

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

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE
ENXAGUATÓRIOS COM ASSOCIAÇÃO DE
EXTRATO DE GENGIBRE (*Zingiber officinale*
Roscoe) E FLUORETO DE SÓDIO: Estudos *in vitro***

Danielle da Silva Guimarães

SAPIENTIA AEDIFICAT

DANIELLE DA SILVA GUIMARÃES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE ENXAGUATÓRIOS COM
ASSOCIAÇÃO DE EXTRATO DE GENGIBRE (*Zingiber officinale*
Roscoe) E FLUORETO DE SÓDIO: Estudos *in vitro***

**DEVELOPMENT AND EVALUATION OF RINSES WITH
ASSOCIATION OF GINGER EXTRACT (*Zingiber officinale* Roscoe)
AND SODIUM FLUORIDE: In vitro studies**

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

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

G963d Guimarães, Danielle da Silva.

Desenvolvimento e avaliação de enxaguatórios com associação de extrato de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e fluoreto de sódio : estudos in vitro / Danielle da Silva Guimarães. - João Pessoa, 2024.
85 f. : il.

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

1. Fluoreto de sódio - Enxaguante bucal. 2. Antimicrobiano - Fitoterapia. 3. Biofilme. I. Correia Sampaio, Fábio. II. Título.

UFPB/BC

CDU 661.482

Informações Complementares:

Título em outro idioma: Development and evaluation of mouthwashes with association of ginger extract (*Zingiber officinale* Roscoe) and sodium fluoride: in vitro studies.

Parte superior do formulário

Palavras-chave em outro idioma: Antimicrobials; Biofilm; Herbal medicine; Fluoride; Mouthwash.

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: 18-12-2024

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

- ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-2660-6807>

- Link do Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2481007500645989>

DANIELLE DA SILVA GUIMARÃES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE ENXAGUATÓRIOS COM
ASSOCIAÇÃO DE EXTRATO DE GENGIBRE (*Zingiber officinale*
Roscoe) E FLUORETO DE SÓDIO: Estudos *in vitro***

A comissão examinadora abaixo relacionada julgou a Defesa de Dissertação apresentada em sessão pública no dia 18 de Dezembro de 2024 e atribuiu o conceito APROVADO(A)



Documento assinado digitalmente
FABIO CORREIA SAMPAIO
Data: 18/12/2024 10:21:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio
Orientador - UFPB



Documento assinado digitalmente
FRANKLIN DELANO SOARES FORTE
Data: 18/12/2024 12:47:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Franklin Delano Soares Forte
Examinador - UFPB



Documento assinado digitalmente
ANDREA CRISTINA BARBOSA DA SILVA
Data: 18/12/2024 10:36:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Andréa Cristina Barbosa da Silva
Examinador – UEPB

DEDICATÓRIA

Dedico esta pesquisa e meu Mestrado a Deus, que me ajudou a vencer todas as batalhas enfrentadas e aos meus pais, por me proporcionarem viver oportunidades que nunca tiveram.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus, que me deu forças, sabedoria, fé e esperança para chegar ao fim dessa etapa. Por ter guardado meu sonho diante de todas as circunstâncias, esteve ao meu lado, me levantou, me renovou e me refez, todas as vezes que foi preciso para chegar até o fim e descobrir que ainda tem mais para ser vivido.

Agradecer a minha família, que me apoiou e cuidou de tudo o que eu precisei, para que juntos pudéssemos vencer mais essa etapa.

Agradecer ao meu orientador, Prof. Dr. Fábio Sampaio, o qual não desistiu de mim, com sua generosidade e grandeza me ensinou o que é ser um prof de verdade na vida de um aluno, me ensinou sobre acolhimento, me encorajou, me motivou e não deixou meu sonho morrer no momento que eu mais precisei, a quem humanamente devo o meu Mestrado e tenho profunda admiração.

Agradecer a Prof Dra Andreia Barbosa e ao Prof Dr Franklin Forte pela disponibilidade em ler, corrigir e contribuir pela melhoria da pesquisa e do meu aprendizado.

Agradecer aos amigos do Labial e contribuintes dessa pesquisa, em especial, Dr Alexandre Junior, que foi generoso, paciente e teve uma grandeza indescritível ao estar ao meu lado em todas as etapas desse trabalho, me ensinando como prosseguir cada passo, principalmente dentro do laboratório, devo esta pesquisa a ele e ao Dr Fábio Sampaio, tenho um profundo respeito e gratidão a ambos.

Agradeço às amigas que fiz no Mestrado, pelos cafés que aliviavam a ansiedade, pela partilha, pelas risadas, caminhar com elas tornou o processo mais leve.

Agradecer ao casal de amigos, Caroline e Pedro Henrique, que me incentivaram desde o início, quando estar no Mestrado da UFPB era apenas um sonho, Dr Pedro Henrique mesmo sendo de outra área me orientou na construção do projeto de pesquisa e na aprovação, transformando um sonho em realidade e me fazendo entender que eu era capaz.

Agradecer à CAPES, ao PPGO-UFPB e à Universidade Federal da Paraíba, pelo apoio institucional recebido.

EPÍGRAFE

“O meu corpo e meu coração
poderão fraquejar, mas Deus é a
força do meu coração e a minha
herança para sempre.” (**Salmos**
73:26).

RESUMO

Poucos produtos têm associado óleos essenciais e fluoretos de sódio para desenvolver enxaguantes herbais na perspectiva de ter ação redutora de biofilme e remineralizante de forma simultânea. Essa associação é particularmente importante para pacientes com evolução rápida e lesões de mancha branca, a exemplo dos que fazem uso de aparelhos ortodônticos. O objetivo desse estudo é avaliar *in vitro* a estabilidade físico-química do extrato de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) em associação ao fluoreto de sódio (0,05% NaF), com potencial para prevenir/controlar o aparecimento lesões de manchas brancas de cárie. Dessa forma, foram preparadas soluções contendo Água Rabelo® tradicional, gengibre e extrato de *Zingiber officinale* (gengibre), G1, G2 e G3, respectivamente. Cada solução foi ajustada para conter 225 ppm de fluoreto (F⁻), utilizando como 5% de diluentes (Tween 80 e DMSO) para melhorar a solubilidade e estabilidade. As análises de pH e concentração de fluoretos foram realizadas por meio de potenciometria, utilizando soluções padrão de 0,5 a 10 ppm de F⁻ e TISAB II. As amostras foram armazenadas por 11 semanas em temperaturas ambiente, 37°C e 45°C, de envelhecimento precoce. Os resultados demonstraram que houve redução de fluoreto de sódio para todos os grupos, ao longo das semanas, sendo G2 o maior valor de média (168,44 ppm F⁻ e DP=76,02) há 37°C, estando dentro do intervalo de normalidade (175 ppm < [F⁻] < 275 ppm) por 4 semanas e CP1 como o menor valor de média (123,58 ppm F⁻ e DP=45,85), não estando dentro do intervalo por nenhuma semana, há 25 e 37°C. O pH de todas as amostras variou nas diferentes temperaturas ao longo do tempo, com tendência ácida predominante para G3 (3,78) na temperatura de 37°C e 3,83 há 45°C. Assim, podemos concluir que a independente da temperatura as substâncias perdem fluoreto de sódio ao longo do tempo, devido a presença de compostos que sofrem interação química com o F⁻, nos quais precisam ser identificados e eliminados para melhor estabilização dos compostos em associação ao fluoreto e que a acidez excessiva pode levar ao risco de erosão dentária.

Palavras-chave: Antimicrobianos. Biofilme. Fitoterapia. Fluoreto. Enxaguante bucal.

ABSTRACT

Few products have combined essential oils and sodium fluoride to develop herbal mouthwashes with the aim of simultaneously reducing biofilm and promoting remineralization. This combination is particularly important for patients with rapid progression and white spot lesions, such as those wearing orthodontic appliances. The objective of this study is to evaluate in vitro the physicochemical stability of ginger extract (*Zingiber officinale* Roscoe) in association with sodium fluoride (0.05% NaF), with the potential to prevent/control the development of white spot lesions caused by caries. For this purpose, solutions were prepared containing traditional Rabelo® water, ginger, and *Zingiber officinale* extract (ginger), labeled as G1, G2, and G3, respectively. Each solution was adjusted to contain 225 ppm of fluoride (F⁻), using 5% diluents (Tween 80 and DMSO) to enhance solubility and stability. pH and fluoride concentration analyses were performed through potentiometry, using standard solutions of 0.5 to 10 ppm of F⁻ and TISAB II. The samples were stored for 11 weeks at room temperature, 37°C, and 45°C, simulating accelerated aging. The results showed a reduction in sodium fluoride concentration for all groups over the weeks, with G2 showing the highest mean value (168.44 ppm F⁻ and SD=76.02) at 37°C, remaining within the normal range (175 ppm < [F⁻] < 275 ppm) for 4 weeks, and CP1 showing the lowest mean value (123.58 ppm F⁻ and SD=45.85), remaining outside the range for all weeks at both 25°C and 37°C. The pH of all samples varied at different temperatures over time, with an acidic tendency predominantly for G3 (3.78) at 37°C and 3.83 at 45°C. Thus, we can conclude that regardless of the temperature, the substances lose sodium fluoride over time due to the presence of compounds that chemically interact with F⁻, which need to be identified and eliminated for better stabilization of the compounds in association with fluoride. Additionally, excessive acidity may pose a risk of dental erosion.

Keywords: Antimicrobials; Biofilm; Herbal medicine; Fluoride; Mouthwash.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- *Z. officinale* - *Zingiber officinale*
- [] – 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
- *S. mutans* - *Streptococcus mutans*
- *S. aureus* - *Staphylococcus aureus*
- *E. coli* - *Escherichia coli*
- DP – Desvio Padrão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
3. OBJETIVOS	19
4. Artigo 1	20
5. Artigo 2	55
6. CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS	78

1. INTRODUÇÃO

Inúmeras afecções podem acometer a cavidade bucal, comprometendo o bem-estar social e a qualidade de vida do paciente. O biofilme dental é um dos principais responsáveis pelas condições patológicas como cárie dentária, gengivite e doença periodontal. Esses biofilmes estão organizados em colônias bacterianas complexas, com a presença de microrganismos 500 vezes mais resistentes em comparação aos microrganismos em forma livre (células planctônicas) (MÜLLER et al., 2020).

A cárie dentária é atualmente classificada como uma Doença Crônica Não Transmissível (DCNT). Trata-se de uma condição ou patologia biofilme- açúcar dependente, dinâmica, multifatorial, resultado de um desequilíbrio entre o hospedeiro, dieta e microrganismos, o que a torna a doença de maior prevalência mundial, estimando-se que acomete aproximadamente 35% da população mundial em dentição permanente e 9% em dentição decídua (PITTS et al., 2017, SAMPAIO et al., 2021,).

Pacientes que apresentam altos índices de cárie, com acúmulo de biofilme, dificuldade de higienização, mediado pelo uso de aparelhos ortodônticos fixos ou que apresentem alguma limitação motora, contribuem para possíveis mudanças qualitativas e quantitativas no estado de equilíbrio da microbiota oral (PANAGIOTOU et al., 2021). Essa condição favorece o aumento de microrganismos patogênicos e desmineralização das superfícies do esmalte, onde pode ocorrer o aparecimento de lesões de mancha branca (FARIA et al., 2020). A prevalência dessas lesões varia de 25% a 30% dos casos, a depender de cada estudo e método utilizado para detecção (LAZAR et al., 2023).

Sendo assim, as lesões de mancha branca se apresentam como um estágio inicial do processo de desmineralização, que pode ser definida como uma porosidade do esmalte mediante a perda de mineral, em que, clinicamente é observado um aspecto esbranquiçado da superfície do esmalte dentário a partir da perda da sua translucidez e regiões de rugosidade da superfície dentária (PILLI et al., 2022).

Diante disso, os fluoretos representam o composto mais usado como agente no mecanismo da remineralização, a partir da estimulação da adesão de íons de cálcio, presentes na saliva, à superfície dentária causando uma alteração na

solubilidade do esmalte dentário e proporcionando dessa forma a sua proteção contra a cárie dentária, com a capacidade de inibir as atividades enzimáticas de bactérias, como a *S. mutans*, reduzindo sua aderência à estrutura dental e o seu desenvolvimento (XU et al., 2022).

Embora o controle mecânico do biofilme dental seja uma estratégia eficaz para melhora da saúde bucal, os enxaguatórios bucais têm se desenvolvido como complemento de suporte pela capacidade de atingir quase que por completo o biofilme residual e a facilidade de uso (REN et al., 2023). Diante disso, são uma barreira de proteção adicional (MARINHO et al., 2015).

O digluconato de clorexidina (0,12%), tem sido o agente químico mais usado na odontologia como colutório, devido ao seu amplo espectro antimicrobiano, porém, o uso prolongado tem sido associado a efeitos colaterais, como reações de hipersensibilidade, sensação de queimação e alterações no paladar e na cor dos dentes, sendo contraindicado sua aplicação a longo prazo (PANAGIOTOU et al., 2021).

Assim, os produtos naturais fenólicos têm se demonstrado e sido utilizados como uma excelente alternativa para a fase do controle químico, como enxaguantes bucal contendo óleos essenciais (EO), extraídos a partir de plantas medicinais, em que algumas espécies possuem propriedades antimicrobianas, efeitos colaterais minimizados, toxicidade e baixo custo, quando comparados aos produtos químicos (FARIA et al., 2020).

Na Paraíba, existe a produção e consumo da linha de enxaguatórios bucais herbais da marca Água Rabelo®. O portfólio de produtos da empresa tem perspectiva para incorporação de diversos produtos naturais de origem vegetal. E, seguindo a tendência de mercado, já existe o potencial e interesse para produção de produtos da linha Ortodôntica (<https://www.aguarabelo.com.br>). Esses são enxaguatórios indicados para o controle de biofilmes em pacientes portadores de aparelhos ortodônticos (CURY e OLIVEIRA, 2021). Entretanto, ainda se faz necessário a avaliação de diversos *claims* do produto: ação antimicrobiana, quando da associação dos produtos naturais e fluoretos em sua formulação (MARTINS et al., 2019).

Dentre os produtos naturais antimicrobianos mais promissores do portfólio de produtos da Água Rabelo® está o extrato de gengibre.

A associação de enxaguatórios bucais com óleos essenciais e extratos naturais, combinados a escovação manual e uso de fio dental, tem gerado efeitos significantes na redução o biofilme, a gengivite e o sangramento gengival em comparação a escovação sozinha (BOSMA et al., 2024).

Finalmente, existe a necessidade de produtos fluoretados mais acessíveis, de fácil uso, como impacto coletivo, podendo ainda ser introduzido no contexto dos programas de saúde pública, na prevenção, promoção e tratamento da saúde bucal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

A hipótese do nosso trabalho está relacionada à associação de produtos naturais com fluoretos (NaF). É possível que essa associação (NaF com extrato de gengibre) leve a perdas de íon flúor livre ao longo do tempo necessitando de estratégias de farmacotécnica para estabilizar o potencial remineralizador dos fluoretos e simultaneamente garantir a ação antibiofilme do produto natural incorporado em um produto experimental.

2. REVISÃO DA LITERATURA

As doenças bucais afetam aproximadamente 3,5 milhões de pessoas em todo o mundo, representando um desafio significativo para a saúde pública global. A prevenção e o manejo dessas condições devem ser abordados com urgência, reconhecendo o impacto significativo na qualidade de vida e no bem-estar das populações, para reduzir a incidência de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNTs) e combater seus principais fatores de risco, como o consumo excessivo de açúcar (DECLARAÇÃO DE BANGKOK, 2024).

A cárie dentária é mediada por biofilme e modulada pela dieta, uma doença multifatorial não transmissível e dinâmica, resultando em perda mineral dos dentes (PITTS et al., 2017). Sendo assim, é a doença mais prevalente na cavidade bucal e a principal causa da perda dentária (BENOIT et al., 2019). Nesse contexto, a lesão de mancha branca representa a desmineralização inicial do esmalte dentário, caracterizando o estágio inicial da cárie. Essa lesão exige intervenção imediata, pois está associada ao aumento da porosidade das superfícies dentárias e à perda da translucidez do esmalte. Felizmente, quando diagnosticada precocemente, essa lesão é reversível, sendo possível a remineralização com o tratamento adequado (RAHMAN e DIAB, 2024).

O controle da doença exige a adoção de estratégias preventivas, incluindo a modificação da dieta, com a redução do consumo de sacarose, práticas de higiene bucal adequadas, como escovação, uso do fio dental e aplicação de dentifrícios fluoretados, além do uso de enxaguantes bucais para controle químico (LUO et al., 2024).

Dessa forma, o uso de fluoreto em enxaguantes bucais é uma alternativa complementar e eficaz para a remineralização dentária com prevenção no processo da cárie (WANG et al., 2021). Além disso, a incorporação dos produtos naturais a esses fármacos têm sido muito bem vinda, visto que proporcionam a estabilização do fluoreto, potencializando seu efeito e garantindo a saúde bucal de forma geral, além da redução de efeitos colaterais como alteração do paladar, manchas no esmalte dentário, sensação de ardência bucal e dentre outros, quando comparados ao digluconato de clorexidina (SUHARDJA et al., 2021).

Enxaguantes bucais com clorexidina, embora apresentem eficácia antimicrobiana comprovada, pode reduzir a diversidade bacteriana da cavidade

oral, afetando de forma negativa o equilíbrio do microbioma bucal ao eliminar tanto as espécies patogênicas quanto as benéficas, podendo interferir para manutenção de um microbioma oral saudável. Por isso, há um crescente interesse por alternativas naturais que podem ser mais equilibrantes. Contudo, ainda são necessários mais estudos clínicos in vivo para avaliar de forma conclusiva a eficácia e segurança dessas opções (BROOKES et al., 2023).

Assim, é importante priorizar práticas de saúde bucal ecologicamente corretas, com ações preventivas que incentivem o uso racional e sustentável dos recursos naturais, para fabricação e o consumo de produtos de higiene oral, que sejam seguros, de alta qualidade, acessíveis, menos invasivos, resistentes às condições climáticas e, acima de tudo, ambientalmente sustentáveis (DECLARAÇÃO DE BANGKOK, 2024).

Dessa forma, as políticas de saúde pública já têm definido a incorporação e uso de produtos herbais na odontologia, com práticas integrativas mediante as suas propriedades para prevenção de afecções bucais, promoção e prevenção de saúde. Além disso, já se comprova que o uso de compostos fitoterápicos, a base de extratos de plantas, óleos essenciais, são alternativas mais seguras e com menor citotoxicidade quando comparados aos extratos químicos e por isso, podem ser usados por uma ampla faixa etária (SHINKAI et al., 2024; GUPTA et al., 2022).

O uso da medicina de origem natural está associado ao aumento da conscientização sobre tradições médicas indígenas, respeito ambiental e consumo sustentável (TIDKE et al., 2022). Desse modo, atualmente são introduzidos em algumas fórmulas de enxaguantes bucais por conter enzimas capazes de degradar matrizes proteicas da estrutura organizacional do biofilme, bem como, por seus efeitos antimicrobianos (MOGHADDAM et al., 2022).

Recentemente, diversos óleos essenciais, como carvacrol, timol e eugenol, têm sido utilizados em enxaguatórios bucais devido aos seus efeitos bactericidas contra patógenos orais, bem como à capacidade de reduzir o biofilme e os pontos de sangramento gengival. Já os enxaguatórios bucais com fluoreto de sódio são amplamente utilizados por sua eficácia anticariogênica e sua capacidade de remineralização do esmalte in vitro, com concentrações de 200, 400 e 1400 ppm. No entanto, concentrações mais baixas de enxaguatório bucal com fluoreto, podem não ter efeito sobre o biofilme dental ou na inflamação gengival para estudos in vivo. (BROOKES et al., 2023).

O flúor é mencionado pela Organização Mundial de Saúde na lista de medicamentos essenciais devido ao seu baixo custo e alta eficácia na recuperação e proteção do esmalte dentário, com poder de reconstrução dos minerais no processo de remineralização e consequente redução de manchas brancas e de ácidos mediante a incorporação do íon flúor a estrutura de apatita, prevenindo a doença cárie (SWAAIJ et al., 2024).

Sendo assim, os fluoretos podem estar presente de diversas formas, por meio da fluoretação da água, no aumento do uso de dentifrícios fluoretados em muitos países, em diversos tratamentos e materiais odontológicos (com uso tópico ou na forma de gel, verniz), sendo importantes aliados para a prevenção de lesões cariosas e estimulação da remineralização dentária (BARRERA – ORTEGA et al., 2020).

De forma geral, os enxaguantes bucais são comercializados com baixas concentrações de fluoreto de sódio (NaF) e pH tendendo a neutro, no entanto, o estudo de Baglar, Nalcaci e Tastekin (2012), revelou que com o aumento da temperatura houve um aumento da absorção de flúor pelo esmalte dentário. Além disso, ainda é possível sugerir que em enxaguantes bucais com 225 ppm de fluoreto e uma redução do seu pH apresente uma maior biodisponibilidade do composto quando comparado com pH mais altos, pois favorece a ligação do íon flúor ao esmalte dentário, garantindo a estabilidade química para sua permanência na cavidade bucal (SWAAIJ et al., 2024).

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Brasil foi aprovada pelo Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006, para garantir à população o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, regulamentando 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, foi institucionalizada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC), englobando a Fitoterapia, Homeopatia, Medicina Tradicional Chinesa/Acupuntura, o Termalismo/Crenoterapia e a Medicina Antroposófica. Ambas, resultaram em respaldo para discussão sobre a importância da incorporação da fitoterapia no serviço do sistema único de saúde (SUS), assim como, todos os desafios para tal (FIGUEREDO, GURGEL, GURGEL JUNIOR, 2014).

Assim, em 2009 foi institucionalizado o programa de Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (ReniSUS) no qual foi possível identificar 71 espécies vegetais com o objetivo de conduzir estudos e pesquisas, sobretudo referente às espécies nativas, no que se refere a produção de medicamentos fitoterápicos por laboratórios públicos e/ou privados, contribuindo com a indústria farmacêutica, fornecendo segurança e eficiência de herbais usados na atenção básica de saúde, além, das desenvolvimento em pesquisa no país (BRASIL, 2009).

Neste contexto, a odontologia passou a reconhecer e regulamentar o uso da fitoterapia pelo cirurgião-dentista como prática integrativa e complementar a partir da Resolução nº 082/2008 do Conselho Federal de Odontologia (CFO, 2008), visto que, nos últimos anos tem sido crescente a buscas pelo uso de produtos herbais em tratamentos odontológicos, que apresentem atividades farmacológicas compatíveis com os convencionais, com menos toxicidade, maior biocompatibilidade, redução dos efeitos colaterais e amplo espectro de uso (FRANCISCO, 2010).

A associação de fluoreto de sódio com produtos naturais ricos em polifenóis são capazes de fornecer proteção no esmalte dentário diante do processo de desmineralização, uma vez que extratos polifenólicos são capazes de modular a película salivar protetora do esmalte dentário, proporcionando uma camada basal mais espessa e densa em elétrons que resiste melhor a ação de ácidos, onde a partir da combinação das propriedades modulares dos polifenóis com o efeito do flúor na superfície do dente e na película por meio da formação de partículas semelhantes a CaF_2 , pode portanto, aumentar o efeito protetor contra a erosão dentária (CARVALHO et al., 2022).

Dessa forma, o *Zingiber officinale* (gengibre) foi selecionado para este estudo por ser uma planta medicinal conhecida pela sua capacidade de reduzir a biossíntese de prostaglandinas e por apresentar efeitos inibitórios sobre o crescimento de bactérias do biofilme dentário e periodontais (MAHYARI et al.; 2016). Além disso, alguns de seus derivados possuem propriedades características que fazem do gengibre um importante aliado na promoção da saúde bucal (MOKHTARI et al.; 2023).

De acordo com o estudo de Elpo (2005), o gengibre não apresenta toxicidade significativa, especialmente para aqueles que o consomem como parte da dieta. No

entanto, o consumo em doses elevadas pode causar irritação na mucosa gástrica. Não há, entretanto, evidências de efeitos carcinogênicos ou mutagênicos associados ao gengibre.

Além disso, o uso de gengibre durante a gravidez para o alívio de náuseas, enjoos e vômitos ainda é controverso, devido ao seu potencial efeito anticoagulante. Nesse contexto, é importante avaliar a relação risco/benefício, embora ainda não existam evidências científicas conclusivas que comprovem efeitos tóxicos associados ao consumo de gengibre nessa fase (SHAWAHNA E TAHA, 2017).

A Água Rabelo® é um produto regional consolidado no mercado há mais de 135 anos, disponível em diversas formas, como enxaguante bucal, spray e solução líquida. Sua formulação é baseada em extratos naturais de ervas como aroeira, eucalipto, romã, gengibre e hortelã, o que confere ao produto uma ampla ação terapêutica. Devido às propriedades antimicrobianas dessas plantas, a Água Rabelo® tem sido amplamente utilizada por uma ampla faixa etária e em diversas situações cotidianas, mesmo as de conhecimento popular (LABORATÓRIO RABELO, 2024).

Sendo assim, a pesquisa objetivou elucidar os mecanismos de ação desses componentes naturais e suas interações com o fluoreto é fundamental para o desenvolvimento de formulações de enxaguantes bucais mais eficazes e seguras. Compreender esses aspectos permitirá a criação de produtos que potencializam a saúde bucal, ao mesmo tempo em que garantem a segurança dos usuários.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo desse estudo é avaliar *in vitro* a estabilidade físico-química do extrato de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e de produtos da linha Água Rabelo® em associação ao fluoreto de sódio (NaF), com potencial na prevenção/controle de lesões de manchas brancas de cárie dentária.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Desenvolver enxaguatórios experimentais de Água Rabelo® Tradicional e Água Rabelo® Gengibre contendo 225 mg/L (ppm F);
- b) Avaliar o potencial hidrogeniônico (pH) e a estabilidade de fluoreto de sódio em três grupos experimentais: G1 - ÁGUA RABELO® TRADICIONAL + 225 ppm F⁻ (0,05%), G2 - ÁGUA RABELO® GENGIBRE + 225 ppm F⁻ (0,05%), G3 - EXTRATO GENGIBRE (*Zingiber officinale*) + 225 ppm F⁻ (0,05%); e comparar com os grupos controle: CP1 (Controle Positivo 1) - Solução de fluoreto de sódio NaF comercial - Fluorplax day® (0,05%), CP2 (Controle Positivo 2) - Solução de NaF 225 ppm – solução “mãe” (laboratorial) e CN – Controle Negativo - Água deionizada;
- c) Avaliar o efeito do tempo (11 semanas) e temperatura [ambiente (25 C), em aquecimento moderado (37 C) e aquecimento elevado (45 C)] no potencial hidrogeniônico (pH) e a estabilidade de fluoreto de sódio nos grupos experimentais e controle;
- d) Avaliar se há associação do tempo e do armazenamento para possíveis alterações nos parâmetros de pH e concentração de NaF nos grupos experimentais e controles;
- e) Determinar a Concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) do extrato de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) com e sem adição de NaF.

4. ARTIGO 1

O manuscrito a seguir será submetido para publicação no periódico BCM Oral Health. (Qualis: A3).

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE ENXAGUATÓRIOS COM
ASSOCIAÇÃO DE EXTRATO DE GENGIBRE (*Zingiber officinale* Roscoe) E
FLUORETO DE SÓDIO: Estudos *in vitro***

Danielle da Silva Guimarães¹, Thays Matias Ribeiro¹, Nayara Kethelim do Nascimento², Elizabety do Nascimento Silva², Rafael Ferreira Norat², Alexandre Almeida Júnior³, Fábio Correia Sampaio¹

¹Programa de Pós Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil;

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

³Técnico do Laboratório de Biologia Bucal, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil;

* Autor correspondente

E-mail: 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 presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade físico-química do fluoreto de sódio (NaF) em enxaguatórios bucais com produtos naturais comercializados pela Empresa Água Rabelo®, para desenvolver uma formulação farmacêutica de colutório, visando a redução de biofilme e o controle de lesões de manchas brancas. Trata-se de estudo laboratorial experimental *in vitro*. Foram analisados os seguintes parâmetros: pH, concentração de fluoretos e turbidez/formação de fases alteração de cor. Dessa forma, foram preparadas soluções contendo Água Rabelo® tradicional, gengibre e extrato de *Zingiber officinale* (gengibre), ajustadas para conter 225 ppm de F⁻. O volume final de cada solução foi completado para 50 mL com água deionizada, garantindo a padronização e pureza do meio. As análises de pH (4,0 e 7,0) e concentração de fluoreto foram realizadas por meio de potenciometria. As amostras foram armazenadas por 11 semanas em temperaturas ambiente e de envelhecimento precoce, 37°C e 45°C. Como resultado foi observado que houve redução de fluoreto de sódio para todos os grupos, ao longo das semanas, sendo G2 o maior valor de média (168,44 ppm F⁻ e DP=76,02) há 37°C, estando dentro do intervalo de normalidade (175 ppm<[F⁻]<275 ppm) por 4 semanas e CP1 como o menor valor de média (123,58 ppm F⁻ e DP=45,85), não estando dentro do intervalo por nenhuma semana, há 25 e 37°C. O pH de todas as amostras variou nas diferentes temperaturas ao longo do tempo, com tendência ácida predominante para G3 (3,78) na temperatura de 37°C e 3,83 há 45°C. Assim, podemos concluir que independente da temperatura as substâncias perdem fluoreto de sódio ao longo do tempo, devido a presença de compostos que sofrem interação química com o F⁻, nos quais precisam ser identificados e eliminados para melhor estabilização dos compostos em associação ao fluoreto e que a acidez excessiva pode levar ao risco de erosão dentária.

Palavras-chave: Estabilidade. Fitoterapia. Fluoreto. Enxaguante bucal. Remineralização.

Introdução

A alta prevalência da cárie dentária e o seu impacto negativo significativo na saúde geral, bem-estar e qualidade de vida a tornam um grave problema global de saúde pública, configurando-se como um grave problema de saúde pública [1].

Nesse contexto, pacientes que fazem uso de aparelho ortodôntico fixo, hospitalares, que possuem algum comprometimento motor e escovação ineficaz, lesões bucais a partir de alguma comorbidade prévia com dificuldade de higienização, apresentam um risco elevado ao desenvolvimento de lesões cariosas, bem como de afecções bucais com comprometimento da saúde gengival e periodontal. Isso se deve à perda mineral do esmalte provocada pela retenção e acúmulo de biofilme [2].

Além disso, as lesões de manchas brancas são consideradas o primeiro estágio da cárie dentária e sua prevalência tem aumentado nos últimos anos, variando entre 10% e 49%, sendo mais presentes em pacientes com elevado índice de cárie, e clinicamente, apresentam-se como áreas de desmineralização com aspecto branco opaco, que podem ou não evoluir para cárie [4].

Diante disso, os fluoretos representam o composto mais usado como agente no mecanismo da remineralização, com a estimulação da adesão de íons de cálcio, presentes na saliva, à superfície dentária causando uma alteração na solubilidade do esmalte dentário e proporcionando dessa forma a sua proteção contra a cárie e redução de lesões de mancha branca [5].

Desse modo, os enxaguatórios bucais são amplamente utilizados com método químico auxiliar ao controle mecânico para redução do biofilme dentário, por serem considerados de fácil uso, amplo alcance de regiões bucais, baixo custo e facilidade de acesso [6]. O digluconato de clorexidina (0,12%) é o agente químico mais utilizado como colutório, devido ao seu amplo espectro antimicrobiano, podendo reduzir cerca de 90% dos microrganismos, porém o uso prolongado tem sido associado a efeitos colaterais, como reações de hipersensibilidade, sensação de queimação e alterações no paladar e na cor dos dentes, o que contraindica sua aplicação a longo prazo [7].

De acordo com o estudo realizado por Wongsariya et al., (2024) [6], tem sido crescente a busca por compostos bioativos e biocompatíveis como extratos de ervas ou substâncias naturais como alternativas seguras e eficazes em relação aos

métodos convencionais e agentes químicos devido ao seu menor efeito colateral, ausência de toxicidade e também por apresentarem atividade bactericidas e bacteriostáticas, podendo ser usados para o controle e prevenção de doenças bucais em uma ampla faixa etária.

Sendo assim, uma das plantas medicinais frequentemente utilizadas é o *Zingiber officinale*, conhecido como gengibre, amplamente reconhecido por suas diversas propriedades, incluindo atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória [8].

O extrato de *Zingiber officinale* (gengibre) foi selecionado para este estudo devido à presença de compostos bioativos, como moléculas fenólicas, terpenos e flavonoides, com propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas. Dentre os principais constituintes fenólicos do gengibre, destacam-se o zingibereno, a zingerona, os paradóis, os shogaóis e os gingeróis, responsáveis pela atividade antioxidante. Dessa forma, o gengibre tem sido utilizado em diversas áreas da saúde, com potencial para aplicações em produtos farmacêuticos e odontológicos, como pastas de dente, enxaguantes bucais e pomadas terapêuticas, o que abre possibilidades para seu uso futuro no cuidado bucal e em outras áreas da medicina [12].

O gengibre pode proteger a mucosa gástrica, melhorar a motilidade gastrointestinal e bloquear reações adversas nessa região, contribuindo para a redução de náuseas e vômitos, o que demonstrou equivalência a vitamina B6 e fármacos convencionais na melhoria desses sintomas [13].

Em relação ao potencial citotóxico dos constituintes químicos do gengibre, como os gingeróis, estudos in vitro já realizados revelam que para análise do potencial efeito tóxico do gengibre é necessário considerar toda a planta e seus metabólitos de absorção no organismo humano, para poder serem conclusivos. Diante disso, os efeitos adversos associados ao uso das raízes de gengibre, observados em estudos clínicos, são raros, de baixa intensidade e, em sua maioria, limitam-se a reações gastrointestinais [14].

Já o produto Água Rabelo é regional consolidado no mercado há mais de 135 anos anteriormente classificado como cosmético, passou por uma reclassificação e agora é reconhecido como um produto de cuidado oral, essa mudança reflete tanto as alterações nas regulamentações sanitárias quanto a evolução das práticas de consumo e as necessidades dos usuários [10].

Considerando a presença de extratos de ervas e óleos essenciais em sua composição, a escolha dos enxaguatórios da Água Rabelo® foi motivada pela necessidade de analisar seu potencial de associação com fluoretos em suas formulações.

Nesse contexto, os objetivos deste estudo são avaliar *in vitro* a estabilidade físico-química do extrato de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e de produtos da linha Água Rabelo® em associação ao fluoreto de sódio (NaF 225ppm F), com potencial na prevenção/controle de lesões de manchas brancas de cárie do esmalte dentário.

Materiais e métodos

Características do estudo

Trata-se de uma pesquisa laboratorial *in vitro*, do tipo exploratório [15] [16], 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 na redução e prevenção de lesões de mancha branca e do biofilme. Todas as etapas, físico-química foram realizadas no Laboratório de Biologia Bucal (Labial), localizado no campus do Centro de Ciências da Saúde da instituição (CCS), dentro da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Delineamento do estudo

As amostras de Água Rabelo® utilizadas no estudo foram adquiridas direto da fábrica, em parceria com o Laboratório Rabelo (Cabedelo, Paraíba, Brasil). Essa pesquisa incluiu um (1) tipo de extrato de óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe, (nº lote: 01177/24, data de fabricação: 04/03/2024, data de validade: 04/03/2025) e concentrações de fluoreto de sódio de 225 ppm de uso diário.

Produtos e substâncias testadas

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

Água Rabelo	Descrição
G1	ÁGUA RABELO® TRADICIONAL + 225 ppm F- (0,05%)
G2	ÁGUA RABELO® GENGIBRE + 225 ppm F- (0,05%)
G3	EXTRATO GENGIBRE (Zingiber officinale) + 225 ppm F- (0,05%) (disponibilizado pela própria indústria Água Rabelo®)
CP1 (CONTROLE POSITIVO 1)	Solução de fluoreto de sódio - Fluorplax day® (0,05%) Iodontosul (Porto Alegre, Brasil) Registro ANVISA: 80442020004
CP2 (CONTROLE POSITIVO 2)	Solução de fluoreto de sódio 225 ppm – solução “mãe”
CN (CONTROLE NEGATIVO)	Água deionizada

Para tanto, foram estabelecidos controles negativos, utilizando água deionizada e uma solução de diluentes (Tween 80 + DMSO + água deionizada), além de substâncias sem adição de fluoreto, como a Água Rabelo® Tradicional, Água Rabelo® Gengibre e o Extrato de Gengibre, conforme descrito no material de apoio.

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

Propriedades químicas dos fitoconstituintes
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>) • 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].

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 4500 ppm de fluoreto livre. Assim, foi preparada uma solução, intitulada “solução mãe de flúor” contendo 225ppm de flúor.

A partir dessa solução, foram preparadas as amostras, que consistiram em 47,5 mL de Água Rabelo® e 2,5 mL da solução mãe contendo flúor, resultando em uma concentração final de 225 ppm de flúor, que foram analisadas.

Para a incorporação do fluoreto aos extratos, foi inicialmente pipetado 1,5 mL do extrato, visando alcançar 3% v/v do mesmo na solução final de 50 mL. Dessa forma, em um tubo Falcon de 50 mL, foram adicionados 41 mL de água deionizada, 2,5 mL de Tween 80 (5% como diluente do extrato) e 2,5 mL de DMSO (5% como outro diluente). Por fim, adicionou-se 2,5 mL da solução mãe com 225 ppm de fluoreto, obtendo assim a concentração final de 225 ppm de fluoreto [17].

Análise de estabilidade

Para análise foi realizada a calibração do eletrodo, sendo as leituras de fluoreto 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).

As soluções padrões de 0,5, 1,0, 5,0 e 10 ppm F foram preparadas em água destilada e deionizada a partir de solução estoque-padrão por diluição seriada. Já as soluções padrões para análise dos extratos foram acrescidas dos diluentes tween 80 (5%) e DMSO (5%), seguindo as mesmas concentrações. As amostras sem flúor 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. 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 foram classificadas segundo sua concentração de fluoreto [18].

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada N°04 (2014) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [19], 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) [20], 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.

Sendo assim, 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 [16]. 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 3 meses, em temperaturas de 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.

Análise estatística

Os dados foram analisados por estatística descritiva (média, desvio-padrão, mediana) e de forma inferencial. Foram aplicados testes paramétricos após avaliação de normalidade dos dados e de acordo com seus pressupostos. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5% ($\alpha \leq 0,05$).

As concentrações de fluoretos e medidas de pH foram tabuladas em planilhas Excel e depois avaliados em pacote estatístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 17. Foi realizado um teste preliminar de esfericidade (teste de esfericidade de Mauchly ou W de Mauchly), confirmada, e seguida para ANOVA de medidas repetidas com post hoc de Bonferroni. Sendo possível analisar como as respostas das multianálises variam em diferentes momentos, possibilitando a avaliação das mudanças ao longo do tempo [21].

Resultados

Análise físico-química

A partir as análises dos grupos foi possível encontrar por meio de leituras de triplicatas os valores de média, desvio padrão e mediana, em que para a concentração de fluoreto de sódio do estudo, 225ppm F⁻, foi considerado um intervalo de normalidade de 175 ppm < [F⁻] < 275 ppm e dessa forma, foi possível identificar quais soluções e o quantitativo delas que permaneceram com fluoreto de sódio disponível, assim como, quais apresentaram perda significativa de fluoreto.

Tabela 2: Análise Estatística de Parâmetros Descritivos e Classificação de Faixas de Flúor em Relação à Normalidade (175 -275 ppm F⁻) – Temperatura Ambiente

PRODUTO	MÉDIA E DP	MEDIANA	ERRO PADRÃO	INTERVALO DE CONFIANÇA	[F ⁻] < 175 ppm	175 ppm < [F ⁻] < 275 ppm	[F ⁻] > 275 ppm
G1 (Água Rabelo Trad.) TEMP. AMB.	166,43 (74,64)	161,98	22,51	116,29 – 216,58	6	4	1
G2 (Água Rabelo Geng.) TEMP. AMB.	137,69 (58,53)	136,04	17,65	98,37 – 177,01	9	2	0
G3 (Extrat. Geng.) TEMP. AMB.	173,82 (61,60)	150	18,57	132,44 - 215,21	7	3	1
CP1 (Fluorplax) TEMP. AMB.	123,58 (45,85)	138,01	13,82	92,78 – 154,38	11	0	0
CP2 (Solução "mãe") TEMP. AMB.	143,87 (42,42)	129,47	12,79	115,37 – 172,37	8	3	0
CN (Água deionizada) TEMP. AMB.	0,01 (0,00)	0,01	0,00	0,01 -0,01	11	0	0

Na tabela 2 foi possível observar que na solução do G1, com média de 166,43 ppm F⁻ e desvio padrão de 74,64, durante 4 semanas as amostras do grupo

estiveram dentro do intervalo de normalidade proposto pelo estudo, assim como por 2 semanas o G2, 3 semanas o G3 e 3 semanas o CP2, no entanto, o menor valor obtido foi para CP1 (123,58 ppm F- e DP = 45,85) não ficando nenhuma das 11 semanas dentro da faixa de normalidade proposta pelo estudo. Quando comparado às demais semanas que estiveram fora do intervalo, é possível observar que em todas as amostras houve redução significativa de fluoreto de sódio disponível em todos os grupos.

Tabela 3: Análise Estatística de Parâmetros Descritivos e Classificação de Faixas de Flúor em Relação à Normalidade (175 -275 ppm F-) – 37°C

PRODUTO	MÉDIA E DP	MEDIANA	ERRO PADRÃO	INTERVALO DE CONFIANÇA	[F] < 175 ppm	175 ppm < [F] < 275 ppm	[F] > 275 ppm
G1 (Água Rabelo Trad.) 37°C	162,36 (81,66)	157,26	24,62	107,50 – 217,22	8	2	1
G2 (Água Rabelo Geng.) 37°C	148,58 (87,16)	125,17	26,28	90,03 – 207,14	9	1	1
G3 (Extrat. Geng.) 37°C	131,33 (46,09)	110,64	13,90	100,37 – 162,30	10	1	0
CP1 (Fluorplax) 37°C	101,67 (37,08)	104,79	11,18	76,75 – 126,58	11	0	0
CP2 (Solução "mãe") 37°C	131,63 (36,30)	117,63	10,95	107,24 – 156,02	9	2	0
CN (Água deionizada) 37°C	0,01 (0,00)	0,01	0,00	0,01 – 0,01	11	0	0

Na tabela 3 foi possível identificar que na solução do G1 (162,36 ppm F- e DP = 81,66), durante 2 semanas as amostras do grupo estiveram dentro do intervalo de normalidade proposto pelo estudo, assim como por 1 semana o G2, 1 semana o G3 e 2 semanas o CP2, sendo possível observar que com o aumento da

temperatura também há redução significativa de fluoreto de sódio disponível em todos os grupos, assim como visto na temperatura ambiente.

Tabela 4: Análise Estatística de Parâmetros Descritivos e Classificação de Faixas de Flúor em Relação à Normalidade (175 -275 ppm F⁻) – 45°C

PRODUTO	MÉDIA E DP	MEDIANA	ERRO PADRÃO	INTERVALO DE CONFIANÇA	[F ⁻] < 175 ppm	175 ppm < [F ⁻] < 275 ppm	[F ⁻] > 275 ppm
G1 (Água Rabelo Trad.) 45°C	156,01 (81,34)	131,36	24,52	101,36 – 210,65	8	1	2
G2 (Água Rabelo Geng.) 45°C	168,44 (76,02)	168,1	22,92	117,37 – 219,51	6	4	1
G3 (Extrat. Geng.) 45°C	144,87 (63,44)	112,01	19,13	102,25 – 187,48	9	1	1
CP1 (Fluorplax) 45°C	136,94 (48,63)	131,59	14,66	104,27 – 169,61	9	1	0
CP2 (Solução "mãe") 45°C	108,16 (32,33)	108,71	9,75	86,44 – 129,88	11	0	0
CN (Água deionizada) 45°C	0,01 (0,00)	0,01	0,00	0,01 – 0,01	11	0	0

Na tabela 4, observou-se que na solução do G1, durante 1 semana as amostras do grupo estiveram dentro do intervalo de normalidade proposto pelo estudo, assim como por 4 semanas o G2, 1 semana o G3 e 1 semanas o CP1, sendo possível concluir também há redução significativa de fluoreto de sódio disponível em todos os grupos, assim como observar nas demais temperaturas.

Além disso, foi possível também avaliar os valores de média, desvio padrão e mediana para o pH das soluções, das variações de pH sofridas pelas soluções nas respectivas temperaturas ao longo do estudo.

Tabela 5: Média, Desvio Padrão, Mediana e Intervalo de Confiança do pH dos grupos – Temperatura Ambiente.

PRODUTO	MÉDIA E DP	MEDIANA	ERRO PADRÃO	INTERVALO DE CONFIANÇA
G1 (Água Rabelo Trad.) TEMP. AMB.	4,80 (0,60)	4,66	0,18	4,39 – 5,20
G2 (Água Rabelo Geng.) TEMP. AMB.	4,80 (0,63)	4,87	0,19	4,38 – 5,23
G3 (Extrat. Geng.) TEMP. AMB.	4,20 (0,61)	4,24	0,18	3,80 – 4,61
CP1 (Fluorplax) TEMP. AMB.	4,14 (0,44)	4,02	0,13	3,85 – 4,44
CP2 (Solução "mãe") TEMP. AMB.	4,44 (0,71)	4,37	0,21	3,96 – 4,91
CN (Água deionizada) TEMP. AMB.	4,51 (0,49)	4,4	0,15	4,18 – 4,83

Na tabela 5 é possível identificar valores de pH mais altos, tendendo a valores mais básicos para a temperatura ambiente.

Tabela 6: Média, Desvio Padrão, Mediana e Intervalo de Confiança do pH dos grupos - 37°C.

PRODUTO	MÉDIA E DP	MEDIANA	ERRO PADRÃO	INTERVALO DE CONFIANÇA
G1 (Água Rabelo Trad.) 37°C	4,68 (0,71)	4,67	0,21	4,20 – 5,16
G2 (Água Rabelo Geng.) 37°C	4,56 (0,69)	4,39	0,21	4,10 – 5,03
G3 (Extrat. Geng.) 37°C	3,78 (0,76)	4,07	0,23	3,26 – 4,29
CP1 (Fluorplax) 37°C	3,78 (0,77)	3,76	0,23	3,27 – 4,30
CP2 (Solução "mãe") 37°C	4,39 (0,69)	4,66	0,21	3,93 – 4,86
CN (Água deionizada) 37°C	4,05 (0,45)	4,11	0,14	3,75 – 4,36

Na tabela 6, os valores de pH tendem a reduzir e apresentar maior acidez com o aumento da temperatura ao longo do tempo, quando comparado à temperatura ambiente, sobretudo no G3, grupo composto pelo Extrato de Gengibre (*Z. officinale*), visto que, acidez excessiva pode causar erosão dentária.

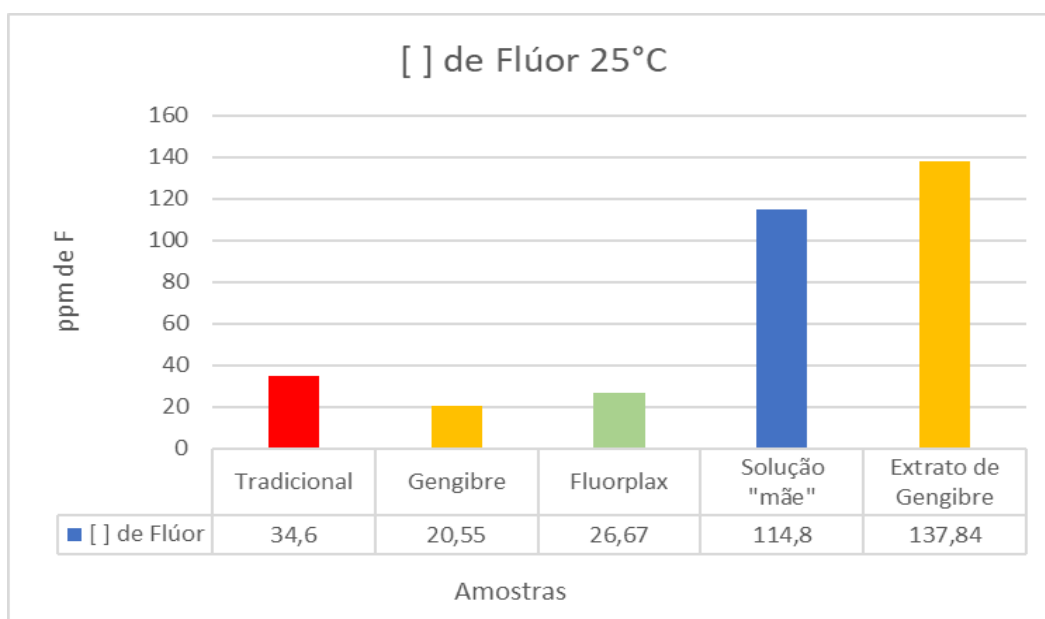
Tabela 7: Média, Desvio Padrão, Mediana e Intervalo de Confiança do pH dos grupos - 45°C.

PRODUTO	MÉDIA E DP	MEDIANA	ERRO PADRÃO	INTERVALO DE CONFIANÇA
G1 (Água Rabelo Trad.) 45°C	4,64 (1,01)	4,58	0,30	3,96 – 5,32
G2 (Água Rabelo Geng.) 45°C	4,38 (0,55)	4,46	0,16	4,01 – 4,74
G3 (Extrat. Geng.) 45°C	3,83 (0,82)	4,22	0,25	3,29 – 4,39
CP1 (Fluorplax) 45°C	3,84 (0,57)	3,78	0,17	3,46 – 4,22
CP2 (Solução "mãe") 45°C	4,12 (0,86)	4,17	0,26	3,55 – 4,70
CN (Água deionizada) 45°C	4,20 (0,55)	4,18	0,17	3,83 – 4,57

Na tabela 7, os valores de pH também tendem a reduzir e apresentar maior acidez com o aumento da temperatura ao longo do tempo, identificado mais uma vez no G3 (pH = 3,83 e DP = 0,82), grupo composto pelo Extrato de Gengibre (*Z. officinale*), repetindo o mesmo comportamento para temperaturas de envelhecimento precoce.

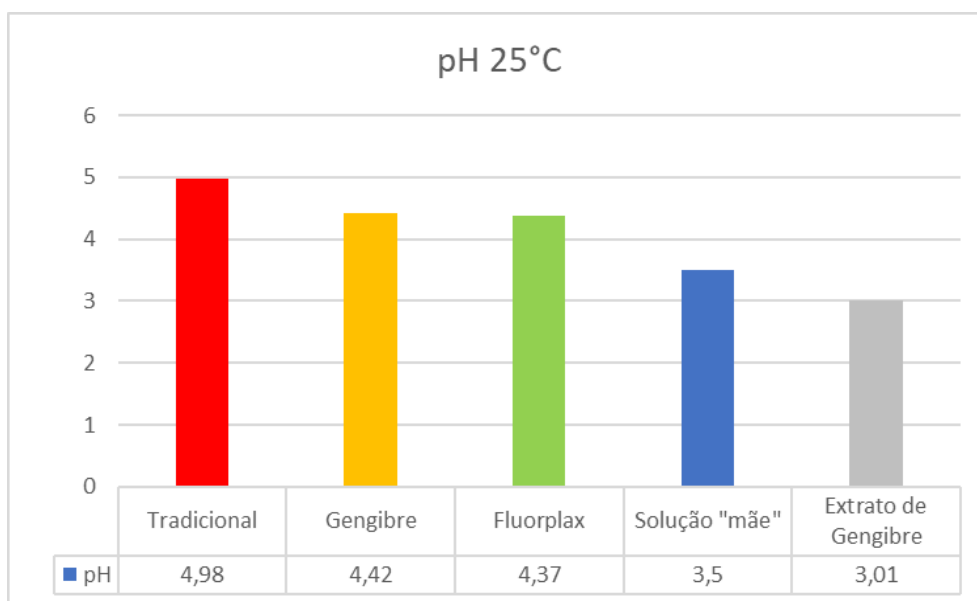
Além disso, o primeiro dia das análises foi considerado como dia zero, já que foi o dia de preparo das soluções. Nesse mesmo dia, foi realizada a leitura das amostras em temperatura ambiente. Nessas condições, verificou-se que a solução do grupo de extrato comercial de *Z. officinale* apresentou a maior concentração, de 137,84 ppm F (Fig. 1).

Figura 1: Concentração de fluoreto das amostras a 25°C (temperatura ambiente) – primeira análise, dia zero.



Já no que diz respeito ao pH (Fig.2), o mesmo variou entre 4,98 (G1 - Água Rabelo® - Tradicional), e 4,42 (G2 - Água Rabelo® - Gengibre), mantendo-se equilibrado. Para o G3 (extrato de *Z. officinale*), este foi de 3,01, todos tendendo a acidez.

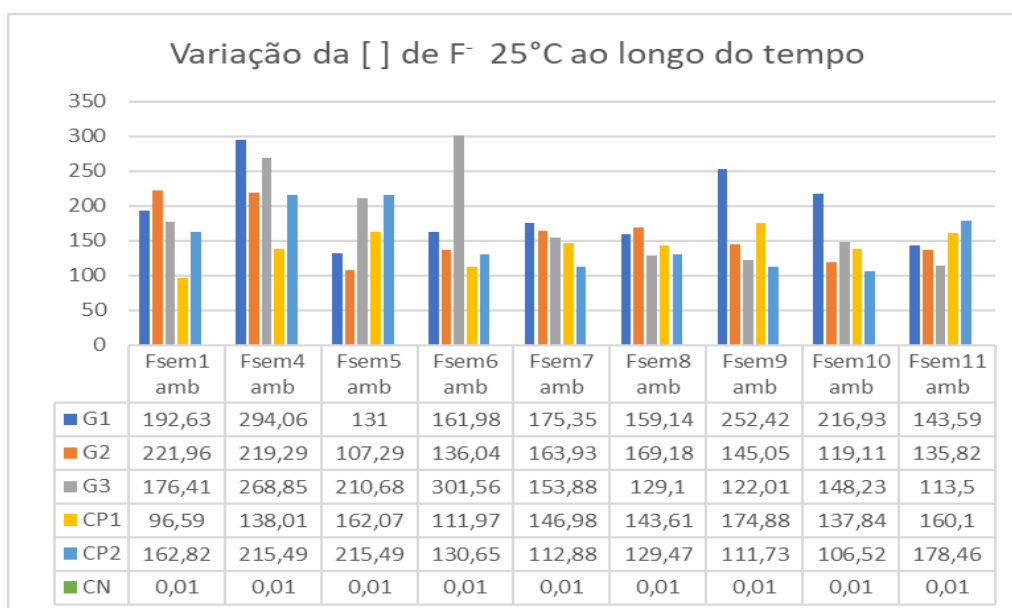
Figura 2: pH das amostras testadas em temperatura ambiente - primeira análise, dia zero.



A partir da primeira semana as amostras 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 [16].

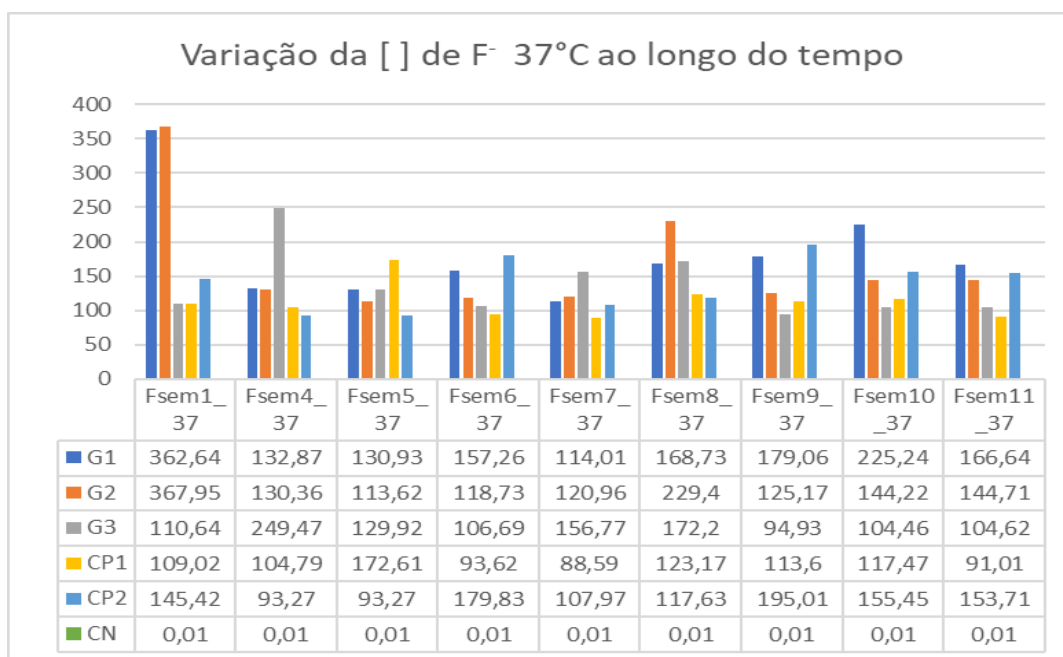
Durante as semanas houve instabilidade no valor de concentração do fluoreto nas amostras em temperatura ambiente. Todos os grupos sofreram perda de fluoreto de sódio ao longo das semanas que foram analisados, sendo o G3 a amostra com maior quantidade de fluoreto disponível ao final da 12 semana.

Figura 3: Variação da concentração de fluoreto das amostras armazenadas a 25°C.



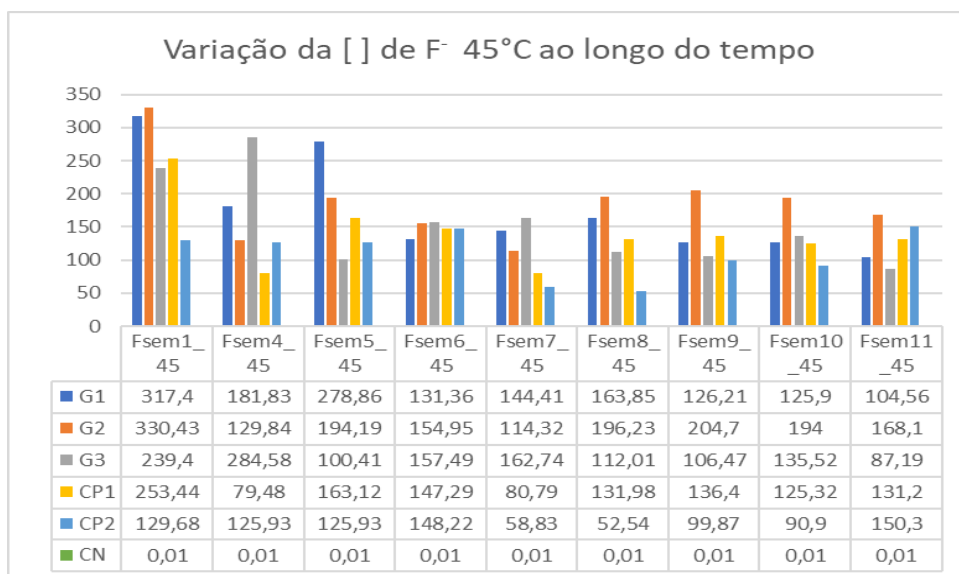
Para as amostras que foram armazenadas na temperatura de 25°C foi observado a mesma perda de fluoreto de sódio disponível ao longo das semanas em todos os grupos, identificando a presença de interação química com compostos que retém flúor e que precisam ser identificados em estudos posteriores. Essas variações foram maiores para o G2 (221,96 ppm F- semana 1 e 135,82 semana 11).

Figura 4: Variação da concentração de fluoreto das amostras armazenadas a 37°C



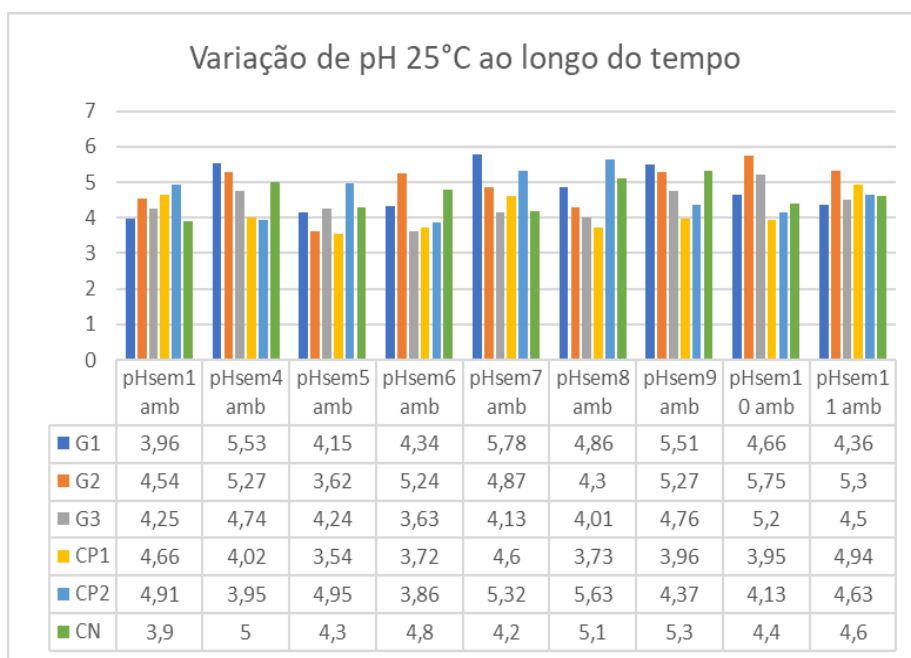
Para os grupos armazenados há 37°C, verificou-se, ao longo de 11 semanas, a mesma redução de fluoreto de sódio disponível, quando comparado à temperatura ambiente, sobretudo para o G1 (362,64 ppm F- na semana 1 e 166,64 ppm F- na semana 11) e G2 (367,95 ppm F- semana 1 e 144,71 ppm F- semana 11), com maiores perdas de fluoreto disponível.

Figura 5: Variação da concentração das amostras armazenadas a 45°C.



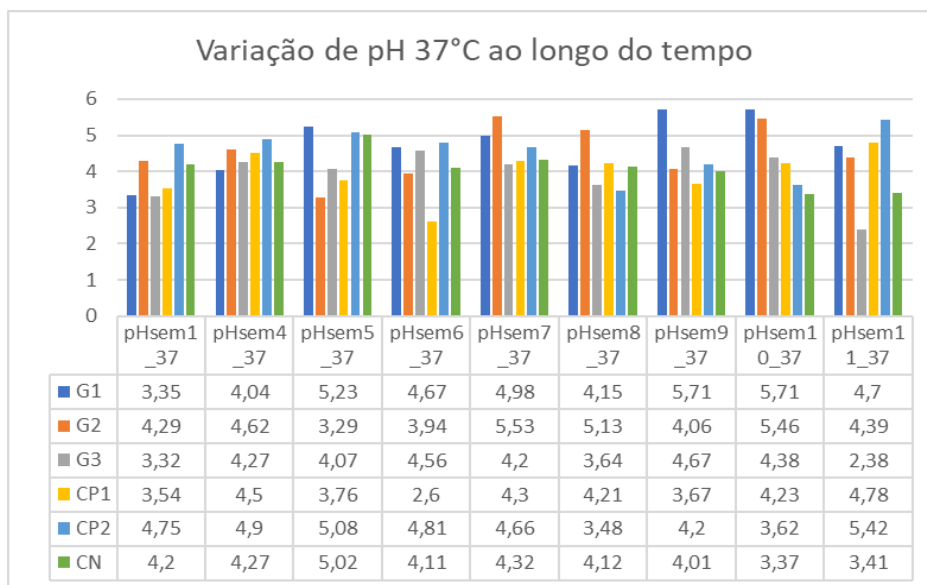
Para os grupos armazenados há 45°C, observou-se , ao longo de 11 semanas, a mesma redução de fluoreto de sódio disponível, quando comparado às temperaturas ambientes e 37°C, respectivamente, mais evidente para o G3 (239,4 ppm F⁻ na semana 1 e 87,19 ppm F⁻ na semana 11), no entanto, de modo geral, todas as amostras tiveram redução de fluoreto de sódio independente da temperatura.

Figura 6: Variação de pH das amostras armazenadas a 25°C.



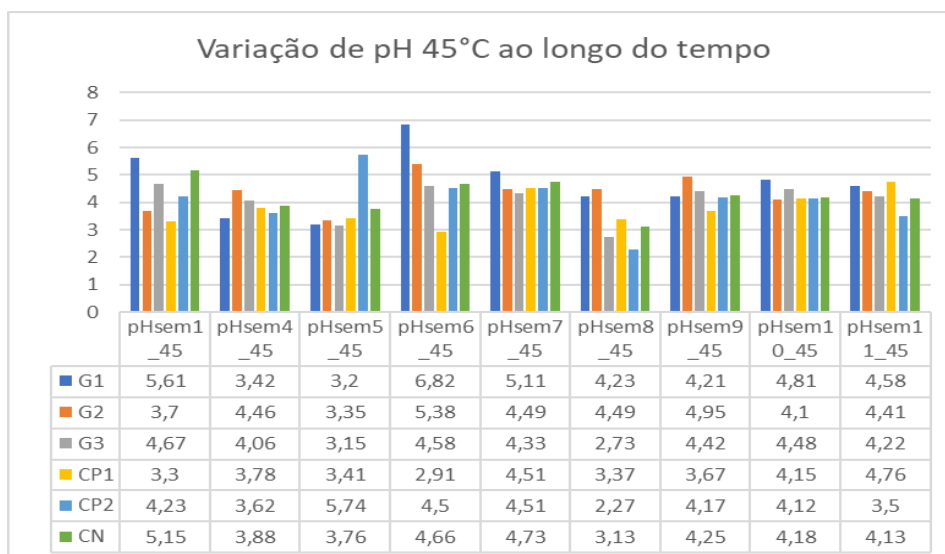
Para variação de pH em temperatura ambiente temos que todas as amostras apresentam valores mais altos ao longo das 11 semanas analisadas, caracterizando os grupos com basicidade, a exceção do CP1 com valores tendendo a acidez excessiva a partir da semana 5, sendo o menor valor de 3,54.

Figura 7: Variação de pH das amostras armazenadas a 37°C.



No entanto, para a temperatura de 37°C as amostras apresentam um comportamento de redução dos valores de pH, com uma acidez significativa, visualizado nos grupos G3 (*Z. officinale*) e CP1 (Fluorplax), com valores entre 2,38 e 2,60, respectivamente.

Figura 8: Variação de pH das amostras armazenadas a 45°C.



Em relação ao pH as amostras armazenadas há 45°C, apresenta o mesmo comportamento de acidez observado para a temperatura de 37°C, para os mesmos grupo, G3 (2,73) e CP1 (2,91), o que podemos identificar que com o aumento da temperatura o pH das amostras tendem a reduzir, causando uma acidez excessiva.

Esses dados ressaltam a importância de levar em conta tanto a concentração de fluoreto quanto o pH na formulação e o armazenamento de produtos de higiene bucal. Essa consideração é fundamental para garantir a eficácia e a estabilidade dos produtos ao longo do tempo.

Análise estatística

De acordo com o teste de esfericidade confirmado, sendo o mais comum para verificar a esfericidade é o teste de Mauchly. Portanto, para a interação de tempo e de temperatura o valor de $p \geq 0,05$, mostrando que existe esfericidade, seguido de ANOVA de medidas repetidas, sendo o post hoc o teste de Bonferroni, comparando as amostras uma a uma. Os resultados indicam que não houve associação entre tempo e temperatura influenciando todos os grupos. A análise revelou ainda que houve uma redução da quantidade de fluoreto de sódio disponível ao longo do tempo para todas as temperaturas investigadas.

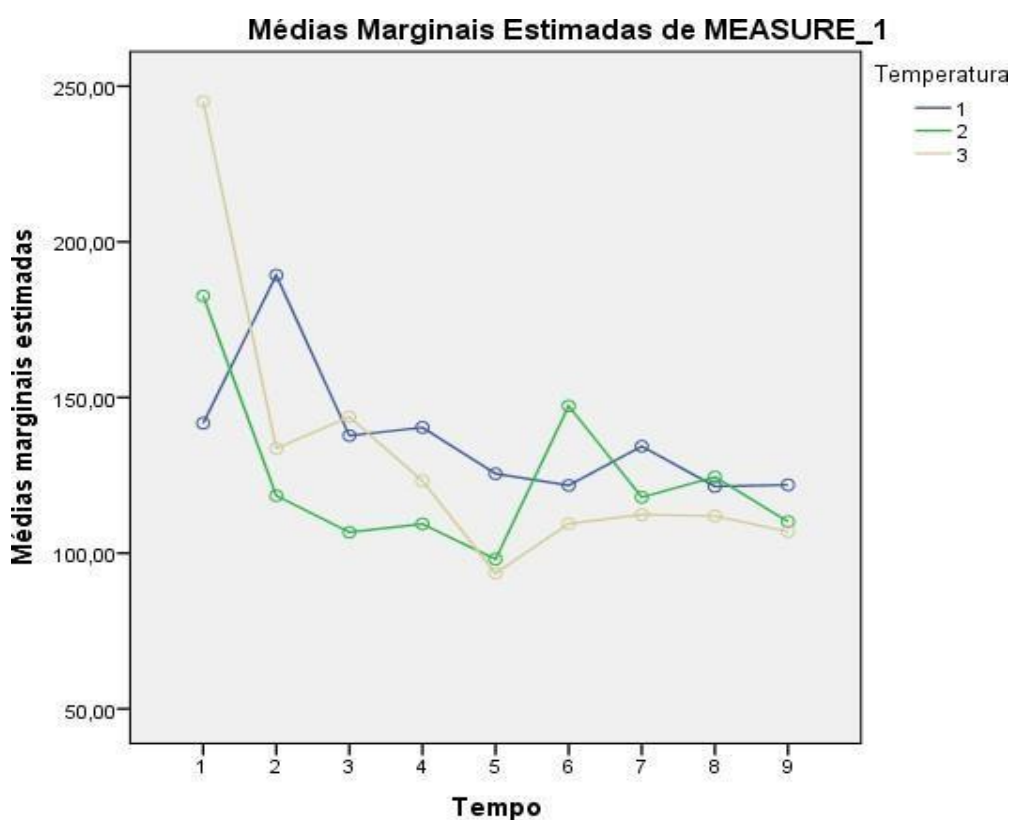
Tabela 9: Valor de $p \geq 0,05$ para esfericidade da [] de fluoreto de sódio com 225ppm F⁻ e relação tempo e temperatura.

Teste de esfericidade de Mauchly ^a							
Medir: MEASURE_1							
Efeito entre assuntos	W de Mauchly	Aprox. Qui-quadrado	Df	Sig.	Epsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Limit inferior
Tempo	,000	.	35	.	,304	,613	,125
Temperatura	,852	,642	2	,725	,871	1,000	,500
Tempo * Temperatura	,000	.	135	.	,199	,586	,063

Testes de efeitos entre tempo e temperatura						
Medir: MEASURE_1						
Origem		Tipo III Soma dos Quadrados	Df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Tempo	Esfericidade considerada	89626,390	8	11203,299	2,416	,031
Temperatura	Esfericidade considerada	4738,652	2	2369,326	1,075	,378
Tempo * Temperatura	Esfericidade considerada	62969,068	16	3935,567	2,051	,019

As tabelas demonstram que foi confirmada que houve esfericidade nas amostras para concentração de fluoreto de sódio com o valor de $p = 0,725$, sendo menor que 0,05 e que o tempo influencia nas concentrações de F^- nas amostras, apresentando um valor de $p = 0,03$. No entanto, o mesmo não acontece com a temperatura, com $p = 0,37$, as temperaturas analisadas não exercem interferência sobre a concentração de NaF nos grupos analisados. Por fim, a associação do tempo e temperatura também apresenta certa influência, devido o valor de $p = 0,019$.

Gráfico 1: Resultados de medidas repetidas para valores de flúor



A análise estatística identificou que o comportamento do pH tende a valores de basicidade em temperatura ambiente, na maioria dos tempos observados, quando comparado a demais temperatura de envelhecimento precoce, 37°C e 45°C, com pH tendendo a acidez maior e mais considerável para a temperatura de 45°C (semana 6). Acidificando as amostras, temos o risco de ter efeito erosivo.

Tabela 10: Valor de $p \geq 0,05$ para esfericidade do potencial Hidrogeniônico (pH) das amostras e relação tempo e temperatura.

Teste de esfericidade de Mauchly^a

Medir: MEASURE_1

Efeito entre assuntos	W de Mauchly	Aprox. Qui-quadrado	Df	Sig.	Epsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Limit inferior
Tempo	,000	.	35	.	,324	,705	,125
Temperatura	,565	2,286	2	,319	,697	,882	,500
Tempo * Temperatura	,000	.	135	.	,240	1,000	,063

Medir: MEASURE_1

Origem		Tipo III Soma dos Quadrados	Df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Tempo	Esfericidade considerada	5,720	8	,715	1,318	,263
Temperatura	Esfericidade considerada	3,888	2	1,944	7,062	,012
Tempo * Temperatura	Esfericidade considerada	5,715	16	,357	,867	,608

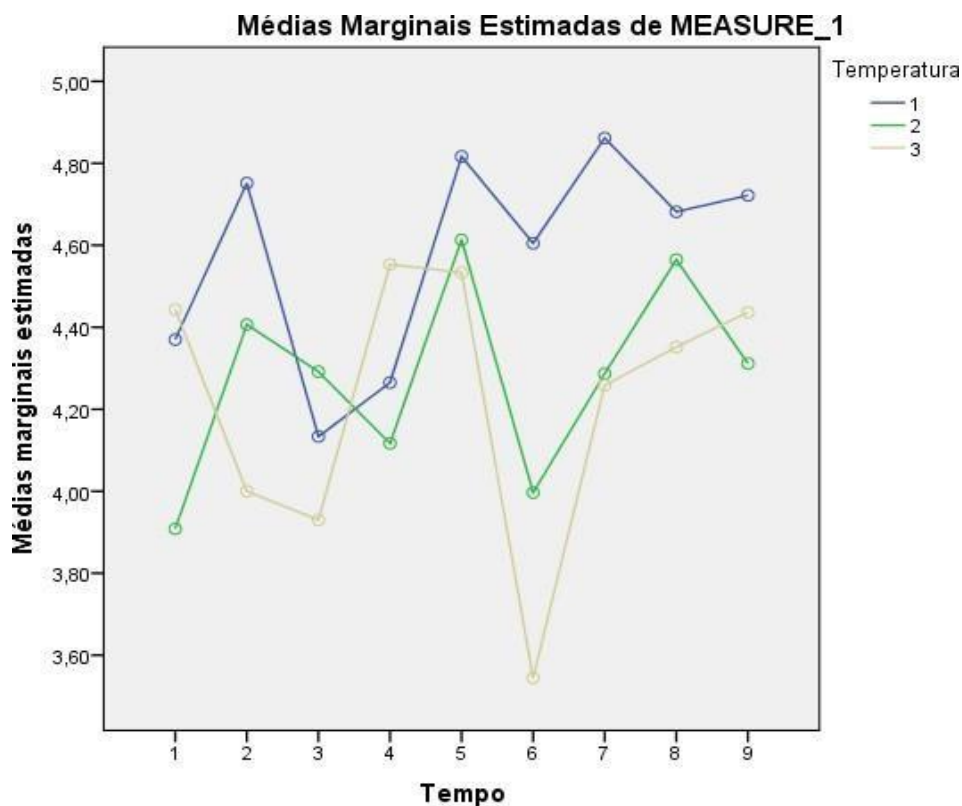
Já para o potencial hidrogeniônico (pH), foi possível observar que foi confirmada que houve esfericidade nas amostras com o valor de $p = 0,319$, sendo menor que 0,05 e que o tempo não tem qualquer influência sobre os valores obtidos para as amostras ao longo das semanas ($p = 0,263$), porém, a temperatura interfere

nos valores de pH ($p = 0,12$). A relação tempo e temperatura não tem qualquer efeito.

Além disso, foi possível observar que com o aumento da temperatura de armazenamento, de envelhecimento precoce, o pH tende a reduzir seus valores, revelando uma acidez significativa nos grupos analisados.

Estimativas				
Medir: MEASURE_1				
Temperatura	Média	Erro Padrão	Intervalo de Confiança 95%	
			Limite inferior	Limite superior
1) ambiente	4,57 (a)	,116	4,280	4,877
2) 37 C	4,277(a,b)	,147	3,900	4,654
3) 45C	4,228(b,c)	,131	3,891	4,565

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



Discussão

O estudo avaliou a estabilidade físico-química dos enxaguatórios Água Rabelo® e do Extrato de *Z. officinale* disponibilizado pela própria empresa com a adição de 225 ppm de fluoreto de sódio (NaF). 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 podem possuir constituintes que retêm o flúor, o que reduz a eficácia do potencial como agente remineralizador [22]. 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 menos biodisponíveis [23].

O extrato de gengibre fornecido pela própria empresa da Água Rabelo® demonstrou uma retenção de fluoreto de sódio superior às amostras de Água Rabelo® em todas as faixas de temperatura, especialmente nas mais elevadas. Isso foi evidenciado pela redução da concentração de fluoreto ao longo do tempo, sugerindo que o extrato de gengibre pode apresentar uma instabilidade significativa. Contudo, a tendência ácida do pH do extrato pode representar um fator limitante para a utilização segura desses produtos a longo prazo, uma vez que a acidez excessiva pode favorecer a desmineralização do esmalte dental. Esse efeito seria contrário ao objetivo de remineralização proposto pelo estudo, sendo necessários ajustes no pH para garantir a segurança e a eficácia dos produtos [24].

Um estudo realizado por Kohli e colaboradores (2024) [9] investigou o uso do extrato de *Zingiber officinale* (gengibre) em associação a um gel de fluoreto, com o objetivo de avaliar sua eficácia antibacteriana e seu potencial remineralizador no esmalte dentário. Os resultados indicaram uma redução significativa na desmineralização do esmalte, sugerindo que o extrato de gengibre não apenas apresentou um efeito antimicrobiano, mas também contribuiu para a remineralização do esmalte de maneira anticariogênica. Este estudo destaca a relevância de compostos naturais, como o *Zingiber officinale*, em potencializar os efeitos dos agentes fluoretados convencionais, oferecendo uma alternativa segura, eficaz e não tóxica.

Sobre a estabilidade do fluoreto nos enxaguatórios bucais da Água Rabelo® e solução do extrato natural de *Z. officinale*, os resultados desta pesquisa

indicam uma variação significativa em diferentes formulações, tempo e temperatura as quais foram submetidos. A estabilidade do fluoreto é um fator determinante para garantir a eficácia desses produtos na prevenção da cárie dentária, no potencial de remineralização e de redução do biofilme dentário. Este estudo observou que apesar de todas as variações sofridas, os enxaguatórios da marca Água Rabelo®, assim como o extrato de gengibre utilizado pela empresa demonstraram uma tendência de redução na concentração de fluoreto e de pH ao longo do tempo, mas com discreta tendência de elevação na concentração de fluoreto em temperaturas mais elevadas [25].

O estudo desenvolvido por Carvalho e colaboradores (2022) [17], corrobora com a presente pesquisa, visto que, investigaram efeito entre extratos de plantas e flúor na proteção do esmalte dental. 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.

Kade e colaboradores (2022) [26] observaram o impacto de cremes dentais contendo gengibre e mel e ozônio na prevenção da desmineralização do esmalte dentário, utilizando dentes pré-molares em seu estudo. Os resultados mostraram que compostos herbais podem reduzir significativamente a desmineralização do esmalte, indicando seu potencial como agentes protetores. Este estudo reforça a viabilidade do uso de produtos herbais na prática odontológica, sugerindo-os como uma alternativa ou complemento eficaz aos tratamentos tradicionais à base de fluoreto.

O tempo exerce um impacto significativo na estabilidade da concentração de fluoreto e do pH em enxaguatórios bucais e extratos vegetais, o que pode comprometer sua eficácia e segurança. No estudo, todos os grupos enfrentaram desafios relacionados à sua estabilidade devido a redução significativa da quantidade de fluoreto de sódio disponível [27].

Em temperatura ambiente G1 apresenta o maior valor de média (166, 43 ppm F⁻ e DP=74,64), estando dentro do intervalo de normalidade (175 ppm<[F⁻]<275 ppm) por 4 semanas e CP1 como o menor valor de média (123,58 ppm F⁻ e DP=45,85), não estando dentro do intervalo por nenhuma semana, há 25°C. O pH

de todas as amostras variou nas diferentes temperaturas ao longo do tempo, com tendência ácida predominante para G3 (3,78) NA TEMPERATURA DE 37°C e 3,83 há 45°C [28].

O pH das soluções foi monitorado ao longo do estudo, pois é um parâmetro crucial que pode afetar a solubilidade e a dissociação do flúor. Embora tenha sido observada uma variação no pH das amostras, a maioria das soluções permaneceu dentro de uma faixa ácida. As amostras de Água Rabelo® apresentaram 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 favorecer a solubilidade de compostos sequestradores de flúor, diminuindo sua disponibilidade para ação remineralizadora [22].

Os resultados deste estudo corroboram a literatura existente, que enfatiza a importância da matriz de incorporação para a estabilidade do fluoreto [27] [28]. Pesquisas anteriores indicam que a estabilidade do fluoreto pode ser afetada por diversos fatores, como a presença de agentes sequestradores (ainda desconhecidos), o pH da solução e a temperatura de armazenamento, todos os quais podem influenciar a disponibilidade do fluoreto para suas funções terapêuticas, como a remineralização dentária [29] [30]. A presença de compostos retentores de fluoreto em produtos comerciais é uma preocupação importante, pois pode comprometer a eficácia do fluoreto quando incorporado às substâncias. Assim, a identificação e a eliminação desses compostos são essenciais para o desenvolvimento de produtos mais eficazes, garantindo que o fluoreto permaneça disponível para exercer sua função remineralizadora e anticariogênica.

Os dados desta pesquisa têm importantes implicações para a prática clínica e o desenvolvimento de produtos odontológicos. Para enxaguatórios comerciais como os da Água Rabelo®, é fundamental revisar e, se necessário, reformular suas composições para identificar e minimizar ou eliminar os compostos sequestradores de fluoreto, garantindo assim a eficácia do produto. Além disso, os achados sugerem que produtos à base de extratos naturais podem ser uma alternativa viável aos enxaguatórios convencionais, desde que formulados de maneira a preservar a estabilidade do fluoreto. Essa abordagem pode abrir caminho para o desenvolvimento de novos produtos com menor incidência de efeitos colaterais, atendendo à crescente demanda por soluções mais seguras e eficazes no mercado odontológico [25] [28] [31] [32].

Um estudo realizado por Rajendiran e colaboradores (2021) [33] analisaram o uso de cremes dentais e enxaguantes bucais à base de ervas, como a cúrcuma, associada ao fluoreto de sódio, para o controle de biofilme e doenças periodontais. Os resultados mostraram que os enxaguantes bucais com cúrcuma apresentam efeito antiplaca e antigengivite comparável ao dos enxaguatórios com clorexidina, sem causar toxicidade e sem efeitos colaterais. Esses produtos foram considerados seguros e eficazes para uso, além de poderem ser formulados em diversas outras apresentações, como geis, nanopartículas, cápsulas, pó, comprimidos, cremes dentais, entre outras, ampliando suas possibilidades terapêuticas.

O presente estudo apresenta algumas limitações, como a realização de testes restritos ao ambiente *in vitro*, o que demanda a validação dos resultados por meio de estudos clínicos. Futuros estudos devem incluir a avaliação da eficácia clínica de enxaguatórios e soluções contendo extratos naturais associados ao fluoreto, particularmente na remineralização dentária e na prevenção de cárie. Além disso, investigações mais aprofundadas sobre os mecanismos exatos pelos quais certos componentes sequestram o fluoreto podem contribuir para o desenvolvimento de formulações mais estáveis e eficazes.

No que diz respeito a Água Rabelo® gengibre e tradicional com flúor mostrou-se promissora para desenvolver um comescêutico capaz de contribuir com a saúde bucal. No entanto, a clorexidina continua sendo o controle mais eficaz, destacando-se como o padrão-ouro na eficácia antimicrobiana e validando amplamente sua utilização na odontologia [34].

Conclusão

Este estudo fornece evidências importantes sobre a estabilidade do fluoreto em enxaguatórios herbais e soluções de extrato de *Z. officinale*, destacando a necessidade de otimização de novas formulações com eficácia e segurança de uso. A identificação e eliminação dos constituintes que interagem quimicamente e retém o fluoreto de sódio (NaF) nos enxaguatórios da marca Água Rabelo® são essenciais, assim como a incorporação planejada de fluoreto para alcançar concentrações ideais para a remineralização dental e controle de biofilme dentário.

Nesse contexto, os resultados indicaram que tanto os enxaguatórios fitoterápicos quanto às soluções com extratos naturais apresentaram instabilidade físico-química ao longo do período de análise. Além disso, observou-se o sequestro de fluoreto nas soluções testadas, o que sugere que parte do fluoreto adicionado permaneceu disponível na forma ativa, enquanto outra parte se tornou indisponível. Esse fenômeno é de extrema importância para assegurar a eficácia dos produtos contra a cárie dentária, uma vez que a disponibilidade do fluoreto em sua forma ativa é fundamental para a atividade terapêutica.

Por fim, 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, assim como na identificação desses compostos que interagem e retém o flúor.

Referências

1. Veneri F, Vinceti SR, Filippini T. Fluoride and caries prevention: A scoping review of public health policies. *Ann Ig.* 2024 May-Jun;36(3):270-280.
2. Leite KLF, Martins ML, Monteiro ASN, Vieira TI, Alexandria AK, Rocha GM, Fonseca-Gonçalves A, Pithon MM, Cavalcanti YW, Maia LC. In-vitro effect of a single application of CPP-ACP pastes and different fluoridated solutions on the prevention of dental caries around orthodontic brackets. *Dental Press J Orthod.* 2024 Jan 8;28(6).
3. Paula VA, Modesto A, Santos KR, Gleiser R. Antimicrobial effects of the combination of chlorhexidine and xylitol. *Br Dent J.* 2010;209.
4. Lopes PC, Carvalho T, Gomes ATPC, Veiga N, Blanco L, Correia MJ, Mello-Moura ACV. White spot lesions: diagnosis and treatment – a systematic review. *BMC Oral Health.* 2024.
5. Xu J, Shi H, Luo J, Yao H, Wang P, Li Z, Wei J. Advanced materials for enamel remineralization. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022.
6. Wongsariya K, Lapidrattanakul KJ, Chewchinda S, Kanchanadumkerng P. Anti-oral streptococci and anti-biofilm properties of *Etlingera pavieana* essential oil and its bioactive compounds proposed for an alternative herbal mouthwash. *Heliyon.* 2024 May 11;10(10):e31136.
7. Panagiotou A, Rossouw E, Michelogiannakis D, Javed F. Role of essential oil-based mouthwashes in controlling gingivitis in patients undergoing fixed orthodontic treatment: A review of clinical trials. *Int J Environ Res Public Health.* 2021.
8. Mokhtari H, Eskandarinezhad M, Barhaghi MH, Asnaashari S, Sefidan FY, Abedi A, Alizadeh S. Comparative antibacterial effects of ginger and marjoram extract versus conventional irrigants on mature *Enterococcus faecalis* biofilms: An in vitro study. *J Clin Exp Dent.* 2023 Apr 1;15(4):304-e310.
9. Kohli N, Hugar SM, Hallikerimath S, Gokhale N, Kadam K, Soneta SP. Comparative evaluation of antibacterial efficacy and remineralization potential of acidulated phosphate fluoride gel with herbal formulations. *J Contemp Dent Pract.* 2022;23(5):504-510.

10. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. IN nº 4, 13 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. Brasília, DF; 2014.
11. 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.
12. Ahmed N, Karobari MI, Yousaf A, Mohamed RN, Arshad S, Basheer SN, Peeran SW, Noorani TY, Assiry AA, Alharbi AS, Yean YC. The antimicrobial efficacy against selective oral microbes, antioxidant activity and preliminary phytochemical screening of *Zingiber officinale*. *Infect Drug Resist.* 2022 May 31;15:2773-2785.
13. Tan MY, Shu SH, Liu RL, Zhao Q. The efficacy and safety of complementary and alternative medicine in the treatment of nausea and vomiting during pregnancy: A systematic review and meta-analysis. *Front Public Health.* 2023.
14. Stanisiere J, Mousset PY, Lafay S. How safe is ginger rhizome for decreasing nausea and vomiting in women during early pregnancy? *Foods.* 2018;7(4):209.
15. Marconi MA, Lakatos EM. Técnicas de pesquisa. 5th ed. São Paulo: Atlas; 2002
16. Freitas JF. Fluoride stability in toothpastes. *Aust Dent J.* 1984 Feb;29(1):30-35. doi:10.1111/j.1834-7819.1984.tb04540.x. PMID: 6588940.
17. Carvalho TS, Pham K, Rios D, Niemeyer S, Baumann T. Synergistic effect between plant extracts and fluoride to protect against enamel erosion: An in vitro study. *PLoS One.* 2022 Nov 16;17(11).
18. 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.
19. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 4, de 30 de janeiro de 2014.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 530, de 4 de agosto de 2021.

21. Conover, W.J. (2018). Practical Nonparametric Statistics (4th ed.). Wiley. ISBN 9781119364965.
22. 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.
23. 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>.
24. 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>
25. 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.
26. Kade KK, Chaudhary S, Shah R, Patil S, Patel A, Kamble A. Comparative evaluation of the remineralization potential of fluoride-containing toothpaste, honey ginger paste, and ozone: An in vitro study. Int J Clin Pediatr Dent. 2022 Sep-Oct;15(5):541-548.
27. Silva J. Estabilidade de produtos farmacêuticos. Editora de Saúde; 2024.
28. 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.
29. Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Syst Rev. 2003;(4).
30. Mathur S, Tanu M, Rahul S. Chlorhexidine: The gold standard in Chemical Plaque Control. Natl J Physiol Pharm Pharmacol. 2011;1(2):45-50.
31. 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.

32. 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
33. Rajendiran M, Trivedi HM, Chen D, Gajendrareddy P, Chen L. Recent development of active ingredients in mouthwashes and toothpastes for periodontal diseases. *Molecules.* 2021 Apr 1;26(7):2001.
34. 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.

5. Artigo 2

O manuscrito a seguir será submetido para publicação no periódico BCM Oral Health. (Qualis: A3).

**SHORT COMUNICATION: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE
GENGIBRE E PRODUTOS NATURAIS.**

Danielle da Silva Guimarães¹, Thays Matias Ribeiro¹, Nayara Kethelim do Nascimento², Elizabety do Nascimento Silva², Rafael Ferreira Norat², Alexandre Almeida Júnior³, Fábio Correia Sampaio¹

¹Programa de Pós Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde,
Universidade federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil;

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

³Técnico do Laboratório de Biologia Bucal, Centro de Ciências da Saúde,
Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil;

* Autor correspondente

E-mail: 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 biofilme dental é o principal agente etiológico das condições patológicas bucais. Estes estão organizados em colônias bacterianas complexas, formada por microrganismos mais resistentes, o que favorece a adesão das bactérias às superfícies dentais. O objetivo foi investigar a propriedade antimicrobiana da planta utilizada, além de explorar a viabilidade da associação com fluoreto para fins odontológicos. Essa pesquisa incluiu um (1) tipo de extrato de óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe e de dois (2) óleos essenciais comerciais de *Zingiber officinale*: Gengibre CO₂ supercrítico e óleo essencial de Gengibre, como principais compostos. Além da solução salina 0,9% e Clorexidina 0,12% (Sigma), como controles negativos e positivos, respectivamente. Foi feita adição de fluoreto de sódio nas concentrações

225 ppm F⁻, 900 ppm F⁻ e 1450 ppm F⁻ e testados em três (3) cepas de microrganismos: *S. mutans*, *S. aureus*, *E. coli*. Como resultado não obtivemos atividade antimicrobiana em nenhuma das amostras e assim não foi possível encontrar os valores de CIM e CBM, apenas do controle positivo clorexidina (0,12%), 4,69/37,5 para *E. coli*, 4,69/37,5 para *S. aureus* e 18,75/37,5 para *S. mutans*. Foi possível concluir que é importante uma avaliação contínua da atividade antimicrobiana do extrato do *Zingiber officinale* Roscoe para redução do potencial de biofilme e bactérias cariogênicas, contribuindo dessa forma com terapias odontológicas e redução de efeitos colaterais devido ao uso de produtos herbais, além da possibilidade de combinação com outros agentes antimicrobianos.

Palavras-chave: Biofilme. Fitoterapia. Fluoreto. Óleo essencial. Extrato de *Zingiber officinale*.

Introdução

A cárie dentária é atualmente classificada como uma Doença Crônica Não Transmissível (DCNT). Trata-se de uma condição ou patologia biofilme- açúcar dependente, dinâmica, multifatorial, resultado de um desequilíbrio entre o hospedeiro, dieta e microrganismos, com prevalência de 35% na dentição permanente e 9% na dentição mista, na população mundial [1] [2].

Dessa forma, o biofilme dental é o principal agente etiológico das condições patológicas bucais. Estes estão organizados em colônias bacterianas complexas, formada por microrganismos mais resistentes, o que favorece a adesão das bactérias às superfícies dentais [3].

Dentre esses microrganismos, o *Streptococcus mutans*, uma bactéria gram-positiva, destaca-se como um dos patógenos mais frequentes na cavidade bucal é responsável por diversas patologias orais, uma que, metaboliza carboidratos fermentáveis, como a sacarose [4].

Além disso, a cavidade bucal pode abrigar outras espécies bacterianas, como *Staphylococcus aureus*, uma bactéria gram-positiva, com células esféricas que se agrupam em forma de cachos, e a *Escherichia coli*, uma bactéria gram-negativa, que se apresenta como bastonetes retos, tipicamente isolados ou em pares, em que, ambas as espécies, embora menos associadas diretamente ao desenvolvimento de cáries, podem estar presentes no biofilme oral e contribuir para desequilíbrios na microbiota bucal [5].

Dessa forma, os fluoretos de sódio desempenham um papel fundamental na prevenção de lesões cariosas e na promoção da remineralização dentária [6]. Esses compostos atuam inibindo atividades enzimáticas de microrganismos patogênicos, como *Streptococcus mutans*, reduzindo sua capacidade de aderir à superfície dental e, conseqüentemente, inibindo seu desenvolvimento no biofilme dental, além disso, o flúor contribui para a estabilização da estrutura mineral do esmalte, tornando-o mais resistente à desmineralização induzida por ácidos produzidos pelas bactérias cariogênicas.[7].

Atualmente, diversos óleos essenciais, têm sido empregados em enxaguantes bucais devido às suas propriedades bactericidas contra patógenos orais, bem como à sua capacidade de reduzir a formação de biofilme. Já os colutórios à base de fluoreto de sódio, são amplamente utilizados devido à sua comprovada eficácia na prevenção de cáries e na remineralização do esmalte dental em modelos *in vitro*, com concentrações que variam de 200 a 1400 ppm F⁻. No entanto, concentrações mais baixas de fluoreto em enxaguatórios bucais podem não apresentar efeito significativo sobre o biofilme dental [8].

Os produtos naturais ricos em compostos fenólicos, têm se destacado e sido utilizados como uma excelente alternativa no controle de microrganismos orais, na forma de enxaguantes bucal contendo óleos essenciais (EO), extraídos a partir de plantas medicinais, onde algumas espécies possuem propriedades antimicrobianas, efeitos colaterais minimizados, toxicidade e baixo custo, quando comparados aos produtos químicos [9].

A eficácia antibacteriana do *Z. officinale* pode ser atribuída à sua capacidade de alterar a permeabilidade e a fluidez das membranas celulares bacterianas, além disso, apresenta uma significativa atividade antiaderente, que inibe a adesão de sacarose e reduz a produção de ácido glicolítico pelas bactérias. Isso resulta na diminuição do potencial de aciduricidade dos microrganismos e na formação de uma camada protetora sobre o esmalte dentário, proteção contra a desmineralização [10]. Além de ter a capacidade de reduzir a biossíntese de prostaglandinas e por apresentar efeitos inibitórios sobre o crescimento de bactérias do biofilme dentário e periodontais [11].

O objetivo foi investigar as propriedades antimicrobianas com e sem associação de fluoretos de sódio para o extrato e óleos essenciais de gengibre (*Z. officinale*) utilizados para fins odontológicos [12], bem como, a ação antimicrobiana com determinação da CIM e CBM.

Materiais e métodos

Características do estudo

Trata-se de uma pesquisa laboratorial *in vitro*, do tipo exploratório [13] [14], que consistirá na análise da atividade antimicrobiana através do teste de microdiluição em caldo utilizando placas de 96 poços. Todas as etapas microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Biologia Bucal (Labial), localizado no campus do Centro de Ciências da Saúde da instituição (CCS), dentro da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Materiais

Essa pesquisa incluiu um (1) tipo de extrato de óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe, (nº lote: 01177/24, data de fabricação: 04/03/2024, data de validade: 04/03/2025) adquirida direto da fábrica, em parceria com o Laboratório Rabelo (Cabedelo, Paraíba, Brasil) e de dois (2) óleos essenciais comerciais (Lazlo) de *Zingiber officinale*: Gengibre CO₂ supercrítico (nº lote: LZ1172, data de validade: 10/25) e óleo essencial de Gengibre (nº lote: LZ2537, data de validade: 06/27) obtidos através da compra dos mesmos, solução salina 0,9%, obtida a partir de NaCl (Sigma), Clorexidina 0,12% (Sigma), com adição de fluoreto de sódio nas concentrações 225 ppm F⁻, 900 ppm F⁻ e 1450 ppm F⁻, além de resazurina 0,01% (Sogma) e BHI caldo.

Microrganismos do estudo

Os produtos foram testados frente aos microrganismos oriundos da American Type Culture Collection (ATCC) e do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), *Staphylococcus aureus* (ATCC 15656), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Streptococcus mutans* (INCQS 00446), todos fornecidos pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Cultivo e preparação do inóculo para testes microbiológicos

A cepa de cultura-estoque mantida sob condições refrigeradas, foi retirada e deixadas em repouso na bancada de fluxo laminar para atingir a temperatura ambiente, 25°C, sendo posteriormente transferido 0,6 mL (600 µl) do inóculo para um tubo de ensaio esterilizado, contendo 7mL (700 µl) de meio BHI (Brain Heart Infusion, Kasvi) para as bactérias. O inóculo foi incubado a 37°C, por 24h. Após este período foi centrifugado por 10 minutos para retirada do sobrenadante e ressuspenso em solução salina estéril (NaCl 0,9%), ajustada por espectrofotômetro FLUORstar OPTIMA, sendo a absorbância observada em um comprimento de onda de 600 nm, até a obtenção de uma suspensão padronizada equivalente a 0,5 da escala McFarland (10⁸ UFC/mL).

Produtos e substâncias testadas

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

Grupos	Descrição
EG	EXTRATO DE GENGIBRE (Zingiber officinale - Água Rabelo®)
EG 225 ppm F ⁻	EXTRATO DE GENGIBRE (Zingiber officinale - Água Rabelo®) + 225 ppm F ⁻
EG 900 ppm F ⁻	EXTRATO DE GENGIBRE (Zingiber officinale - Água Rabelo®) + 900 ppm F ⁻
EG 1450 ppm F ⁻	EXTRATO DE GENGIBRE (Zingiber officinale - Água Rabelo®) + 1450 ppm F ⁻
OECO ₂	ÓLEO ESSENCIAL DE GENGIBRE (Zingiber officinale- extração por fluido supercrítico)
OECO ₂ 225 ppm F ⁻	ÓLEO ESSENCIAL DE GENGIBRE (Zingiber officinale - extração por fluido supercrítico) + 225 ppm F ⁻

OE	ÓLEO ESSENCIAL GENGIBRE (Zingiber officinale) + 900 ppm F ⁻
OE	ÓLEO ESSENCIAL GENGIBRE (Zingiber officinale) + 1450 ppm F ⁻
OE	ÓLEO ESSENCIAL GENGIBRE (Zingiber officinale)
OE 225 ppm F⁻	ÓLEO ESSENCIAL GENGIBRE (Zingiber officinale) + 225 ppm F ⁻
OE 900 ppm F⁻	ÓLEO ESSENCIAL GENGIBRE (Zingiber officinale) + 900 ppm F ⁻
OE 1450 ppm F⁻	ÓLEO ESSENCIAL GENGIBRE (Zingiber officinale) + 1450 ppm F ⁻
CP (CONTROLE POSITIVO)	CLOREXIDINA 0,12%
CN (CONTROLE NEGATIVO)	SOLUÇÃO SALINA 0,9%

Avaliação da atividade antimicrobiana

Foram avaliados dois óleos essenciais de gengibre, um obtido por extração com CO₂ supercrítico e outro por método convencional, utilizando os métodos de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). O meio de cultura utilizado foi o BHI (Brain Heart Infusion), inicialmente incorporado com fluoreto de sódio (NaF) nas concentrações de 2900, 1800 e 450 ppm. Após a diluição nos poços, as concentrações finais de fluoreto foram ajustadas para 1450, 900 e 225 ppm. O BHI sem incorporação de fluoreto foi utilizado como controle.

Nas placas de microdiluição de 96 poços, foram adicionados 50 µL do BHI incorporado com fluoreto e 50 µL de soluções seriadas dos óleos essenciais de gengibre, com concentrações variando de 16 a 0,12 mg/mL, totalizando um volume

final de 100 µL por poço [15] [16] [17]. Em seguida, foram adicionados 20 µL de inóculo padronizado de *Streptococcus mutans* (INCQS 00446), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 15656). Para avaliar a CIM dos óleos de maneira isolada, sem interferência do fluoreto, foi realizada uma diluição seriada das soluções de óleos essenciais no meio BHI sem incorporação de fluoreto. As concentrações finais dos óleos também variaram de 16 a 0,12 mg/mL, seguindo o mesmo protocolo de inoculação e incubação.

As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas [15] [18]. Após o período de incubação, a CIM foi determinada por análise colorimétrica, utilizando resazurina para verificar a viabilidade bacteriana [18] [19]. Para a determinação da CBM, 10 µL de cada poço foram transferidos para placas de ágar BHI e incubados novamente a 37 °C por 24 horas. A CBM foi definida como a menor concentração de óleo essencial na qual não houve crescimento bacteriano no meio sólido [15] [16] [17].

Todos os experimentos foram realizados em triplicata, e os resultados foram registrados para análise comparativa da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de gengibre em diferentes concentrações finais de fluoreto e na ausência de incorporação.

Resultados

Os resultados da análise da atividade antimicrobiana do extrato de gengibre (*Zingiber officinale*) e dos óleos essenciais de gengibre (CO₂ supercrítico e comercial) pelo método de microdiluição em caldo estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 - Atividade antimicrobiana e valores de CIM e CBM do extrato de gengibre (*Zingiber officinal*) e dos óleos essenciais de gengibre (CO₂ supercrítico e comercial) pelo método de microdiluição em placa. A clorexidina (CLX) 0,12 % usada como controle positivo e a solução salina (0,9%) como controle negativo.

Amostra	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. mutans</i>
EG	ND	ND	ND
EG 225 ppm F⁻	ND	ND	ND
EG 900 ppm F⁻	ND	ND	ND
EG 1450 ppm F⁻	ND	ND	ND
OECO₂	ND	ND	ND
OECO₂ 225 ppm F⁻	ND	ND	ND
OECO₂ 900 ppm F⁻	ND	ND	ND
OECO₂ 1450 ppm F⁻	ND	ND	ND
OE	ND	ND	ND
OE 225 ppm F⁻	ND	ND	ND
OE 900 ppm F⁻	ND	ND	ND
OE 1450 ppm F⁻	ND	ND	ND
CP	4,69/37,5	4,69/37,5	18,75/37,5
CN	ND	ND	ND

ND = Não definido.

Dessa forma, não foi possível encontrar atividade antimicrobiana em nenhuma das cepas analisadas junto ao extrato de *Zingiber officinale* e aos seus óleos essenciais, em nenhuma das concentrações de adição de fluoreto de sódio, apenas no controle positivo representado pela clorexidina 012%, com valores de 4,69/37,5, 4,69/37,5 e 18,75/37,5 para *S. aureus*, *E. coli* e *S. mutans*, respectivamente.

Discussão

De acordo com os testes realizados, não se pode afirmar que o extrato do gengibre disponibilizado e utilizado pela linha da Água Rabelo® tem ação antimicrobiana, tendo mais um aspecto flavorizante. O estudo ainda revela que os grupos analisados não demonstraram atividade antimicrobiana, com crescimento bacteriano de todas as cepas testadas, apesar, algumas pesquisas relatam que o extrato do gengibre apresenta atividade contra algumas cepas bacterianas, incluindo *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* [20] [21] [22]. Em estudo disponível na literatura, por exemplo, o extrato de gengibre apresentou concentrações de CIM 0,02 mg/mL para *S. mutans* e 0,03 mg para *S. sanguinis* e valores de CBM de 0,04 mg/mL para *S. mutans* e 0,06 mg para *S. sanguinis* [20].

Desse modo, os dados encontrados neste trabalho divergem com a literatura em relação à atividade antimicrobiana de óleos essenciais e extratos de Gengibre. O fato do óleo e dos extratos de gengibre não apresentarem atividade antibacteriana neste trabalho pode estar relacionado à volatilidade dos compostos presentes na amostra, à insolubilidade em água e à complexidade de sua composição química. Esses fatores dificultam a comparação dos resultados encontrados, além disso, é fundamental considerar aspectos como a técnica adotada, o meio de cultura, a densidade do inóculo, o tipo de óleo essencial e o emulsificador utilizado [23].

Outro fator que pode explicar a ausência de atividade antimicrobiana, está relacionado à variabilidade na composição dos extratos vegetais. É sabido que extratos provenientes da mesma planta podem apresentar propriedades distintas, dependendo das características dos insumos utilizados, como a origem, o método

de extração e as condições ambientais. Para garantir a consistência e a eficácia dos extratos, é fundamental realizar uma caracterização detalhada e uma autenticação precisa dos compostos bioativos presentes. Isso possibilita o estabelecimento de procedimentos rigorosos de controle de qualidade, assegurando a confiabilidade e a reprodutibilidade dos produtos. [24] [25].

A disponibilidade de plantas medicinais de qualidade frequentemente depende de áreas geográficas específicas. Fatores como as espécies vegetais disponíveis, as condições ambientais e os métodos de cultivo podem influenciar diretamente a qualidade e a eficácia dessas plantas. Além disso, variáveis como clima, solo, altitude e práticas de manejo agrônômico também desempenham um papel fundamental na produção de plantas medicinais com alto valor terapêutico [26].

Além disso, em alguns estudos a atividade antimicrobiana do extrato do gengibre está relacionada a concentrações muito elevadas do extrato, onde é possível identificar CIM e CBM do extrato com valores de 1000 mg/mL, por exemplo [27]. No entanto, essas concentrações elevadas podem causar maior citotoxicidade [28] e aumento dos custos em um produto final, o que não é de interesse em formulações farmacêuticas.

Os óleos essenciais (OE) exibem uma ampla atividade biológica, contudo, sua introdução em meios aquosos é comumente limitada devido à sua hidrofobicidade e volatilidade e a incorporação de microemulsões ou nanoemulsões pode contornar essas restrições, melhorando a sua solubilidade e estabilidade. Além disso, essas formulações podem potencializar as propriedades antimicrobianas dos OE ou, em alguns casos, não alterar sua eficácia biológica [29].

Com o intuito de promover a formulação de um produto com atividade antimicrobiana mais eficaz, propõe-se a otimização da formulação com a incorporação de outro óleo essencial que pode apresentar efeito quando associado ao óleo de gengibre, como já tem sido abordado pela literatura, isso poderia potencializar o efeito antimicrobiano do produto final, atenuando a concentração dos óleos utilizados sem interferir na concentração de fluoreto no produto final, podendo tornar-se um novo enxaguatório herbal, com eficácia e menos efeitos adversos.

Por fim, os testes realizados até o momento foram restritos ao fluoreto de sódio. Contudo, atualmente, a indústria tem incorporado novos compostos, como o fluoreto de estanho, com o objetivo de otimizar os efeitos e expandir as aplicações [30].

Conclusão

O fluoreto, nas concentrações testadas, associado aos compostos representados por EG, OECO2 e OE, não demonstrou eficácia significativa na inibição do crescimento das cepas bacterianas analisadas, assim como os compostos de forma isolada, sem fluoreto, não apresentaram atividade antimicrobiana. Contudo, é importante ressaltar que mais dados e uma análise mais aprofundada são necessários para avaliar de forma mais precisa a atividade antimicrobiana desses tratamentos específicos.

Dessa forma, novos tratamentos, que incluam diferentes óleos e ajustes nas proporções de emulsificantes, podem potencialmente melhorar a atividade antimicrobiana. No entanto, a confirmação dessa hipótese exige a realização de novos experimentos e investigações para este fim.

Por fim, esta pesquisa entende a necessidade de uma avaliação contínua da atividade antimicrobiana do extrato do *Zingiber officinale* Roscoe para redução do potencial de biofilme e bactérias cariogênicas, contribuindo dessa forma com terapias odontológicas e redução de efeitos colaterais devido ao uso de produtos

Referências

1. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, Tagami J, Twetman S, Tsakos G, Ismail A. Dental caries. Nat Rev Dis Primers. 2017 May 25;3:17030. doi: 10.1038/nrdp.2017.30.
2. Sampaio FC, Bönecker M, Paiva SM, Martignon S, Ricomini Filho AP, Pozos-Guillen A, Oliveira BH, Bullen M, Naidu R, Guarnizo-Herreño C, Gomez J, Malheiros Z, Stewart B, Ryan M, Pitts N. Dental caries prevalence, prospects, and challenges for Latin America and Caribbean countries: a summary and final recommendations from a Regional Consensus. Braz Oral Res. 2021 May 28;35(suppl 01):e056. doi: 10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0056.
3. MÜLLERA, L.K.; JUNGBAUERB, G.; WOLFE, R. J. M.; DESCHNERA, J. Biofilm and Orthodontic Therapy. Oral Biofilms. Monogr Oral Sci. Basel, Karger. v. 29, p. 201-213, 2021.
4. Paula VA, Modesto A, Santos KR, Gleiser R. Antimicrobial effects of the combination of chlorhexidine and xylitol. Br Dent J. 2010;209.
5. Lencova S, Zdenkova K, Demnerova K, Stiborova H. Antibacterial and antibiofilm effect of natural substances and their mixtures over *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. LWT - Food Science and Technology. 2021;154:112777. doi:10.1016/j.lwt.2021.112777.
6. BARRERA-ORTEGA, C. C.; VÁZQUEZ-OLMOS, A. R.; SATO-BERRÚ, R. Y.; ARAIZA-TÉLLEZ, M. A. Study of Demineralized Dental Enamel Treated with Different Fluorinated Compounds by Raman Spectroscopy. J Biomed Phys Eng., v. 10, n. 5, p.635-644, 2020
7. Xu J, Shi H, Luo J, Yao H, Wang P, Li Z, Wei J. Advanced materials for enamel remineralization. Front Bioeng Biotechnol. 2022.
8. Brookes Z, Teoh L, Cieplik F, Kumar P. Mouthwash Effects on the Oral Microbiome: Are They Good, Bad, or Balanced? Int Dent J. 2023 Nov;73 Suppl 2(Suppl 2):S74-S81. doi: 10.1016/j.identj.2023.08.010. Epub 2023 Oct 17.
9. FARIA, T.R.B; FURLETTI-GOES, V.F; FRANZINI, C.M; ARO, A.A; ANDRADE, kohT.A.M; SARTORATTO, A.; MENEZES, C.C. Anti-inflammatory and antimicrobial effects of Zingiber officinale mouthwash on

- patients with fixed orthodontic appliances. J Orthod Dentofacial Orthop, 2020
10. Kohli N, Hugar SM, Hallikerimath S, Gokhale N, Kadam K, Soneta SP. Comparative evaluation of antibacterial efficacy and remineralization potential of acidulated phosphate fluoride gel with herbal formulations. J Contemp Dent Pract. 2022;23(5):504-510.
 11. Mahyari, S. Behnam Mahyari 2, Seyed Ahmad Emami 3, Bizhan Malaekheh-Nikouei 4, Seyedeh Pardis Jahanbakhsh 1, Amirhossein Sahebkar 5, Amir Hooshang Mohammadpour. Evaluation of the efficacy of a polyherbal mouthwash containing Zingiber officinale, Rosmarinus officinalis and Calendula officinalis extracts in patients with gingivitis: A randomized double-blind placebo-controlled trial. Complement Ther Clin Pract. 2016
 12. 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.
 13. Marconi MA, Lakatos EM. Técnicas de pesquisa. 5th ed. São Paulo: Atlas; 2002
 14. Freitas JF. Fluoride stability in toothpastes. Aust Dent J. 1984 Feb;29(1):30-35. doi:10.1111/j.1834-7819.1984.tb04540.x. PMID: 6588940.
 15. 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.
 16. 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>.
 17. 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.
 18. Martins ML, Cunha MG, Santos VR, 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.

19. 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.
20. Azizi A, Aghayan S, Zaker S, Shakeri M, Entezari N, Lawaf S. In vitro effect of *Zingiber officinale* extract on growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *Int J Dent*. 2015 Aug 12;2015:489842. doi: 10.1155/2015/489842.
21. Malik S, Mulla M, Saheb SAK, Alessa NA, Chougule VT, Mulla M, Patri G. Evaluation of antimicrobial effect of ginger, apple cider vinegar against *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, and *Candida albicans*. *J Pharm Bioallied Sci*. 2024 Jun 7;16(Suppl 3).
22. Ahmed N, Karobari MI, Yousaf A, Mohamed RN, Arshad S, Basheer SN, Peeran SW, Noorani TY, Assiry AA, Alharbi AS, Yean YC. The antimicrobial efficacy against selective oral microbes, antioxidant activity and preliminary phytochemical screening of *Zingiber officinale*. *Infect Drug Resist*. 2022 May 31;15:2773-2785
23. Hood JR, Wilkinson JM, Cavanagh HMA. Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research. *J Essent Oil Res*. 2003;15(5):428-433. doi:10.1080/10412905.2003.9698702.
24. McGrady B, Ho CS. Identifying gaps in international food safety regulation. *Food Drug Law J*. 2011;66(2):183-202. doi:10.2139/ssrn.1840937.
25. Raclariu AC, Heinrich M, Ichim MC, de Boer H. Benefits and limitations of DNA barcoding and metabarcoding in the authentication of herbal products. *Phytochem Anal*. 2018;29(2):123-128. doi:10.1002/pca.2793.
26. Adaszyńska M, Swarczewicz M, Dzięcioł M, Dobrowolska A. Comparison of chemical composition and antibacterial activity of lavender varieties from Poland. *Nat Prod Res*. 2013;27(16):1497-1501. doi:10.1080/14786419.2012.736329.
27. Felicia A, Debora K, Ramadhani R. In vitro antimicrobial activity evaluation of ginger (*Zingiber officinale*) absolute ethanol extract against

uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC). *JUXTA: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Universitas Airlangga*. 2022 Aug; XIII(02).

28. Shawahna R, Taha A. Which potential harms and benefits of using ginger in the management of nausea and vomiting of pregnancy should be addressed? A consensual study among pregnant women and gynecologists. *BMC Complement Altern Med*. 2017 Apr 8;17(1):204. doi: 10.1186/s12906-017-1717-0.
29. Sieniawska E, Świątek Ł, Wota M, Rajtar B, Polz-Dacewicz M. Microemulsions of essential oils – Increase of solubility and antioxidant activity or cytotoxicity? *Int J Pharm*. 2019;129:115-124. doi:10.1016/j.ijpharm.2019.05.030.
30. Chen D, Chew D, Xiang Q, Lam T, Dai Y, Liu J, Wang L, He T, Strand R, Zhang X, Lim L, Xu J, Shi Y, Dong W. Interactions and effects of a stannous-containing sodium fluoride dentifrice on oral pathogens and the oral microbiome. *Front Microbiol*. 2024 Feb 15;15:1327913. doi: 10.3389/fmicb.2024.1327913.

Informações de apoio

Tabela 1: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 1.

Amostras	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,02	4,89	0,01	4	0,01	3,8
Gengibre	0,01	4,5	0,03	3,7	0,02	3,4
Blank 1 (Água deionizada)	0	3	0,01	4,5	0	4
Extrato						
Gengibre	0,01	4,33	0,02	4,3	0,01	3,21
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	4,26	0	3,96	0	4,1

Tabela 2: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 2.

Amostra	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,01	3,36	0,01	2,74	0,02	5,36
Gengibre	0,01	3,31	0,01	3,16	0,02	5,42
Blank 1 (Água deionizada)	0	3	0,01	4,5	0	4
Extrato						
Gengibre	0,01	4,33	0,02	4,3	0,01	3,21
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	3,07	0	4,41	0	4,67

Tabela 3: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 3.

Amostra	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,01	4,07	0,01	5,18	0,02	5,28
Gengibre	0,01	4,71	0,01	5,44	0,02	5,23
Blank 1 (Água deionizada)	0	4	0,01	4,2	0	3,2
Extrato						
Gengibre	0,05	4,21	0,04	3,96	0,08	3,39
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	4,46	0	4,54	0	3,33

Tabela 4: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 4.

Amostra	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,01	4,76	0,01	4,16	0,02	4,47
Gengibre	0,01	4,74	0,01	4,27	0,02	4,06
Blank 1 (Água deionizada)	0	4,5	0,01	3,9	0	4,4
Extrato						
Gengibre	0,05	5,51	0,04	5,54	0,08	4,9
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	5,04	0	4,69	0	3,24

Tabela 5: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 5.

Amostra	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,01	4,15	0,01	5,23	0,02	3,20
Gengibre	0,01	3,62	0,01	3,29	0,02	3,20
Blank 1 (Água deionizada)	0	4,46	0,01	4,54	0	3,33
Extrato						
Gengibre	0,05	3,70	0,04	4,91	0,08	3,41
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	3,02	0	2,88	0	3,91

Tabela 6: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 6.

Amostra	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,01	5,41	0,01	5,54	0,02	6,51
Gengibre	0,01	5,18	0,01	5,19	0,02	4,05
Blank 1 (Água deionizada)	0	5,04	0,01	4,69	0	3,24
Extrato						
Gengibre	0,05	3,70	0,04	4,62	0,01	4,37
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	4,48	0	4,19	0	3,83

Tabela 7: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 7.

Amostra	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,01	3,98	0,01	3,65	0,02	3,23
Gengibre	0,01	3,65	0,01	3,78	0,02	3,40
Blank 1 (Água deionizada)	0	3,55	0,01	3,64	0	3,69
Extrato						
Gengibre	0,05	3,70	0,04	4,24	0,01	4,12
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	3,91	0	4,60	0	2,88

Tabela 8: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 8.

Amostra	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,01	3,77	0,01	4,43	0,02	5,14
Gengibre	0,01	4,07	0,01	3,78	0,02	3,40
Blank 1 (Água deionizada)	0	4,12	0,01	4,57	0	3,62
Extrato						
Gengibre	0,05	3,70	0,04	3,11	0,01	3,18
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	4,55	0	3,07	0	2,69

Tabela 9: Dados avaliados nos enxaguatórios Água Rabelo®, no Extrato de Gengibre e controles, sem flúor – Semana 9.

Amostra	Temperatura ambiente		37°C		45°C	
Água Rabelo	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH	ppm Média de F	pH
Tradicional	0,01	5,18	0,01	4,15	0,02	3,81
Gengibre	0,01	4,23	0,01	4,87	0,02	4,67
Blank 1 (Água deionizada)	0	3,90	0,01	6,36	0	3,38
Extrato						
Gengibre	0,05	3,70	0,04	4,0	0,01	3,4
Blank 2 (água + Tween 80 + DMSO)	0,02	3,92	0	4,2	0	2,69

Figuras 1: Placas com extrato de gengibre, óleo essencial de gengibre supercrítico CO₂ e óleo essencial de gengibre, associado a concentração de 1450 ppm F⁻ para cepas de *S. aureus*, *S. mutans* e *E. coli*.





6. CONCLUSÃO

A presente pesquisa investigou que:

- As amostras apresentam uma redução na concentração de fluoreto de sódio ao longo das semanas de análise, em todas as temperaturas, então essa perda ocorre independente da temperatura.
- É necessário identificar em estudos posteriores os compostos que interagem com o fluoreto, para eliminar esses compostos e garantir a estabilidade das soluções, como suas vantagens terapêuticas.
- O pH se mostrou com acidez excessiva ao longo do tempo, principalmente na solução do extrato de *Zingiber officinale*, o que pode predispor o risco de erosão dentária.
- O Extrato do gengibre e os óleos essenciais não apresentaram atividade antimicrobiana
- Estudos futuros *in vivo* para a físico-química e associação com agentes antimicrobianos, além da identificação dos compostos de interação com os fluoretos.

REFERÊNCIAS

- 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.
- Ahmed, N.; Mohmed Isaqali Karobari , Anam Yousaf , Roshan Noor Mohamed, Sohaib Arshad , Syed Nahid Basheer , Syed Wali Peeran, Tahir Yusuf Noorani, Ali A Assiry, Abdulaziz S Alharbi, Chan Yean Yean. The Antimicrobial Efficacy Against Selective Oral Microbes, Antioxidant Activity and Preliminary Phytochemical Screening of *Zingiber officinale*. **Infect Drug Resist**. 2022 May 31;15:2773–2785. doi: 10.2147/IDR.S364175.
- BARRERA-ORTEGA, C. C.; VÁZQUEZ-OLMOS, A. R.; SATO-BERRÚ, R. Y.; ARAIZA-TÉLLEZ, M. A. Study of Demineralized Dental Enamel Treated with Different Fluorinated Compounds by Raman Spectroscopy. **J Biomed Phys Eng**, v. 10, n. 5, p.635-644, 2020.
- Baglar, S.; Nalcaci,A.; Tastekin, M.The effect of temperature change on fluoride uptake from a mouthrinse by enamel specimens. **Eur J Dent**. v.6, n.4, p. 361-369, 2012.
- BELLIO, P.; FAGNANI, L.; NAZZICONE, L.; CELENZA, G. New and simplified method for drug combination studies by checkerboard assay. **Elsevier**, 2021.
- BOSMA,M.L.; MCGUIRE,J.A.; DELSASSO,A.; MILLEMAN ,J.; MILLEMAN,K. Efficacy of flossing and mouth rinsing regimens on plaque and gingivitis: a randomized clinical trial. **BMC Oral Health**. v. 24, n.1, p. 178, 2024.
- 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.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. IN nº 4, 13 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. Brasília, DF, 2014.

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.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 4, de 30 de janeiro de 2014.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 530, de 4 de agosto de 2021.

Brookes Z, Teoh L, Cieplik F, Kumar P. Mouthwash Effects on the Oral Microbiome: Are They Good, Bad, or Balanced? *Int Dent J*. 2023 Nov;73 Suppl 2(Suppl 2):S74-S81. doi: 10.1016/j.identj.2023.08.010. Epub 2023 Oct 17.

CARVALHO, T.S.; Khoa Pham,Daniela Rios , Samira Niemeyer, Tommy Baumann. Synergistic effect between plant extracts and fluoride to protect against enamel erosion: An in vitro study. **PLoS One**. 2022 Nov 16;17(11).

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. CHO, K.H.; KANG, C.M.; JUNG, H.I.; LEE, H.S.; LEE, K.; LEE, T. Y.; SONG, J. S. The diagnostic efficacy of quantitative light-induced fluorescence in detection of dental caries of primary teeth. **Journal of Dentistry**, 2021.

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

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>

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.

Declaración de Bangkok. Tailandia, 2024.

ELIOPOULOS , G.M.; ELIOPOULOS, C.T. Antibiotic combinations: should they be tested? **Clin Microbiol Rev.** v. 1, n. 2, p. 139-156, 1988.

ESTRELA, C. **Metodologia Científica:** Ciência, Ensino, Pesquisa. 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2018.

FARIA, T.R.B; FURLETTI-GOES, V.F; FRANZINI, C.M; ARO, A.A; ANDRADE, kohT.A.M; SARTORATTO, A.; MENEZES, C.C. Anti-inflammatory and antimicrobial effects of Zingiber officinale mouthwash on patients with fixed orthodontic appliances. **J Orthod Dentofacial Orthop**, 2020.

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

FRANCISCO, K. S. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. Revista Saúde, v.4, n. 1, p. 18 - 24, 2010.

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.

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>

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.

GUPTA, A.; DHINGRA, R.; SHARMA, A. Emerging trends in herbal oral care products: A comprehensive review. **J Ayurveda Integr Med.** v. 13, n. 2, p. 100-107, 2022.

Kade, K, K.; Shweta Chaudhary , Rohan Shah, Smita Patil, Alok Patel, Amol Kamble. Comparative Evaluation of the Remineralization Potential of Fluoride-containing Toothpaste, Honey Ginger Paste and Ozone. An *In Vitro* Study. **Int J Clin Pediatr Dent**. 2022 Sep-Oct;15(5):541–548.

Kohli, N.; Shivayogi M Hugar , Seema Hallikerimath ,Niraj Gokhale ,Krishna Kadam ,Sanjana P Soneta. Comparative Evaluation of Antibacterial Efficacy and Remineralization Potential of Acidulated Phosphate Fluoride Gel with Herbal Dental Gel Containing *Zingiber officinale*, *Salvadora persica*, and *Cinnamomum zeylanicum*: An *In Vitro* Study. **Int J Clin Pediatr Dent**. 2024 Mar;17(3):307–315.

LAZAR, L.; VLASA, A.; BERESESCU, L.; BUD, A.; LAZAR, A. P.; MATEI, L.; BUD, E. White Spot Lesions (WSLs)—Post-Orthodontic Occurrence, Management and Treatment Alternatives: A Narrative Review. **J Clin Med**. v. 12, n.5, p.1908, 2023.

LEITE, K, L, F.; Mariana Leonel MARTINS , Amanda Souza Nunes MONTEIRO ,Thiago Isidro VIEIRA , Adílís Kalina ALEXANDRIA , Gustavo Miranda ROCHA , Andréa FONSECA-GONÇALVES , Matheus Melo PITHON , Yuri Wanderley CAVALCANTI, Lucianne Cople MAIA. *In-vitro* effect of a single application of CPP-ACP pastes and different fluoridated solutions on the prevention of dental caries around orthodontic brackets. **Dental Press J Orthod**. 2024 Jan 8;28(6).

LOPES, P, C.; Teresa Carvalho ² , Ana TPC Gomes ¹ , Nélio Veiga ¹ , Letícia Blanco ³ , Maria José Correia ¹ , Anna Carolina Volpi Mello-Moura. White spot lesions: diagnosis and treatment – a systematic review. **BMC Oral Health**. 2024.

LORIAN, V. **Antibiotics in Laboratory Medicine**.1 ed. Williams & Wilkins, London, 2006.

Luciano MR. Enxaguatório Bucal Contendo Extrato Da Casca De Romã (Punica Granatum), Trimetafosfato De Sódio E Flúor: Avaliação De Seu Potencial Anticariogênico. 2020.

Mahyari, S. Behnam Mahyari ², Seyed Ahmad Emami ³, Bizhan Malaekheh-Nikouei ⁴, Seyedeh Pardis Jahanbakhsh ¹, Amirhossein Sahebkar ⁵, Amir Hooshang Mohammadpour. Evaluation of the efficacy of a polyherbal mouthwash containing *Zingiber officinale*, *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* extracts in patients with gingivitis: A randomized double-blind placebo-controlled trial. **Complement Ther Clin Pract**. 2016

Malik , S.; Mushir Mulla ^{2,✉} , Safeena AK Saheb ³ , Noura Abdulaziz Alessa ⁴ , Vaibhav T Chougule ⁵ , Munaz Mulla ⁶ , Gaurav Patri: Evaluation of Antimicrobial Effect of Ginger, Apple Cider Vinegar against *Streptococcus Mutans*, *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans*. **J Pharm Bioallied Sci**. 2024 Jun 7;16(Suppl 3).

Marconi MA, Lakatos EM. Técnicas de pesquisa. 5ª ed. São Paulo: Atlas; 2002.

MARINHO VC, WORTHINGTON HV, WALSH T, CLARKSON JE. Fluoride gels for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database **Syst Rev**. n. 6, 2015.

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

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, 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.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de recomendações para uso de fluoretos no Brasil**. 1. ed. Brasília, 2009.

Moghaddam, A.; Ranjbar, R.; Yazdanian, M.; Tahmasebi, E.; Alam, M.; Abbasi, K.; Hosseini, Z.S.; Tebyaniyan, H. The Current Antimicrobial and Antibiofilm Activities of Synthetic/Herbal/Biomaterials in Dental Application. **Biomed Res Int**. 2022.

Mokhtari ,H.; Mahsa Eskandarinezhad ¹ , Mohammadhossein-Soruosh Barhaghi ² , Solmaz Asnaashari ³ , Fatemeh-Yeghaneh Sefidan ⁴ , Atefeh Abedi ¹ , Sepideh Alizadeh. Comparative antibacterial effects of ginger and marjoram extract versus conventional irrigants on mature *Enterococcus faecalis* biofilms: An *in vitro* study.

J Clin Exp Dent. 2023 Apr 1;15(4):e304–e310

MÜLLERA, L.K.; JUNGBAUERB, G.; WOLFE, R. J. M.; DESCHNERA, J. Biofilm and Orthodontic Therapy. **Oral Biofilms. Monogr Oral Sci. Basel, Karger.** v. 29, p. 201-213, 2021.

Niemeyer, S,H.; Tommy Baumann , Adrian Lussi, Tais Scaramucci, Thiago Saads Carvalho. Plant extracts have dual mechanism on the protection against dentine erosion: action on the dentine substrate and modification of the salivary pellicle.

Sci Rep. 2023.

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.

PANAGIOTOU, A.; ROSSOUW, E.; MICHELOGIANNAKIS, D.; JAVED, F. Role of Essential Oil-Based Mouthwashes in Controlling Gingivitis in Patients Undergoing Fixed Orthodontic Treatment. A Review of Clinical Trials. **Int. J. Environ. Res. Public Health,** 2021.

PAULA, V. A., MODESTO, A., SANTOS, K. R., GLEISER, R. Antimicrobial effects of the combination of chlorhexidine and xylitol. *British Dental Journal*, v. 209, p. E19, 2010.

PILLI, L. N.; SINGARAJU, G.S.; NETTAM, V.; KEERTHIPATI, T.; MANDAVA, P.; MARYA, A. An Extensive Comparison of the Clinical Efficiency of Acidulated Phosphate Fluoride (APF) and Neutral Sodium Fluoride (NaF) Oral Rinses in the Prevention of White Spot Lesions during Fixed Orthodontic Treatment: A Randomized Controlled Trial. **Biomed Res Int.,** 2022.

Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, Tagami J, Twetman S, Tsakos G, Ismail A. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 May 25;3:17030. doi: 10.1038/nrdp.2017.30.

RAGHAVAN, S.; ABU ALHAIJA, E.S.; DUGGAL, M.S.; NARASIMHAN, S.; AL-MAWERI, S.A. White spot lesions, plaque accumulation and salivary caries-associated bacteria in clear aligners compared to fixed orthodontic treatment. A systematic review and meta- analysis. **BMC Oral Health**. 2023.

Rajendiran, M.; Harsh M Trivedi, Dandan Chen , Praveen Gajendrareddy, Lin Chen. Recent Development of Active Ingredients in Mouthwashes and Toothpastes for Periodontal Diseases. **Molecules**. 2021 Apr 1;26(7):2001.

REN, X.; ZHANG, Y.; XIANG, Y.; HU, T.; CHENG, R.; CAI, H. The efficacy of mouthwashes on oral microorganisms and gingivitis in patients undergoing orthodontic treatment: a systematic review and meta-analysis. **BMC Oral Health**, v. 23, 2023.

Saikia, A, M.; Abirami Sivasubramanian , MS Muthu, Akila Ganesh , Krithika Chandrasekaran, Richard Kirubakaran. Herbal Mouthrinses for Prevention of Dental Caries in Children and Adolescents: A Systematic Review. **Int J Clin Pediatr Dent**. 2024.

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.

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.

Sampaio FC, Bönecker M, Paiva SM, Martignon S, Ricomini Filho AP, Pozos-Guillen A, Oliveira BH, Bullen M, Naidu R, Guarnizo-Herreño C, Gomez J, Malheiros Z, Stewart B, Ryan M, Pitts N. Dental caries prevalence, prospects, and challenges

for Latin America and Caribbean countries: a summary and final recommendations from a Regional Consensus. *Braz Oral Res.* 2021 May 28;35(suppl 01):e056. doi: 10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0056.

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.

Shinkai, R,S,A.; Azevedo, C.,L.;Campos, T.T.; Crosato, E, M.; Biazevic, M,G,H. Importance of phytotherapy for oral health care and quality of life in adults: A scoping review. **J Dent Sci.** v.19, n.2, p.751-761, 2024.

SUHARDJA, C., et al. "Natural products for enamel remineralization: a systematic review. **Journal of Dentistry.** v.101, n. 3, p.189-198, 2021.

Shawahna R, Taha A. Which potential harms and benefits of using ginger in the management of nausea and vomiting of pregnancy should be addressed? A consensual study among pregnant women and gynecologists. *BMC Complement Altern Med.* 2017 Apr 8;17(1):204. doi: 10.1186/s12906-017-1717-0.

Swaaaij, B,W,M.; DE Slot ,Van der Weijden, G, A.; Timmerman, M,F.; Ruben, J. Fluoride, pH Value, and Titratable Acidity of Commercially Available Mouthwashes. **Int Dent J.** v.74, n.2, p. 260-267, 2024.

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.

Tidke, S.; Chhabra, G.K.; Madh, P.P.; Reche, A.; Wazurkar, S.; Singi, S.R. The Effectiveness of Herbal Versus Non-Herbal Mouthwash for Periodontal Health: A Literature Review. **Cureus.** v. 14, n.8, 2022.

Veneri, F.; Silvio Roberto Vinceti 3, Tommaso Filippini. Fluoride and caries prevention: a scoping review of public health policies. **Ann Ig .** 2024 May-Jun;36(3):270-280

XU, J.; SHI, H.; LUO, J.; YAO, H.; WANG, P.; LI, Z.; WEI, J. Advanced materials for enamel remineralization. **Front Bioeng Biotechnol**, 2022.

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

Wongsariya K, Lapidrattanakul KJ, Chewchinda S, Kanchanadumkerng P. Anti-oral streptococci and anti-biofilm properties of Etlingera pavieana essential oil and its bioactive compounds proposed for an alternative herbal mouthwash. *Heliyon*. 2024 May 11;10(10):e31136.

Yıldırım, G. Feyza Eraydın ¹, Didem Nalbantgil. Corrosion Behavior of Nickel-Titanium Arch Wires Following the Use of Different Mouthwashes: An *In Vivo* Study. *Turk J Orthod*. 2024 Sep 30;37(3):168-173