulações.

Além disso, a descoberta de que o pH e a concentração de flúor são variáveis independentes oferece uma nova perspectiva sobre a formulação de produtos odontológicos e o tratamento clínico. No entanto, é essencial continuar a pesquisa para compreender completamente a dinâmica dessas variáveis em diferentes contextos e condições orais, já que em momentos pontuais as variáveis atuaram entre elas, como por exemplo na 5ª semana em temperatura ambiente.

No que diz respeito a análise microbiológica, as combinações de flúor, extratos naturais (gengibre e eucalipto) e Água Rabelo® (gengibre e tradicional) em comparação com a clorexidina (CLX) como controle foi realizada para determinar a eficácia antimicrobiana desses componentes. As principais métricas utilizadas foram a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM).

Os resultados indicam que a combinação de flúor com Água Rabelo® gengibre teve um efeito aditivo significativo. A CIM foi atingida com 2,5 ppm de flúor em combinação com 50% de Água Rabelo® gengibre, enquanto a CBM foi atingida com uma concentração reduzida de 1,25 ppm de flúor com 50% de Água Rabelo® gengibre. Isso sugere que tanto o flúor quanto os componentes da Água Rabelo® gengibre contribuíram individualmente para a inibição e eliminação bacteriana. A sinergia entre esses componentes é evidente pela redução nas concentrações necessárias para atingir a CIM e a CBM. Contudo, a ausência de flúor resultou na falta de eficácia antimicrobiana, indicando que os componentes da Água Rabelo® gengibre sozinhos não foram suficientes para inibir ou eliminar as bactérias. Isso destaca a importância do flúor como agente antimicrobiano essencial para potencializar a eficácia da Água Rabelo® gengibre.

Um artigo publicado por Smith & Wang [2024] avaliou a eficácia antimicrobiana de diferentes extratos naturais contra *S. mutans*. Entre os extratos testados estava o de gengibre. O estudo avaliou a capacidade dos extratos de inibir o crescimento e a aderência de *S. mutans*. O extrato de gengibre mostrou um efeito antimicrobiano significativo, com uma inibição notável do crescimento bacteriano. O gengibre contém compostos bioativos como gingerol e shogaol, que têm propriedades antimicrobianas comprovadas. Esses compostos parecem interferir na capacidade de *S. mutans* de formar biofilmes, que é crucial para a patogenicidade da bactéria.

Sobre os extratos naturais avaliados, o extrato de gengibre com flúor apresentou um efeito aditivo claro. A combinação de pequenas concentrações de flúor e extrato de gengibre resultou em atividade antimicrobiana significativa. A CIM foi alcançada em 0,3125 ppm de flúor com 93,75 µg/L de extrato de gengibre, e a CBM foi atingida com concentrações ainda menores. Esses resultados sugerem que o extrato de gengibre potencializa a eficácia do flúor na inibição e eliminação bacteriana. O extrato de gengibre sem flúor foi capaz de inibir o crescimento bacteriano (CIM) mas não conseguiu eliminar as bactérias (CBM), indicando que o efeito antimicrobiano completo necessita do flúor. Isso sugere que, enquanto o extrato de gengibre possui algumas propriedades antimicrobianas, sua eficácia é significativamente melhorada pela presença de flúor [Smith & Wang, 2024].

Outro estudo relevante focou na combinação de flúor com extratos naturais. Publicado no "International Journal of Dentistry", este estudo investigou o efeito

sinérgico do flúor com extratos de plantas como gengibre e aloe vera. Os resultados mostraram que tais combinações podem reduzir significativamente as concentrações necessárias para inibir o crescimento bacteriano. Em particular, a combinação de flúor com extrato de gengibre demonstrou uma redução notável na CIM e na concentração bactericida mínima (CBM), similar aos achados encontrados [Yadufashije et al., 2020].

Já a Água Rabelo® tradicional com flúor não demonstrou eficácia antimicrobiana significativa, sugerindo que os componentes da Água Rabelo® tradicional não interagem de forma eficaz com o flúor para inibir ou eliminar bactérias. Isso pode indicar uma composição diferente ou uma interação menos eficaz dos componentes da Água Rabelo® tradicional em comparação com a versão gengibre. Similarmente, a Água Rabelo® tradicional sem flúor não apresentou eficácia antimicrobiana, reforçando a importância do flúor ou de componentes específicos para a atividade antimicrobiana. A ausência de flúor novamente resulta na incapacidade de inibir ou eliminar bactérias.

O extrato de eucalipto com flúor também demonstrou um efeito aditivo. Pequenas quantidades de ambos os componentes foram suficientes para inibir e eliminar bactérias, sugerindo que o flúor e o extrato de eucalipto juntos são mais eficazes do que cada um isoladamente. A CIM e a CBM foram alcançadas em concentrações relativamente baixas, reforçando a sinergia entre esses componentes. O extrato de eucalipto sem flúor conseguiu inibir o crescimento bacteriano (CIM), mas não eliminar completamente as bactérias (CBM), novamente destacando a importância do flúor na combinação. O efeito antimicrobiano completo do extrato de eucalipto é significativamente melhorado pela presença de flúor.

Recentemente, um estudo investigou a eficácia antimicrobiana do extrato de eucalipto combinado com flúor contra *Streptococcus mutans*. O artigo demonstrou que a combinação de extrato de eucalipto e flúor teve um efeito aditivo significativo na redução do crescimento e da aderência de *S. mutans*, comparado ao uso isolado de cada agente. Os resultados indicam que o extrato de eucalipto, com compostos como cineol e  $\alpha$ -terpineol, combinado com flúor, proporciona uma proteção mais robusta contra a cárie dentária do que quando usados separadamente [Martinez & Silva, 2024].

Para enriquecer a discussão sobre a eficácia antimicrobiana de extratos naturais contra *Streptococcus mutans*, um estudo publicado por Balhaddad e colaboradores [2023] investigou a eficácia do extrato de eucalipto. O estudo demonstrou que o extrato apresentou atividade antimicrobiana significativa contra *S. mutans*. Esse resultado indica que o extrato natural pode ser eficaz na redução da carga bacteriana na cavidade oral, complementando o uso de agentes como o flúor. Com base nos resultados deste estudo, o uso do extrato como composto orgânico pode ser considerado uma ferramenta adjuvante na prevenção do crescimento de patógenos orais que causam cárie dentária e infecção endodôntica.

Os dados demonstram que as combinações de flúor com extratos naturais de gengibre e eucalipto têm um efeito aditivo na inibição e eliminação de bactérias. Além disso, presença de flúor é crucial para alcançar uma eficácia antimicrobiana significativa. No que diz respeito a Água Rabelo® gengibre com flúor mostrou-se promissora, enquanto que a Água Rabelo® tradicional, tanto com quanto sem flúor, não apresentou resultados significativos. A clorexidina continua sendo o controle mais eficaz, destacando-se como o padrão-ouro na eficácia antimicrobiana e validando amplamente sua utilização na odontologia [Almeida et al., 2024].

## Conclusão

Este estudo fornece evidências importantes sobre a estabilidade do fluoreto em enxaguatórios fitoterápicos e soluções de extratos naturais, destacando a necessidade de otimização das formulações para garantir a eficácia e segurança dos produtos. A identificação e eliminação dos constituintes que sequestram o fluoreto nos enxaguatórios da Água Rabelo® são essenciais, assim como a incorporação planejada de fluoreto para alcançar concentrações ideais para a remineralização dental.

O estudo realizado evidencia que a estabilidade do fluoreto em enxaguatórios bucais é influenciada por diversos fatores, incluindo a matriz de incorporação, a presença de compostos sequestradores, o pH e a temperatura de armazenamento. Assim, é possível concluir que tanto os enxaguatórios fitoterápicos quanto as soluções de extratos naturais apresentaram instabilidade físico-química ao longo do período estudado. Além disso, revelou que houve sequestro de fluoreto nas soluções testadas, indicando que parte do fluoreto adicionado permaneceu disponível na forma ativa e outra parte indisponível. Isso é crucial para garantir a eficácia anticariogênica dos produtos.

Este estudo sublinha a necessidade de uma avaliação contínua da estabilidade do fluoreto em produtos odontológicos e sugere que futuras pesquisas se concentrem em testes clínicos para validar a eficácia dos enxaguatórios e soluções de extratos naturais com flúor.

Além disso, a combinação de flúor com enxaguatórios fitoterápicos ou extratos de gengibre e eucalipto apresentam um efeito aditivo que pode ser uma alternativa promissora no combate a patógenos bacterianos, confirmando o benefício adicional do fluoreto na formulação. Em suma, a estabilidade do fluoreto é crucial para a prevenção eficaz de cárie, e este estudo contribui para a compreensão e melhoria das formulações de enxaguatórios bucais.

## **Agradecimentos**

Os autores gostariam de agradecer o auxílio prestado pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Clínica e Odontologia Social e ao Laboratório de Biologia Bucal.

## Referências

1. Addy M, Wade W, Goodfield S. Staining and antimicrobial effects of chlorhexidine on palatal and tongue surfaces. *J Clin Periodontol.* 1995;22(11):923-8.
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 185, de 13 de outubro de 2001.
3. Ahmad R, Mehmood A, Akram Z. Efficacy of herbal extracts in dental plaque reduction: A systematic review. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2022;12(3):244-52.
4. Almeida P, Ferreira J, Costa A. Chlorhexidine as the gold standard in dentistry: a review of its efficacy and clinical applications. *J Clin Dent.* 2024;35(2):89-101. doi:10.1016/j.jcd.2024.01.005.
5. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48(suppl\_1):5-16.
6. Balhaddad AA, Kansara AA, Hidan MA, Weir MD, Xu HHK. Effect of eucalyptus oil on *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis* growth. *BDJ Open.* 2023;9:26. doi: 10.1038/s41405-023-00154-8. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41405-023-00154-8>
7. Baumann T, Niemeyer SH, Lussi A, Scaramucci T, Carvalho TS. Rinsing solutions containing natural extracts and fluoride prevent enamel erosion in vitro. *J Appl Oral Sci.* 2023 Jul 24;31:e20230108. doi: 10.1590/1678-7757-2023-0108.
8. Benoit DSW, Sims Jr KR, Fraser D. Nanoparticles for oral biofilm treatments. *ACS Nano.* 2019;13(5):4869-4875.
9. Blaedel WJ, Meloche VW. *Elementary Quantitative Analysis: Theory and Practice.* New York: Harper & Row; 1963.
10. Braga AS, Girotti LD, de Melo Simas LL, Pires JG, Pelá VT, Buzalaf MAR, et al. Effect of commercial herbal toothpastes and mouth rinses on the prevention of enamel demineralization using a microcosm biofilm model. *Biofouling.* 2019;35(7):796-804. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08927014.2019.1662897>
11. Braga FG, Bouzada MLM, Fabri RL, et al. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2007;111(2):396-402. doi:10.1016/j.jep.2006.12.002.

12. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 4, de 30 de janeiro de 2014.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 530, de 4 de agosto de 2021.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Guia de recomendações para o uso de fluoretos no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. (Série A. Normas e Manuais Técnicos)
15. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº. 518, de 25 de março de 2004. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 mar. 2004.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). 2009.
17. Bueno-Silva B, et al. Effect of neovestitol–vestitol containing Brazilian red propolis on accumulation of biofilm in vitro and development of dental caries in vivo. *Biofouling*. 2013 Oct 17;29(10):1233-1242.
18. Buzalaf MAR, Pessan JP, Honório HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci*. 2011;22:97-114.
19. Cardoso JG, Iorio NLP, Soares PV, de Oliveira Júnior LM, Santos VP, de Castro RD, et al. Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans*' count in dental biofilm. *Arch Oral Biol*. 2016;65:77-81.
20. Carvalho TS, Pham K, Rios D, Niemeyer S, Baumann T (2022) Efeito sinérgico entre extratos vegetais e flúor na proteção contra a erosão do esmalte: Um estudo in vitro. *PLoS UM* 17(11): e0277552. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277552>
21. Chatterjee A, Debnath K, Rao NKH. A comparative evaluation of the efficacy of curcumin and chlorhexidine mouthrinses on clinical inflammatory parameters of gingivitis: A double-blinded randomized controlled clinical study. *J Indian Soc Periodontol*. 2017;21(2):132-137.
22. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

23. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
24. Conover, W.J. (2018). Practical Nonparametric Statistics (4th ed.). Wiley. ISBN 9781119364965.
25. Cury JA, Tenuta LM. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res.* 2008;20(1):13-6.
26. Cury JA, Tenuta LMA, Freitas AR, Souza JGS, Duarte S. Influence of organic compounds on fluoride stability in mouthwashes: implications for remineralization potential. *J Dent.* 2021;105:103563. doi:10.1016/j.jdent.2020.103563
27. Da Cunha MG, Franchin M, Galvão C, Lacerda SRC, Oda-Souza M, Ikegaki M, et al. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geopropolis. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13:28.
28. De Luca MP, et al. The anti-caries activity and toxicity of an experimental propolis-containing varnish. *Braz Oral Res.* 2017;31(0).
29. Duarte, S., Diniz, M. B., de Holanda Oliveira, L., & Cury, J. A. (2017). Influence of fluoride dentifrice concentration on dentin demineralization and remineralization in situ. *Brazilian Oral Research*, 31, e24. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2017.vol31.0024>
30. Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry. Munksgaard; 1990.
31. Figueredo CA, Gurgel IGD, Gurgel Junior GD. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. *Physis Rev Saude Colet.* 2014;24(2):381-400.
32. Flotra L, Gjermo P, Rolla G, Waerhaug J. Side effects of chlorhexidine mouth washes. *Scand J Dent Res.* 1971;79(2):119-25.
33. Foster S, Tyler VE. Tyler's honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies. New York: Haworth Herbal Press; 2000.
34. Freitas, A. R., Tenuta, L. M. A., Cury, J. A., Souza, J. G. S., & Duarte, S. (2018). Influence of fluoride concentration and pH on fluoride stability, availability and enamel remineralization in vitro. *Archives of Oral Biology*, 96, 152–157. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.08.022>
35. Freitas, J. F. Fluoride stability in toothpastes. *Aust Dent J.* 1984 Feb;29(1):30-5. doi: 10.1111/j.1834-7819.1984.tb04540.x. PMID: 6588940.

36. Gallo M, Fonseca L, Mendes RM. Aloe vera and fluoride association: Benefits for oral health. *Rev Odontol UNESP*. 2022;51(2)
37. Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A. Identification and concentration of some flavonoid components in Malaysian young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) varieties by a high performance liquid chromatography method. *Molecules*. 2010;15(9):6231-6243. doi:10.3390/molecules15096231.
38. Gibbons, J.D., & Chakraborti, S. (2020). *Nonparametric Statistical Inference* (6th ed.). CRC Press. ISBN 9780367332280.
39. Gil MI, Tomás-Barberán FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*. 2000;48(10):4581-4589. doi:10.1021/jf000404a.
40. Goyal V, Damle S, Puranik MP, Nuvvula S, Kakanur M, Marwah N, Asokan S, Suprabha BS, Sreenivasan P, Wadgave U, Shyam S, Thakur D. Arginine: A New Paradigm in Preventive Oral Care. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2023 Sep-Oct;16(5):698-706. doi: 10.5005/jp-journals-10005-2693.
41. Gupta A, Dhingra R, Sharma A. Emerging trends in herbal oral care products: A comprehensive review. *J Ayurveda Integr Med*. 2022;13(2):100-107.
42. Howell DC. *Statistical Methods for Psychology*. Cengage Learning; 2012.
43. ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods*. 3rd ed. ISO 10993-5. 2009.
44. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 1997;15:55-62.
45. Juergens UR, Stöber M, Schmidt-Schilling L, Kleuver T, Vetter H. Anti-inflammatory effects of eucalyptol (1,8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes ex vivo. *Eur J Med Res*. 1998;3(9):407-412.
46. Klein, M.I.; Hwang, G.; Santos, P.H.S.; Campanella, O.H.; Koo, H. Streptococcus mutans-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2015, 5, 10.
47. Kouadio AA, Struillou X, Bories C, Bouler JM, Badran Z, Soueidan A. An in vitro analysis model for investigating the staining effect of various chlorhexidine-based mouthwashes. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(3):e410-e416.

48. Kraivaphan P, Amornchat C, Triratana T, Mateo LR, Ellwood R, Cummins D, DeVizio W, Zhang YP. Two-year caries clinical study of the efficacy of novel dentifrices containing 1.5% arginine, an insoluble calcium compound and 1,450 ppm fluoride. *Caries Res.* 2013;47(6):582-90. doi: 10.1159/000353183.
49. Kumari S, Saini N, Dhillon M. Green dentistry: Eco-friendly innovations in dental practice. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2023;30(5):5432-40.
50. Leite MN, Figueiredo PA, Barbosa-Filho JM, Athayde-Filho PF, Silva MS, Moura RO. Chemistry and pharmacology of *Schinus terebinthifolius*: a review. *J Med Plants Res.* 2018;12(15):173-185.
51. Li X, Zhong Y, Jiang X, Hu Deyu, Mateo LR, Morrison BM Jr, Zhang YP. Randomized clinical trial of the efficacy of dentifrices containing 1.5% arginine, an insoluble calcium compound and 1450 ppm fluoride over two years. *J Clin Dent.* 2015;26(1):7-12. PMID: 26054185.
52. Li Y, Guo C, Yang J, Wei J, Xu J, Cheng S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chem.* 2006;96(2):254-260. doi:10.1016/j.foodchem.2005.02.033.
53. Luciano MR. Enxaguatório Bucal Contendo Extrato Da Casca De Romã (*Punica Granatum*), Trimetafosfato De Sódio E Flúor: Avaliação De Seu Potencial Anticariogênico. 2020.
54. Lynch MC, Cortelli SC, McGuire JA, Zhang J, Ricci-Nittel D, Mordas CJ, et al. The effects of essential oil mouthrinses with or without alcohol on plaque and gingivitis: a randomized controlled clinical study. *BMC Oral Health.* 2018;18(1):6.
55. Machiulskiene, V.; Campus, G.; Carvalho, J.C.; Dige, I.; Ekstrand, K.R.; Jablonski-Momeni, A.; Maltz, M.; Manton, D.J.; Martignon, S.; Martinez-Mier, E.A.; et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020, 54, 7–14.
56. Maltz M, et al. Cárie dentária: conceitos e terminologia. In: *Cariologia: Conceitos básicos, diagnóstico e tratamento não restaurador.* São Paulo: Arts Médicas; 2016. p. 11-16.
57. Marconi MA, Lakatos EM. *Técnicas de pesquisa.* 5ª ed. São Paulo: Atlas; 2002.
58. Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(4).

59. Marinho VC, Worthington HV, Walsh T, Clarkson JE. Fluoride gels for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;(6).
60. Marinho VCC, Higgins JPT, Logan S, Sheiham A (2003) Fluoride mouthrinses for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*:CD002284. doi:<https://doi.org/10.1002/14651858.CD002284>
61. Martinez A, Silva R. Antimicrobial efficacy of eucalyptus extract and fluoride combination against *Streptococcus mutans*: an additive effect study. *J Dent*. 2024;112(4):192-203. doi:10.1016/j.jdent.2024.03.009.
62. Martins MC, et al. Cytotoxic and antibacterial effect of a red propolis mouthwash, with or without fluoride, on the growth of a cariogenic biofilm. *Arch Oral Biol*. 2019 Nov 1;107:104512-104512.
63. Martins ML, Cunha MG, Santos VR, de Carvalho AA, Franchin M, Cunha TM, et al. Efficacy of red propolis hydro-alcoholic extract in controlling *Streptococcus mutans* biofilm build-up and dental enamel demineralization. *Arch Oral Biol*. 2018;93:56-65.
64. Martins ML, Monteiro ASN, Guimarães JEC, Guimarães MBCT, da Silva RF, Cabral LM, et al. Cytotoxic and antibacterial effect of a red propolis mouthwash, with or without fluoride, on the growth of a cariogenic biofilm. *Arch Oral Biol*. 2019 Nov;107:104512. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.104512. Epub 2019 Jul 30. PMID: 31382160.
65. Massey, F.J. (1951). The Kolmogorov-Smirnov Test for Goodness of Fit. *Journal of the American Statistical Association*, 46(253), 68-78. doi:10.2307/2280095.
66. Mathur S, Tanu M, Rahul S. Chlorhexidine: The gold standard in Chemical Plaque Control. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. 2011;1(2):45-50.
67. McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytother Res*. 2006;20(8):619-633. doi:10.1002/ptr.1936.
68. Mphahlele RR, Fawole OA, Stander MA, Opara UL. Phytochemical composition and bioactivity profile of pomegranate fruit and its products. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2018;58(15):2565-2578. doi:10.1080/10408398.2017.1361982.
69. Oliveira KA, Diniz LS, Cury JA. Development of a Mouthwash Containing Natural Extracts: Stability of Fluoride and Fluoride Ion Release. *Braz Dent J*. 2022;33(2):198-204.

70. Oliveira, L. H., Diniz, M. B., & Cury, J. A. (2022). Efficacy of natural extracts in maintaining fluoride stability in oral care formulations: a systematic review. *International Journal of Cosmetic Science*, 44(1), 82–90.
71. Orion Research, Inc. Orion Fluoride Electrodes Instruction Manual. Thermo Fisher Scientific; 2003. Available from: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/manuals/Orion-Fluoride-ISE-User-Manual.pdf>
72. Patel RV, Thakkar JR, Patel VK. Role of natural products in dental care: Current status and future perspectives. *J Clin Diagn Res*. 2021;15(6):ZE01-ZE06.
73. Pattnaik N, et al. Aloe vera mouthwashes can be a natural alternative to chemically formulated ones – A randomized-controlled trial. *J Taibah Univ Med Sci*. 2022 Jun 1;17(3):424-432.
74. Pratten J, et al. In vitro studies of the effect of antiseptic-containing mouthwashes on the formation and viability of *Streptococcus sanguis* biofilms. *J Appl Microbiol*. 1998;84(6):1149-1155.
75. Ribeiro, A.A.; Paster, B.J. Dental caries and their microbiomes in children: What do we do now? *J. Oral Microbiol*. 2023, 10, 2198433. [CrossRef]
76. Sadlon AE, Lamson DW. Immune-modifying and antimicrobial effects of eucalyptus oil and simple inhalation devices. *Altern Med Rev*. 2010;15(1):33-47. PMID: 20359267.
77. Sampaio, C.; Delbem, A.C.B.; Paiva, M.F.; Zen, I.; Danelon, M.; Cunha, R.F.; Pessan, J.P. Amount of Dentifrice and Fluoride Concentration Influence Salivary Fluoride Concentrations and Fluoride Intake by Toddlers. *Caries Res*. 2020, 54, 234–241.
78. Santos L, Duarte S, Cury JA. Evaluation of the fluoride stability in mouthwashes and natural extracts solutions. *J Oral Res*. 2024;13(1):71-79.
79. Santos, R. M., Duarte, S., & Cury, J. A. (2024). Influence of temperature variation on fluoride stability in oral rinses: implications for caries prevention. *Clinical Oral Investigations*, 28(4), 1427–1434.
80. Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 2007;42(4):321-324.

81. Semwal RB, Semwal DK, Combrinck S, Viljoen A. Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger. *Phytochemistry*. 2015;117:554-568. doi:10.1016/j.phytochem.2015.06.012.
82. Siegel S, Castellan NJ. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. McGraw-Hill; 1988.
83. Silva FC, Martinez RC, Souza DM. Enhanced fluoride gel with chamomile and propolis extracts for caries prevention and periodontal health. *Pesqui Odontol Bras*. 2021;35
84. Silva J, Abebe W, Sousa SM, Duarte VG, Machado MIL, Matos FJA. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. *J Ethnopharmacol*. 2003;89(2-3):277-283. doi:10.1016/S0378-8741(03)00337-0.
85. Silva J. *Estabilidade de produtos farmacêuticos*. Editora de Saúde; 2024.
86. Silva LMR da. *Atividade antifúngica do enxaguatório bucal frente a Candida albicans [Trabalho de Conclusão de Curso]*. Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba; 2017. 34f.
87. Silva, M. R., Oliveira, L. H., & Diniz, M. B. (2020). pH stability of eucalyptus extract and its influence on fluoride retention in mouthwash formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(5), 1765–1772.
88. Singh N, Singh V, Rai R. Natural products in oral healthcare: A review. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2021;11(1):79-84.
89. Smith, J., & Wang, L. (2024). Efficacy of Natural Extracts Against *Streptococcus mutans*: A Comparative Study. *Journal of Applied Microbiology*, 136(1), 45-56. doi:10.1111/jam.15876
90. Souza JGS, Freitas AR, Tenuta LMA. Stability of fluoride and fluoride ion release in mouthwashes containing natural extracts. *J Appl Oral Sci*. 2023;31:e20190782.
91. Surjushe A, Vasani R, Saple DG. Aloe vera: A short review. *Indian J Dermatol*. 2008;53(4):163-166. doi:10.4103/0019-5154.44785.
92. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res*. 2011 Mar 1;90(3):294-303.
93. Ten Cate JM, Featherstone JD. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1991;2(3):283-96.

94. Valkenburg, C.; Else Slot, D.; Van der Weijden, G.A. What is the effect of active ingredients in dentifrice on inhibiting the regrowth of overnight plaque? A systematic review. *Int. J. Dent. Hyg.* 2020, 18, 128–141.
95. Van der Weijden FA, Slot DE. Efficacy of homecare regimens for mechanical plaque removal in managing gingivitis: a meta review. *J Clin Periodontol.* 2015 Mar 31;42:S77-S91.
96. Verdi P, Campos ML, Cavalcante-Leão BL, Oliveira EF. Effect of tea tree oil and fluoride combination on enamel demineralization. *J Appl Oral Sci.* 2022;30
97. Vieira APM, Danelon M, Fernandes GL, Berretta AA, Buszinski AFM, Dos Santos L, et al. Pomegranate extract in polyphosphate-fluoride mouthwash reduces enamel demineralization. *Clin Oral Investig.* 2024 Jan 26;28(1):119. doi: 10.1007/s00784-024-05495-8. PMID: 38277034.
98. Villa O, Ramberg P, Fukui H, Emilson CG, Papanikolaou G, Heijl L, Birkhed D. Interaction between chlorhexidine and fluoride in a mouthrinse solution-a 4-day and 6-week randomized clinical pilot study. *Clin Oral Investig.* 2018 Apr;22(3):1439-1448.
99. Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Marinho VCC, Jeroncic A. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;3:CD007868.
100. Yadufashije C, Niyonkuru A, Munyeshyaka E, Madjidi S, Mucumbitsi J. Antibacterial activity of ginger extracts on bacteria isolated from digestive tract infection patients attended Muhoza Health Center. *Asian J Med Sci.* 2020;11(2):35-41. Available from: <https://doi.org/10.1186/1476-0711-11-8>
101. Zheng CY, Wang ZH. Effects of chlorhexidine, listerine and fluoride listerine mouthrinses on four putative root-caries pathogens in the biofilm. *Chin J Dent Res.* 2011;14(2):135-140.

## Informações de apoio

Tabela 1: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo® e nos Extratos Naturais – Dia zero

Amostra	Temperatura ambiente		
Água Rabelo	ppm F (média)	Desvio padrão	pH
Tradicional	9.38	2.2	4.89
Romã	7.11	2.17	3.89
Gengibre	5.19	1.158	4.59
Citrus	4.61	0.074	4.3
Aloe Vera	6.28	0.683	3.65
Blank	0.02	0.004	-
Extratos	ppm F	Desvio padrão	pH
Eucalipto	5.85	0.737	4.07
Romã	3.44	0.081	3.67
Gengibre	3.55	0.357	4.43
Hortelã	4	0.389	4.69
Aroeira	2.64	0.909	4.67
Blank 1	0.02	0.006	-
Blank 2	0.03	0.004	-

Tabela 2: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo® e nos Extratos Naturais – semana 1.

Amostra	Temperatura ambiente				37°C				45°C			
	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	pH (controle sem flúor)	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	pH (controle sem flúor)	ppm F (média)	Desvio Padrão	pH	pH (controle sem flúor)
Água rabelo												
Tradicional	5.85	0.834	4.4	7.42	3.81	0.026	4.8	7.89	2.75	0.127	4.4	7.45
Romã	3.81	0.452	3.4	4.21	3.54	0.36	3.9	4.23	2.76	0.094	4.2	4.25
Gengibre	3.99	0.561	3.9	6.33	3.29	0.463	5.5	6.37	2.85	0.281	5	6.35
Citrus	3.25	0.052	4.1	4.3	2.76	0.152	4	4.29	2.15	0.109	4.3	4.27
Aloe Vera	4.09	0.513	4.7	4.58	3.27	0.198	3.6	4.65	2.57	0.035	4.8	4.59
Fluorplax	94	0.095	3.7	-	-	0.095	-	-	-	0.095	-	-
Blank (água deionizada)	0.01	0.002	-	-	0.01	0.002	-	-	0.01	0.002	-	-
Extrato												
Eucalipto	6.64	1.523	3.7	4.32	6.76	0.21	3.9	4.23	10.02	1.149	3.8	3.32
Romã	6.06	0.104	3.8	4.09	6.85	0.98	4.6	2.9	6.28	0.316	3.5	4.09
Gengibre	5.11	0.224	3.8	3.93	5.39	0.355	4	3.97	8.05	0.772	4	3.96
Hortelã	8.17	0.265	3.2	4.15	7.46	0.555	3.9	4.13	9.37	0.974	4.3	5.27
Aroeira	3.94	0.337	4.7	4.35	5.14	0.42	4	4.3	6.33	0.59	4	4.34
Blank 1 (água deionizada)	0.05	0.015	-	-	0.05	0.015	-	-	0.05	0.015	-	-
Blank 2 (água+tween 80+DMSO)	0.04	0.008	-	-	0.04	0.008	-	-	0.04	0.008	-	-

**Tabela 3: Concentração de fluoreto presentes nos enxaguatórios Água Rabelo® e nos Extratos Naturais – semana 2.**

Amostra	Temperatura ambiente				37°C				45°C			
	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	pH (controle sem flúor)	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	pH (controle sem flúor)	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	pH (controle sem flúor)
Água rabelo												
Tradicional	2.27	0.356	4.8	7.2	3.1	1.472	5	7.29	1.8	0.032	4.03	7.52
Romã	2.91	1.667	2.9	4.67	1.8	0.049	3.6	4.27	1.51	0.051	4.09	4.67
Gengibre	2.09	0.028	2.1	6.35	1.92	0.136	3.7	6.38	1.17	0.155	5.34	6.47
Citrus	1.34	0.04	1.3	4.87	1.44	0.232	2.1	5.46	1.13	0.096	3.95	4.37
Aloe Vera	2.09	0.256	2.1	4.75	1.46	0.069	3.5	4.65	1.22	0.047	3.94	4.62
Fluorplax	92	0.11	4.7	-	20	0.004	3.5	-	34	0.043	3.8	-
Blank (água deionizada)	0.01	0.001	0	-	0.01	0.001	0	-	0.01	0.001	0.01	-
Extrato												
Eucalipto	9.06	0.045	6	4.19	12.65	1.026	4	3.99	7.31	1.286	4.03	3.98
Romã	6.04	0.643	3.4	4.04	10.58	1.344	3.8	4.04	7.57	0.362	3.49	4.04
Gengibre	5.44	0.173	3.2	3.96	7.03	0.568	3.9	3.94	6.31	0.844	3.05	3.85
Hortelã	8.42	0.669	3.7	4.14	8.81	1.565	3.7	4.02	7.34	0.964	3.75	3.66
Aroeira	4.67	1.04	3.8	4.33	5.55	0.181	3	4.32	4.38	0.214	3.73	4.24
Blank 1 (água deionizada)	0.03	0.009	-	-	0.03	0.009	-	-	0.03	0.009	-	-
Blank 2 (água+tween 80+DMSO)	0.04	0.008	-	-	0.04	0.008	-	-	0.04	0.008	-	-

**Tabela 4: Concentração de fluoreto presentes nos enxaguatórios Água Rabelo® e nos Extratos Naturais – semana 3.**

Amostra	Temperatura ambiente				37°C				45°C			
	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	pH (controle sem flúor)	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	pH (controle sem flúor)	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	pH (controle sem flúor)
Água rabelo												
Tradicional	6.58	2.592	4.11	7.48	5.8	0.505	4.44	7.63	6.07	1.635	4.76	7.66
Romã	5.04	1.281	3.51	4.07	4.84	0.181	4.12	4.72	2.38	0.251	3.71	4.35
Gengibre	3.94	0.241	4	6.43	3.19	0.662	5.74	6.52	2.46	0.206	4.03	6.45
Citrus	4.77	0.636	4.49	4.38	2.78	0.124	3.14	4.43	2.39	0.179	4.77	4.45
Aloe Vera	9.3	1.129	3.88	4.71	4.18	1.384	4.97	5.77	2.52	0.155	4.39	4.76
Fluorplax	2	0.002	4.22	-	33	0.046	4.22	-	50	0.019	4.08	-
Blank (água deionizada)	0	0.001	-	-	0	0.001	-	-	0	0.001	-	-
Extrato												
Eucalipto	8.39	0.578	4.19	4.83	7.06	0.814	3.87	3.88	7.27	1.261	3.22	3.76
Romã	5.34	0.237	3.36	4.13	9.44	2.888	3.27	3.76	6.93	1.26	3.12	3.97
Gengibre	5.38	0.125	3.78	4.04	6.39	0.685	3.55	3.94	6.13	0.521	2.81	3.95
Hortelã	8.02	0.067	4.11	4.27	10	1.316	3.74	3.61	6.7	0.508	3.18	3.92
Aroeira	5.66	1.36	3.6	3.73	7.39	0.535	3.66	4.32	6.32	0.685	3.35	4.21
Blank 1 (água deionizada)	0.05	0.017	-	-	0.05	0.017	-	-	0.05	0.017	-	-
Blank 2 (água+tween 80+DMSO)	0.04	0.007	-	-	0.04	0.007	-	-	0.04	0.007	-	-

**Tabela 5: Concentração de fluoreto presentes nos enxaguatórios Água Rabelo® e nos Extratos Naturais – semana 4.**

Água rabelo	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH
Tradicional	11.33	0.96	3.88	7.42	0.376	6.65	10.83	0.48	6.92
Romã	7.07	0.46	2.97	6.92	0.578	3.46	7.05	0.345	4.29
Gengibre	6.15	1.786	5.51	5.87	0.582	5.28	9.67	2.687	6.68
Citrus	5.14	0.773	4.77	5.27	0.208	5.27	6.34	0.58	5.91
Aloe Vera	4.53	0.666	3.86	5.58	0.416	3.56	7.6	1.225	5.02
Fluorplax	98	0.067	4.43	97	0.061	4.44	149	0.084	5.08
Blank (água deionizada)	0.03	0.003	-	0.03	0.003	-	0.03	0.003	-
Extrato	ppm F	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH
Eucalipto	5.17	0.631	4.21	11.65	5.361	3.17	5.1	0.444	2.99
Romã	5.89	0.483	3.86	6.87	0.332	3.18	5	0.426	2.85
Gengibre	4.24	0.569	3.33	3.89	0.159	2.77	3.68	0.289	2.8
Hortelã	4.31	0.109	3.78	7.5	1.649	3.33	10.24	0.947	2.93
Aroeira	2.5	0.262	3.13	5.65	0.567	4.33	4.69	0.553	3.53
Blank 1 (água deionizada)	0.02	0.002	-	0.02	0.002	-	0.02	0.002	-

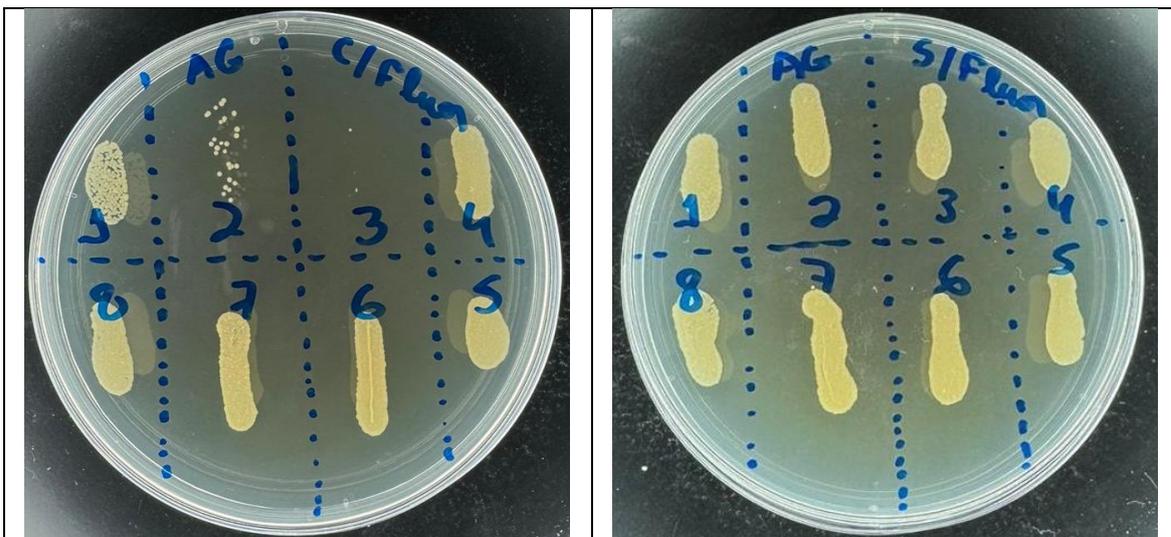
Tabela 6: Concentração de fluoreto presentes nos enxaguatórios Água Rabelo® e nos Extratos Naturais – semana 5.

Amostra	Temperatura ambiente			37°C			45°C		
Água rabelo	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH
Tradicional	8.01	0.888	3.74	10.86	3.786	7.22	7.01	0.62	3.72
Romã	7.02	0.518	3.35	5.67	1.576	4.73	5.28	0.194	4.53
Gengibre	6.26	1.056	5.23	5.93	0.172	4.12	4.97	0.376	6.67
Citrus	4.74	0.157	3.03	4.97	0.125	4.69	4.83	0.721	4.25
Aloe Vera	14.18	15.36	3.48	7.81	1.01	4.43	4.92	0.302	3.94
Fluorplax	73	0.092	3.32	134	0.063	5.47	95	0.079	5.67
Blank (água deionizada)	0.01	0.003	-	0.01	0.003	-	0.01	0.003	-
Extrato	ppm F	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH
Eucalipto	7.89	2.213	4.93	8.6	0.234	3.87	9.83	0.848	4.03
Romã	6.48	0.599	4.04	7.35	0.508	4.24	11.89	1.85	3.94
Gengibre	7.53	0.257	3.59	6.66	0.156	3.22	8.52	0.306	3.03
Hortelã	7.55	2.954	3.78	8.58	0.693	3.13	11.3	0.394	3.09
Aroeira	5.01	0.455	3.62	5.77	0.153	3.77	7.41	0.111	3.43
Blank 1 (água deionizada)	0.06	0.014	-	0.06	0.014	-	0.06	0.014	-
Blank 2 (água+tween n 80+DMSO)	0.07	0.007	-	0.07	0.007	-	0.07	0.007	-

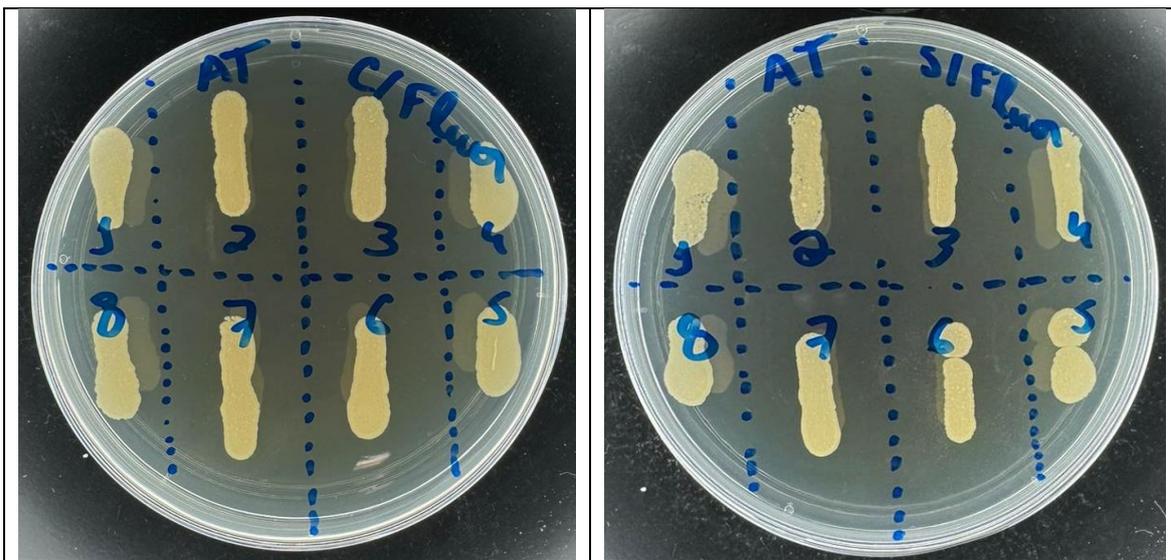
Tabela 7: Concentração de fluoreto presentes nos enxaguatórios Água Rabelo® e nos Extratos Naturais – semana 8.

Amostra	Temperatura			37°C			45°C		
	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH	ppm F (média)	Desvio padrão	pH
Água rabelo									
Tradicional	4.21	1.201	5.4	5.24	3.213	5.2	1.88	0.431	3.6
Romã	2.46	0.422	4	1.54	0.12	3.9	1.53	0.077	3.3
Gengibre	2.43	0.232	4.9	1.45	0.132	5.9	1.65	0.3	5.1
Citrus	1.64	0.044	3.8	0.96	0.134	3.6	1.02	0.116	3.3
Aloe Vera	1.69	0.084	3.9	1.3	0.098	4.2	1.31	0.071	3.4
Fluorplax	17	0.008	2.4	54	0.067	5.4	14	0.02	3.5
Blank (água deionizada)	0.01	0.0002	-	0.01	0.0002	-	0.01	0.0002	-
Extrato									
Eucalipto	6.93	0.769	3.8	3.71	0.28	3.1	3.69	0.421	3.2
Romã	4.6	0.241	3.2	3.68	0.444	3.3	3.74	0.68	3.3
Gengibre	4.3	0.429	3.4	3.55	0.245	3.7	3.45	0.096	3.1
Hortelã	4.44	0.692	5.8	5.25	2.309	3	3.89	0.413	2.6
Ároeira	9.25	10.51	3.6	2.63	0.489	3.5	2.94	0.275	3.7
Blank 1 (água deionizada)	0.03	0.01	-	0.03	0.01	-	0.03	0.01	-
Blank 2 (água+tween 80+DMSO)	0.04	0.008	-	0.04	0.008	-	0.04	0.008	-

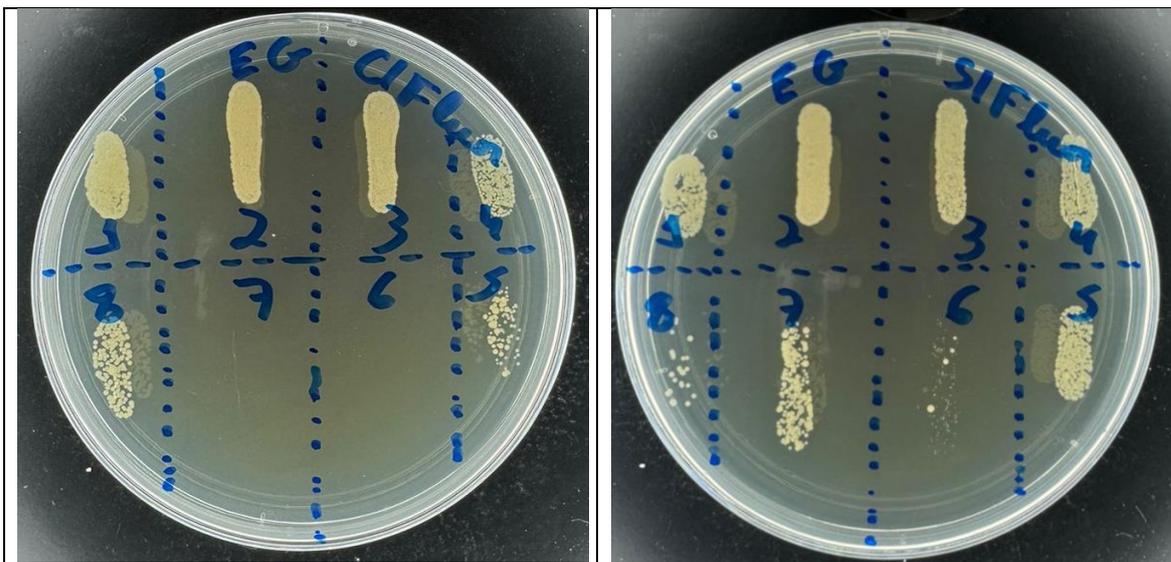
**Imagem 1 – 2:** Plaqueamento da Água Rabelo® Gengibre com flúor (esquerda) e Água Rabelo® Gengibre sem flúor (direita)



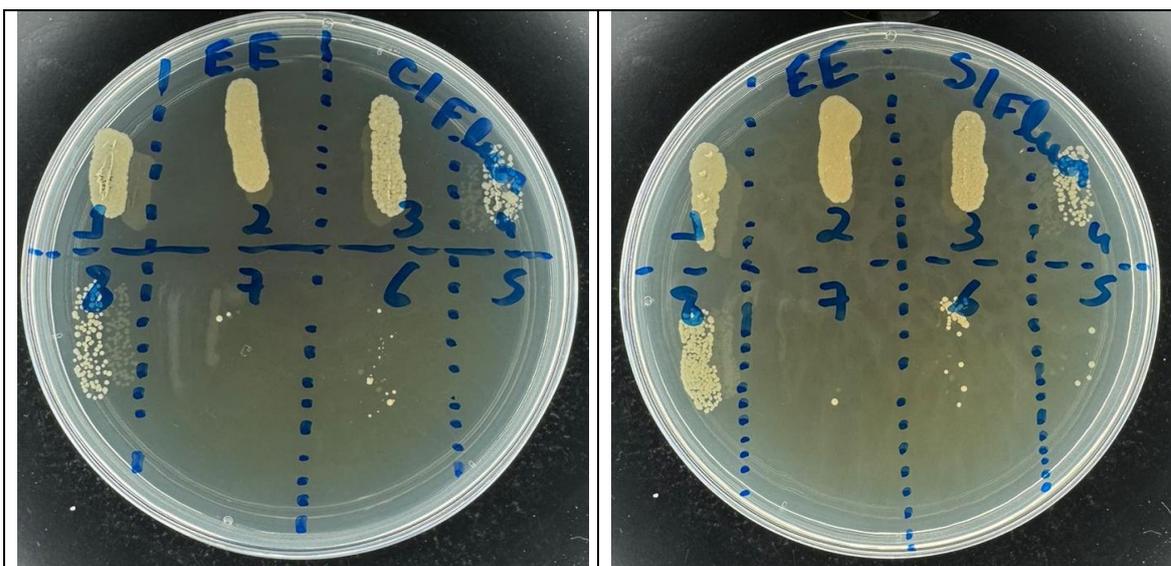
**Imagem 3 – 4:** Plaqueamento da Água Rabelo® Tradicional com flúor (esquerda) e Água Rabelo® tradicional sem flúor (direita).



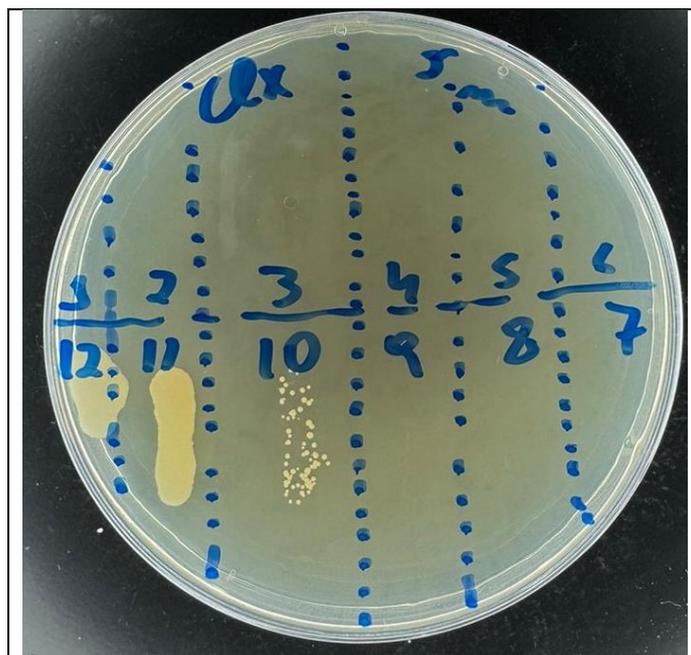
**Imagem 5 – 6:** Plaqueamento do Extrato Gengibre com flúor (esquerda) e Extrato Gengibre sem flúor (direita).



**Imagem 7 – 8:** Plaqueamento do Extrato Eucalipto com flúor (esquerda) e Extrato Eucalipto sem flúor (direita).



**Imagem 9:** Plaqueamento da Clorexidina (controle da microbiologia).



## 5. CONCLUSÃO

A presente pesquisa investigou a estabilidade do fluoreto em enxaguantes bucais contendo produtos naturais, empregando métodos analíticos rigorosos para avaliar a retenção do fluoreto ao longo do tempo.

Os resultados obtidos evidenciam que a formulação de enxaguantes bucais com ingredientes naturais pode impactar significativamente a estabilidade do flúor, sendo essencial considerar a compatibilidade entre os compostos naturais e o fluoreto para garantir a eficácia preventiva contra cáries. Constatou-se que alguns componentes naturais presentes nos enxaguantes bucais estudados atuaram de forma sinérgica, promovendo a estabilização do flúor, enquanto outros apresentaram efeitos adversos, reduzindo sua concentração ativa.

Além disso, a combinação de flúor com enxaguatórios fitoterápicos ou extratos de gengibre e eucalipto apresentam um efeito aditivo que pode ser uma alternativa promissora no combate a patógenos bacterianos, confirmando o benefício adicional do fluoreto na formulação.

Este estudo reforça a importância de um desenvolvimento cuidadoso e de testes contínuos na formulação de produtos de higiene bucal que combinem ingredientes naturais com flúor, visando maximizar os benefícios à saúde dental. Investigações futuras devem focar em identificar os mecanismos específicos de interação entre o fluoreto e diversos compostos naturais, assim como explorar a eficácia clínica desses produtos em ambientes reais.

## REFERÊNCIAS

Benoit DSW, Sims KR Jr, Fraser D. Nanoparticles for oral biofilm treatments. *ACS Nano*. 2019;13(5):4869-4875.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). 2009.

Bueno-Silva B, et al. Effect of neovestitol–vestitol containing Brazilian red propolis on accumulation of biofilm in vitro and development of dental caries in vivo. *Biofouling*. 2013 Oct 17;29(10):1233–1242.

Buzalaf MAR, Pessan JP, Honório HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci*. 2011;22:97-114.

Carvalho TS, Pham K, Rios D, Niemeyer S, Baumann T (2022) Synergistic effect between plant extracts and fluoride to protect against enamel erosion: An in vitro study. *PLoS ONE* 17(11): e0277552.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277552>

Chatterjee A, Debnath K, Rao NKH. A comparative evaluation of the efficacy of curcumin and chlorhexidine mouthrinses on clinical inflammatory parameters of gingivitis: A double-blinded randomized controlled clinical study. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2017;21(2):132-137.

Cury JA, Tenuta LM. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res*. 2008;20(1):13-6.

De Luca MP, et al. The anti-caries activity and toxicity of an experimental propolis-containing varnish. *Brazilian Oral Research*. 2017;31(0).

Featherstone, J. D. (2008). Dental caries: a dynamic disease process. *Australian Dental Journal*, 53(3), 286-291.

Featherstone, J. D., & ten Cate, J. M. (2019). "Shifting the paradigm in Cariology: From the prevention of cavities to the medical management of caries lesions." *Journal of Dental Research*, 98(7), 751-753.

Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry. Munksgaard; 1990.

Figueredo CA, Gurgel IGD, Gurgel Junior GD. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. *Physis Rev Saude Colet*. 2014;24(2):381-400.

Gallo M, Fonseca L, Mendes RM. Aloe vera and fluoride association: Benefits for oral health. *Rev Odontol UNESP*. 2022;51(2)

Ganesan, S., et al. (2021). "Natural products in oral care: potential and limitations." *Journal of Applied Oral Science*, 29, e20210249.

Howell DC. *Statistical Methods for Psychology*. Cengage Learning; 2012.

Johnson, M., et al. (2021). "Sustainable fluoride sources in dentistry." *Environmental Health Perspectives*, 129(1), 110-115.

Kouadio AA, Struillou X, Bories C, Bouler JM, Badran Z, Soueid A. An in vitro analysis model for investigating the staining effect of various chlorhexidine-based mouthwashes. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*. 2017;9(3):e410-e416.

Lima, G., et al. (2020). "Synergistic effects of fluoride and green tea extract on enamel remineralization." *Journal of Oral Science*, 62(2), 163-169.

Lynch MC, Cortelli SC, McGuire JA, Zhang J, Ricci-Nittel D, Mordas CJ, et al. The effects of essential oil mouthrinses with or without alcohol on plaque and gingivitis: a randomized controlled clinical study. *BMC Oral Health*. 2018;18(1):6.

Maltz M, et al. Cárie dentária: conceitos e terminologia. *Cariologia: Conceitos básicos, diagnóstico e tratamento não restaurador*. São Paulo: Arts Médicas. 2016:11-16.

Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(4).

Marinho VC, Worthington HV, Walsh T, Clarkson JE. Fluoride gels for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(6).

Marinho VCC, Higgins JPT, Logan S, Sheiham A (2003) Fluoride mouthrinses for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*:CD002284. doi:<https://doi.org/10.1002/14651858.CD002284>

Marsh, P. D. (2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes. *Microbiology*, 149(2), 279-294.

Martinez, S., et al. (2022). "Natural stabilizers for fluoride in dental care products." *\*Journal of Natural Products in Dentistry\**, 12(2), 210-220.

Martins MC, et al. Cytotoxic and antibacterial effect of a red propolis mouthwash, with or without fluoride, on the growth of a cariogenic biofilm. *Arch Oral Biol.* 2019 Nov 1;107:104512-104512.

Martins ML, et al. Efficacy of red propolis hydro-alcoholic extract in controlling *Streptococcus mutans* biofilm build-up and dental enamel demineralization. *Archives of Oral Biology.* 2018 Sep 1;93:56–65.

Mathur S, Tanu M, Rahul S. Chlorhexidine: The gold standard in Chemical Plaque Control. *National Journal of Physiology, Pharmacy & Pharmacology.* 2011;1(2):45-50.

Nguyen, L., et al. (2020). "Managing fluoride dosage in dental care." *\*Journal of Dental Research\**, 99(3), 255-265.

Organização Mundial da Saúde. Oral health: World Health Organization perspective. Geneva: World Health Organization; 2003.

Patel, K., et al. (2022). "Controlled release systems for fluoride in dental products." *\*Pharmaceutical Research in Dentistry\**, 18(2), 134-143.

Pattnaik N, et al. Aloe vera mouthwashes can be a natural alternative to chemically formulated ones – A randomized-controlled trial. *Journal of Taibah University Medical Sciences*. 2022 Jun 1;17(3):424–432.

Pratten J, et al. In vitro studies of the effect of antiseptic-containing mouthwashes on the formation and viability of *Streptococcus sanguis* biofilms. *Journal of Applied Microbiology*. 1998;84(6):1149-1155.

Pratten J, et al. In vitro studies of the effect of antiseptic-containing mouthwashes on the formation and viability of *Streptococcus sanguis* biofilms. *J Appl Microbiol*. 1998;84(6):1149-1155.

Sampaio, C.; Delbem, A.C.B.; Paiva, M.F.; Zen, I.; Danelon, M.; Cunha, R.F.; Pessan, J.P. Amount of Dentifrice and Fluoride Concentration Influence Salivary Fluoride Concentrations and Fluoride Intake by Toddlers. *Caries Res*. 2020, 54, 234–241.

Selwitz, R. H., Ismail, A. I., & Pitts, N. B. (2007). Dental caries. *The Lancet*, 369(9555), 51-59.

Siegel S, Castellan NJ. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. McGraw-Hill; 1988.

Silva FC, Martinez RC, Souza DM. Enhanced fluoride gel with chamomile and propolis extracts for caries prevention and periodontal health. *Pesqui Odontol Bras*. 2021;35

Silva LMR da. Atividade antifúngica do enxaguatório bucal frente a *Candida albicans* [Trabalho de Conclusão de Curso]. Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba; 2017. 34f.

Slot DE, et al. The efficacy of commercial mouth-rinses on oral malodor: a systematic review. *International Journal of Dental Hygiene*. 2014; 12(4):303-315.)

Suhardja, C., et al. (2021). "Natural products for enamel remineralization: a systematic review." *\*Journal of Dentistry\**, 101(3), 189-198.

Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *Journal of Dental Research*. 2011 Mar 1;90(3):294–303.

Ten Cate JM, Featherstone JD. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1991;2(3):283-96.

Valkenburg, C.; Else Slot, D.; Van der Weijden, G.A. What is the effect of active ingredients in dentifrice on inhibiting the regrowth of overnight plaque? A systematic review. *Int. J. Dent. Hyg*. 2020, 18, 128–141. [CrossRef] [PubMed].

Van der Weijden FA, Slot DE. Efficacy of homecare regimens for mechanical plaque removal in managing gingivitis a meta review. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015 Mar 31;42:S77–S91.

Van der Weijden FA, Slot DE. Efficacy of homecare regimens for mechanical plaque removal in managing gingivitis: a meta review. *J Clin Periodontol*. 2015 Mar 31;42:S77-S91.

Verdi P, Campos ML, Cavalcante-Leão BL, Oliveira EF. Effect of tea tree oil and fluoride combination on enamel demineralization. *J Appl Oral Sci*. 2022;30

Villa O, Ramberg P, Fukui H, Emilson CG, Papanikolaou G, Heijl L, Birkhed D. Interaction between chlorhexidine and fluoride in a mouthrinse solution-a 4-day and 6-week randomized clinical pilot study. *Clin Oral Investig*. 2018 Apr;22(3):1439-1448.

Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Marinho VCC, Jeroncic A. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;3:CD007868. [CrossRef]

Wang, Y., et al. (2021). "Effect of natural products on fluoride stability in mouthwash: An in vitro study." *\*Journal of Applied Oral Science\**, 29, e20210249.

Wozniak, A., et al. (2019). "Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil in dental applications." *\*Journal of Oral Health Research\**, 23(4), 234-240.

Zheng CY, Wang ZH. Effects of chlorhexidine, listerine and fluoride listerine mouthrinses on four putative root-caries pathogens in the biofilm. *The Chinese journal of dental research: the official journal of the Scientific Section of the Chinese Stomatological Association*. 2011;14(2):135-140.