

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“EFEITO DA INSERÇÃO DE NANOPARTÍCULAS
SINTÉTICAS PREPARADAS POR ROTA COLOIDAL EM
MATRIZ ACRÍLICA COMERCIAL DE USO
ODONTOLÓGICO”**

Francisco Nunes de Souza Neto*

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS, área de concentração: FÍSICO-QUÍMICA.

Orientador: Prof. Dr. Emerson Rodrigues de Camargo

*** bolsista FAPESP (2012/17880-0)**

São Carlos - SP

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S729e Souza Neto, Francisco Nunes de
Efeito da inserção de nanopartículas sintéticas preparadas por rota coloidal em matriz acrílica comercial de uso odontológico / Francisco Nunes de Souza Neto. -- São Carlos : UFSCar, 2016.
101 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2016.

1. Polimetacrilato de metila. 2. Nanopartículas de prata. 3. Nanocompósitos. 4. Antimicrobianos. I. Título.

Folha de Aprovação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Francisco Nunes de Souza Neto, realizada em 11/03/2016:

Prof. Dr. Emerson Rodrigues de Camargo
UFSCar

Profa. Dra. Sandra Andrea Cruz
UFSCar

Profa. Dra. Tatiana Santana Ribeiro
UFSCar

Profa. Dra. Aline Satie Takamiya
FOA/UNESP

Profa. Dra. Dayane Batista Tada
UNIFESP

“É fundamental que o estudante adquira compreensão e percepção nítida dos valores. Ele deve aprender a ter um sentido bem definido do belo e do moralmente bom.”

Albert Einstein

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo às pessoas mais importantes de minha vida que sempre estiveram ao meu lado me dando apoio, carinho, amor, sabedoria, força, alegrias, compreensão e satisfação para continuar esse caminho. Dedico a vocês: Joaquim e Maria Rosa (meus pais), Caroline (minha irmã), Anielly e a todos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

“Cada pessoa que passa em nossa vida é única. Sempre deixa um pouco de si e leva um pouco de nós. Há os que levaram muito, mas não há os que não deixaram nada. Portanto, sou uma pessoa privilegiada, pois tenho muito a agradecer”. Foram muitos, os que me ajudaram a concluir este estudo. Meus sinceros agradecimentos.

Dizia a poetisa goiana Cora Coralina “O saber a gente aprende com os mestres e os livros. A sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes”, ao Prof. Dr. Emerson R. Camargo, digo que aprendi muito sobre “saber” e “sabedoria”. Aprendi com suas palavras através de sua forma simples de viver, porém, repleta de valores e atitudes. Obrigado pela paciência, serenidade, confiança, ensinamentos, amizade e alegrias o que proporcionou o desenvolvimento deste estudo de forma tão serena. Minha eterna admiração.

Aos Profs. Dr. Elson Longo e Edson R. Leite, por ter me recebido no Laboratório Interdisciplinar de Eletroquímica e Cerâmica (LIEC), concedendo-me a oportunidade de aperfeiçoar meus conhecimentos.

À todos os meus queridos amigos do grupo de pesquisa que se tornaram verdadeiros irmãos diante de todo apoio, carinho, força, conhecimento e principalmente por compartilharmos momentos de trabalho, descontração, companheirismo e conversas. Eternos agradecimentos à todos vocês: Alan, André, Andressa, Caroline, Ciro, Lilian, Lucas Mendes, Lucas Ribeiro, Luiz, Patrícia, Renata e Tatiane.

Aos meus amigos de laboratório: Bruno, Gleice, Içamira, Ivo, Júlio, Maya e Pablo. Foi um privilégio ter ao meu lado pessoas tão maravilhosas como vocês. Nunca terei como agradecer-lhes pelo apoio, companhia, sorrisos. Jamais me esquecerei dos bons momentos em que convivemos no nosso “Laboratório de Cerâmica”.

Aos técnicos e funcionários do LIEC, Rorivaldo, Ana Lúcia, Madalena, Seu Barbosa, Cíntia, Dona Ana, Daniela e Luma.

À FAPESP, Processo 2012/17880-0, pela bolsa concedida e pelos Projetos 2007/58891-7 e FAPESP–CMDMC/ CEPID 98/ 14324-0, CAPES e INCT de Ciências dos Materiais em Nanotecnologia.

Lembro e agradeço às demais pessoas que também deram sua parcela de colaboração, não havendo aqui, infelizmente, condições de a todos nominarem, mas que foram importantes em algum momento da minha vida.

Muito Obrigado a todos!

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - Diferentes tipos de nanocompósitos.....	17
TABELA 4.1 - Fórmula química, fabricante e grau de pureza dos reagentes utilizados.	22
TABELA 4.2 - Marca e modelo dos equipamentos utilizados.....	23
TABELA 4.3 - Identificação e porcentagem de adição de partículas de prata na resina acrílica.	29
TABELA 5.1 - Valores estatísticos encontrados pelas técnicas de MET e DLS.....	43
TABELA 5.2 - Estimativa dos tamanhos de domínio de coerência cristalográfica das partículas de prata pela equação de Scherrer.....	46
TABELA 5.3 - Resultados de análise química do Lucitone 550 em pó.	51
TABELA 5.4 - Correlação de deslocamento Raman (cm-1) com os modos vibracionais das amostras de PMMA e de seus nanocompósitos.....	54
TABELA 5.5 - Temperatura de Tonset e Tendset para as amostras de PMMA e seus nanocompósitos.	64
TABELA 5.6 - Valores de Tg do PMMA e de seus nanocompósitos.	68

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 – Representação esquemática do mecanismo de atividade bactericida exercida pelas nanopartículas de prata.....	7
FIGURA 2.2 - Embrião cristalino de raio r	9
FIGURA 2.3 - Representação das energias interfaciais e ângulo de contato.	10
FIGURA 2.4 - Preparação de nanomateriais utilizando as técnicas <i>top down</i> e <i>bottom up</i>	12
FIGURA 2.5 - Representação estrutural do PMMA.	14
FIGURA 2.6 - Estratégias de síntese de nanocompósitos: I) síntese das partículas <i>in situ</i> ; II) polimerização da matriz <i>in situ</i> ; III) mistura de componentes.	19
FIGURA 4.1 – Representação esquemática da síntese de partículas de prata em meio aquoso.....	24
FIGURA 4.2 - Representação esquemática da mufla metálica com molde metálico; B) molde metálico preenchido com cera utilidade; C) encaixe do molde preenchido com cera no gesso pedra tipo I.	25
FIGURA 4.3 - Conjunto metálico de mufla e contra-mufla para remoção do excesso de gesso pedra tipo I.....	26
FIGURA 4.4 - A) Remoção da cera utilidade do interior dos moldes; B) Interior da placa metálica.	27
FIGURA 4.5 - Processo de preparação do PMMA.	28
FIGURA 4.6 - Preparação dos nanocompósitos de PMMA-Ag em diferentes concentrações.....	30
Figura 5.1 – Mecanismo de formação de nanopartículas de prata.....	38
FIGURA 5.2 - Coloides de prata sintetizados em temperatura de: A) 90°C; B) 85°C e C) 80°C.	40

FIGURA 5.3 – Espectros de extinção de UV-Vis dos coloides de prata.....	41
FIGURA 5.4 - Micrografias, histogramas e DLS respectivamente de nanopartículas de prata sintetizadas à: A: 90°C, B: 85°C e C: 80°C.	42
FIGURA 5.5 - Difractogramas de raios X das nanopartículas de prata sintetizadas à: 80, 85 e 90°C.	44
FIGURA 5.6 - Potencial Zeta das nanopartículas de prata em diferentes pH.	47
FIGURA 5.7 - Distribuição simulada de diferentes espécies de citrato em função do pH. Imagem com as curvas de distribuição das diferentes moléculas do citrato.	48
FIGURA 5.8 - Polimerização do PMMA por reação de adição.....	50
FIGURA 5.9 - Gravimetria para determinar a quantidade de prata presente em um volume de colóide de prata.....	52
FIGURA 5.10 - FT-Raman das amostras de PMMA e de seus nanocompósitos.....	53
FIGURA 5.11 - Possível mecanismo de incorporação de nanopartículas de prata em matriz polimérica de PMMA.....	55
FIGURA 5.12 - Micrografias da fratura nas amostras: A) PMMA, B) PMMA-Ag-0,05%, C) PMMA-Ag-0,5% e D) PMMA-Ag-5%.	56
FIGURA 5.13 - Espectros de ¹³ C de RMN em estado sólido do PMMA e de seus nanocompósitos.	57
FIGURA 5.14 - Molhabilidade superficial do material polimérico e de seus nanocompósitos.	58
FIGURA 5.15 - Ângulos de contato de líquidos com superfícies sólidas: (a) superfície molhante; (b) predominantemente molhante; (c) e (d) não molhantes.....	59
FIGURA 5.16 - Molhabilidade das superfícies das amostras de PMMA e seus nanocompósitos no transcorrer de 60 segundos.....	60
FIGURA 5.17 - Curvas termogravimétricas e suas derivadas das amostras de PMMA e de seus nanocompósitos.....	61

FIGURA 5.18 - Mecanismo de degradação do PMMA.....	62
FIGURA 5.19 - Degradação do PMMA: (A) Cisão aleatória da cadeia; (B) despolimerização dos radicais livres.	63
FIGURA 5.20 - Estabilidade térmica da matriz polimérica e de seus nanocompósitos.	64
FIGURA 5.21 - Micrografias de <i>Hot Stage</i> e análise termogravimétrica em atmosfera oxidativa do PMMA e de seus nanocompósitos.	66
FIGURA 5.22 - Curva DSC do PMMA e de seus nanocompósitos.	67
FIGURA 5.23 - Espectro de massa dos produtos voláteis gerado com a pirólise. A) PMMA, B) PMMA-Ag 0,05%, C) PMMA-Ag 0,5% e D) PMMA-Ag 5%.	69
FIGURA 5.24 - Processo de clivagem do metacrilato de metila.....	70
FIGURA 5.25 - DMTA do PMMA e de seus nanocompósitos. A: Módulo de Armazenamento; B: Módulo de perda e C: $\tan \delta$	71
FIGURA 5.26 - Representação esquemática do movimento molecular na relaxação secundária do PMMA.	72
FIGURA 5.27 - Valores de T_g obtidos pelas técnicas de DMTA e DSC.	73
FIGURA 5.28 - Teste de dureza para o PMMA e seus nanocompósitos.	74
FIGURA 5.29 - Ensaio mecânico de flexão de 3 pontos do PMMA e de seus nanocompósitos.	76
FIGURA 5.30 - Absorbâncias médias por cm^2 obtido por medida de CV no PMMA e seus nanocompósitos.....	78
FIGURA 5.31 - Absorbâncias médias por cm^2 obtido por ensaios de XTT no PMMA e seus nanocompósitos.....	79
FIGURA 5.32 – Valores médios do logaritmo de colônias formadas por cm^2 para o PMMA e seus nanocompósitos.	80

FIGURA 5.33 Micrografias das superfícies das resina acrílicas contendo o fungo *C.glabrata* incubado por 24h. A) PMMA; B) PMMA-Ag-0,05%; C) PMMA-Ag-0,5%; D) PMMA-Ag-5%.....81

RESUMO

EFEITO DA INSERÇÃO DE NANOPARTÍCULAS SINTÉTICAS PREPARADAS POR ROTA COLOIDAL EM MATRIZ ACRÍLICA COMERCIAL DE USO ODONTOLÓGICO. Resinas acrílicas são muito empregadas na odontologia para restaurações dentárias e na confecção de próteses. Novas composições de resinas acrílicas têm sido desenvolvidas por meio da incorporação de nanopartículas de prata devido ao potencial antimicrobiano. No presente estudo, nanopartículas de prata foram sintetizadas e empregadas na preparação de nanocompósitos com polimetacrilato de metila (PMMA). Os nanocompósitos PMMA-Ag foram sintetizados e caracterizados por técnicas estruturais, térmicas, mecânicas e biológicas, visando avaliar a influência dessas nanopartículas nas propriedades físico-químicas dos novos materiais formados. Os nanocompósitos PMMA-Ag foram sintetizados com a adição de 0,05, 0,5 e 5% (l/l) de nanopartícula de prata no polímero durante a fase plástica. As possíveis interações entre as nanopartículas e a matriz polimérica, se deram provavelmente por meio dos íons carboxilatos, que resultaram em um ganho na estabilidade térmica devido ao efeito de barreira que retarda a degradação dos nanocompósitos. Os nanocompósitos apresentaram uma distribuição heterogênea de partículas esféricas na matriz polimérica. Os testes mecânicos mostraram que os nanocompósitos apresentaram menores valores de módulos de perda, de armazenamento, $\tan \delta$, característicos de materiais que apresentam uma interação interfacial entre as nanopartículas inorgânicas com a matriz polimérica. Os ensaios mecânicos de dureza resistência à flexão de 3 pontos mostraram que estatisticamente não há diferença entre os nanocompósitos frente à matriz polimérica. Os testes microbiológicos de adesão do PMMA e de seus nanocompósitos frente ao *Candida glabrata* mostram que o nanocompósito PMMA-Ag-0,05% apresentou maior atividade fungicida.

ABSTRACT

EFFECT OF THE INSERTION OF SYNTHETIC NANOPARTICLES PREPARED BY COLLOIDAL ROUTE IN A COMMERCIAL ACRYLIC MATRIX OF DENTAL USE.

Acrylic resins are very used in dentistry to dental restorations and manufacture of prostheses. New compositions of acrylic resin have been developed through the incorporation of silver nanoparticles due to the antimicrobial potential. In this study, silver nanoparticles were synthesized and employed in the preparation of nanocomposites with polymethylmethacrylate (PMMA). PMMA-Ag nanocomposites were synthesized and characterized by structural, thermal, mechanical and biological techniques in order to evaluate the influence of these nanoparticles on the physicochemical properties of the new formed materials. PMMA-Ag nanocomposites were synthesized with the addition of 0.05, 0.5 and 5% (l/l) of silver nanoparticles in the polymer during the plastic phase. Possible interactions between nanoparticles and polymeric matrix occurred through the carboxylate ions, resulting in a gain in the thermal stability due to the barrier effect, which slows down the degradation of nanocomposites. The nanocomposites showed a heterogeneous distribution of spherical particles in the polymeric matrix. The mechanical tests showed the nanocomposites presented low storage modulus, loss modulus and $\tan \delta$ values, which are characteristic of materials which exhibit an interfacial interaction between inorganic nanoparticles with polymer matrix. Clinically, the nanocomposites can be applied in dentistry, according to the normative American Dental Association (1958), through its specification No. 12 and ISO 4049, which evaluate the mechanical properties of dental materials. These results showed statistically are not difference between nanocomposites and the polymeric matrix. The microbiological adhesion test of PMMA and its nanocomposites to combat *Candida glabrata* revealed the nanocomposite with a lower percentage of colloidal solution have higher fungicide activity.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 2 – REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 - Uma Abordagem Histórica Sobre Nanotecnologia.....	3
2.2 - Nanopartículas de Prata	4
2.3 - Nucleação e Crescimento de Partículas	7
2.4 - Métodos de Síntese de Nanopartículas	12
2.5 - Poli(metacrilato de Metila) (PMMA)	14
2.6 - Nanocompósitos Poliméricos.....	16
CAPÍTULO 3 – OBJETIVOS.....	21
CAPÍTULO 4 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	22
4.1 - Reagentes e Equipamentos.....	22
4.2 - Síntese de Nanopartículas de Prata	24
4.3 - Preparação e Inclusão dos Espécimes.....	25
4.4 - Preparação do PMMA e dos Nanocompósitos de Poli(metacrilato de metila)-Prata (PMMA-Ag).....	27
4.5 - Caracterização das Nanopartículas de Prata, PMMA e dos Nanocompósitos (PMMA-Ag).....	30
4.5.1 - Caracterização das Nanopartículas de Prata	31
4.5.1.1 - Espectroscopia de UV- Vis	31
4.5.1.2 - Difração de raios X	31
4.5.1.3 - Microscopia Eletrônica de Transmissão	32
4.5.1.4 - Espalhamento Dinâmico de Luz	32

4.5.1.5 -	Medição de Potencial Zeta.....	32
4.5.2 -	Caracterização dos Nanocompósitos de PMMA-Ag.....	32
4.5.2.1 -	Espectroscopia de Espalhamento Raman	33
4.5.2.2 -	Microscopia Eletrônica de Varredura	33
4.5.2.3 -	Ressonância Magnética Nuclear em Estado Sólido .	33
4.5.2.4 -	Medição de Ângulo de Contato.....	33
4.5.2.5 -	Análise Termogravimétrica	34
4.5.2.6 -	Microscopia Óptica <i>Hot Stage</i>	34
4.5.2.7 -	Calorimetria Diferencial de Varredura.....	34
4.5.2.8 -	Cromatografia em Fase Gasosa – Espectrometria de Massa	35
4.5.2.9 -	Análise Termodinâmica-Mecânica	35
4.5.2.10 -	Ensaio de Dureza	35
4.5.2.11 -	Ensaio Mecânico de Resistência à Flexão de 3 Pontos.....	36
4.5.2.12 -	Avaliação Microbiológica do PMMA e de seus Nanocompósitos Frente ao Fungo <i>Candida glabrata</i>	36
4.5.2.12.1 -	Ensaio do Cristal Violeta	36
4.5.2.12.2 -	Ensaio de XTT	37
4.5.2.12.3 -	Ensaio de Contagem de Unidades Formadoras de Colônias.....	37
CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO		38
5.1 -	Síntese das Nanopartículas de Prata.....	38

5.2 - Caracterização Estrutural do PMMA e de seus Nanocompósitos....	48
5.3 - Caracterização Térmica do PMMA e de seus Nanocompósitos	61
5.4 - Caracterização Mecânica do PMMA e de seus Nanocompósitos....	74
5.5 - Avaliação Microbiológica do PMMA e de seus Nanocompósitos Frente ao Fungo <i>Candida glabrata</i>	77
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES.....	83
CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

Nos anos 80, o avanço tecnológico na área de ciências dos materiais impulsionou a pesquisa e o desenvolvimento de uma classe de materiais, conhecida como nanocompósitos poliméricos ¹⁻³. O uso de nanopartículas metálicas em matrizes poliméricas promoveu o desenvolvimento de novos materiais com aplicações em vários campos industriais ⁴.

Nanopartículas metálicas apresentam propriedades físico-químicas únicas devido ao aparecimento de níveis discretos de energia em sistemas com dimensões nanométricas ⁵⁻⁷. Em especial, as nanopartículas de prata têm despertado um grande interesse científico devido a sua ação antimicrobiana através de sua interação com enzimas, proteínas ou ácido desoxirribonucléico (DNA) ⁸.

A ação antimicrobiana é característica do íon prata (Ag^+) e está relacionada com a formação de ligações químicas, como os grupamentos tiois ($-\text{SH}$) presente nos aminoácidos⁹, causando desregulação em sua permeabilidade, o que acarreta na morte da célula microbiana ^{10,11}. Os íons Ag^+ também podem interagir com o DNA impedindo sua reprodução celular.

Nanopartículas de prata revestidas em matriz polimérica aumentam a eficiência na ação antimicrobiana com uma libertação controlada de Ag^+ . A combinação de prata com material polimérico reduz a transmissão de agentes infecciosos ¹². MONTEIRO et al., 2009 ¹³, mostraram que nanopartículas de prata ao serem adicionadas ao poli(metacrilato de metila) (PMMA) apresenta propriedade antimicrobiana, na qual é efetiva no controle de patologias bucais comuns em usuários de próteses removíveis.

As nanopartículas de prata têm sido incorporadas em diferentes polímeros para aplicações médicas e odontológicas. Particularmente, o PMMA é uma resina acrílica biocompatível popular utilizada na fabricação de próteses, devido à sua alta estabilidade química, baixo custo, fácil manuseio e por não apresentar toxicidade à saúde humana ^{14,15}. Assim, os nanocompósitos de PMMA-Ag podem ser utilizados como potenciais candidatos bactericidas para prótese dentária.

Neste estudo foram sintetizados e caracterizados materiais nanocompósitos com possível propriedade bactericida, os quais foram obtidos a

partir da incorporação de nanopartículas sintéticas de prata em uma matriz polimérica de PMMA comercial de uso odontológico.

CAPÍTULO 2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Uma Abordagem Histórica Sobre Nanotecnologia

Historicamente, o desenvolvimento e progresso das sociedades estiveram associados à sua capacidade de produzir e manipular materiais para adaptar às suas necessidades ¹⁶. A importância dos materiais na vida humana é tão significativa que as diferentes eras do início da civilização foram definidas de acordo com a relação do homem com os materiais: idade da pedra, do bronze e do ferro ¹⁷.

A medida em que progrediam as pesquisas científicas, os estudos na área de materiais foram se tornando indispensáveis, uma vez que foi possível sintetizar, caracterizar e manipular esses novos materiais de tal forma que levassem à formação de novos compostos com propriedades completamente diferentes dos materiais encontrados até então.

Nas últimas décadas, ocorreu um crescimento considerável no estudo sobre materiais em escala nanométrica, tornando-se uma das mais promissoras tecnologias mundiais ¹⁸. Esse teve seu início na década de 60 com Richard Feynman que, proferiu em sua palestra durante o encontro anual da Sociedade Americana de Física intitulada, *There's Plenty of Room at the Bottom*, que seria possível escrever o almanaque britânico na cabeça de um alfinete ¹⁹. Pode-se dizer que as questões foram lançadas com a finalidade de instigar os participantes a explorarem materiais em nível atômico e molecular. Devido a esta afirmação, iniciou-se o desenvolvimento de uma nova tecnologia, mais tarde denominada Nanotecnologia por Norio Taniguchi em 1974 ²⁰.

O progresso científico no século XX possibilitou a pesquisa, manipulação e visualização da matéria em escala atômica. O desenvolvimento dos microscópios eletrônicos foi a principal ferramenta para visualizar materiais em nanoescala. O primeiro microscópio eletrônico de varredura foi desenvolvido em 1942 e disponível apenas na década de 60. Na década de 80, a invenção do microscópio de força atômica (AFM) por Gerd Binnig e Heinrich Rohrer (IBM Zurique), em 1981, e o microscopia de varredura por tunelamento (STM) por Binnig, Quate e Gerber ²¹.

Portanto, a nanotecnologia é uma área interdisciplinar que envolve a pesquisa, desenvolvimento de novos materiais com uma de suas dimensões reduzidas ^{22,23}. As áreas de aplicação da nanotecnologia abrangem praticamente todos os setores industriais e de serviços e demanda conhecimentos multidisciplinares, baseados na física, química, biologia, ciência e engenharia de materiais, computação, entre outras áreas, que visam estender a capacidade humana de manipular a matéria até os limites do átomo ²⁴.

2.2 - Nanopartículas de Prata

Recentemente, considerável atenção tem sido dada para o uso de nanopartículas inorgânicas em vários campos tecnológicos, particularmente na bionanotecnologia ²⁵. Dentre as nanopartículas inorgânicas, as metálicas em são as mais promissoras destacando-se as de cobre, zinco, titânio, magnésio, ouro e prata ²⁶. Metais como cobre e prata, podem ser tóxicos às bactérias em baixas concentrações ²⁷⁻²⁹. Devido a esta atividade bactericida, suas nanopartículas têm sido utilizadas como agentes antimicrobianos em uma gama de atividades como na agricultura (germinação e crescimento de plantas) ³⁰, saúde (tratamento odontológico com cimentos endodônticos) ³¹, e na indústria em textil e de embalagens ³²⁻³⁴.

A prata metálica apresenta propriedades medicinais conhecidas há mais de 2000 anos ³⁵⁻³⁷. Historicamente, o nitrato de prata (AgNO_3) teve os primeiros relatos de aplicação em tratamento médico no século VIII com Gabor ³⁸. Nos séculos XVII e XVIII, AgNO_3 foi utilizado como medicamento popular no tratamento de úlcera, epilepsia e cólera ³⁹. No século XIX, este sal foi utilizado no combate do tétano e reumatismo ⁴⁰. O obstetra Carl Crede usou soluções de 0,5% de AgNO_3 para o tratamento de oftalmia neonatal ⁴¹ e o cirurgião austríaco Johann N. Rust o utilizou para prevenção de infecções no tratamento de queimadura ⁴². No início do século 20 antes do advento dos antibióticos, o AgNO_3 foi utilizado no tratamento de constipação e gonorréia ^{43,44}. Em 1940, após a descoberta da penicilina foi introduzido o uso de prata para o tratamento de infecções bacterianas ²⁶.

Em 1954 foi registrado nos Estados Unidos o uso de partículas de prata em sua forma coloidal, com potencial utilização na medicina no tratamento de feridas ⁴⁵. Em 1965, Moyer e colaboradores utilizaram com eficiência soluções com 0,5% de AgNO₃ no tratamento de queimaduras. Seus estudos concluíram que o mesmo era eficaz contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus hemolyticus* sem causar resistência devido à presença da prata ⁴⁶. Em 1968, o creme Sulfadiazina de Prata (AgSD), foi desenvolvido por Charles L. Fox Jr., associou dois agentes bactericidas utilizados no tratamento de queimaduras, criando um composto efetivo contra infecções que foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1973. O AgSD atua sobre os componentes celulares e sua ação bactericida é devido à sua ligação aos pares de bases nitrogenadas na hélice do DNA inibindo o processo de transcrição celular ⁴⁷.

O aumento da resistência bacteriana aos agentes bactericidas é considerado um grave problema de saúde pública ⁴⁸. Cada vez mais novas espécies de bactérias, tanto bactérias gram-negativas como gram-positivas se tornaram resistentes aos medicamentos dispostos no mercado exigindo o estudo e produção de novos componentes que combatam esses microrganismos ⁴⁹. Assim, os compostos de prata podem ser utilizados no combate de infecções bactericidas devido à baixa toxicidade da prata às células humanas ⁵⁰.

O efeito bactericida dos compostos de prata em microrganismos é bem conhecido, no entanto, o seu mecanismo de ação bactericida é parcialmente compreendido ⁵¹. As partículas de prata têm grande afinidade por átomos nucleofílicos como enxofre e fósforo, que são encontrados tanto nas membranas como no interior das bactérias ¹¹. As nanopartículas de prata interagem com a membrana celular desregulando o processo de respiração celular e, no interior destas, interagem com o DNA impedindo a divisão celular ⁵².

Nanopartículas de prata demonstraram que podem interagir com outros microrganismos, tais como fungos impedindo a sua adesão às células, ampliando assim sua gama de atividade antimicrobiana. Estudos mostraram a atividade antifúngica de nanopartículas de prata contra o fungo *Trichophyton mentagrophytes* e algumas espécies de *Candida* ⁵³.

Os mecanismos de ação bactericida pelos quais as nanopartículas de prata e os íons levam a morte das bactérias podem ser ^{54,55}.

- I. A nanopartícula de prata possui uma grande interação com os microrganismos devido à sua elevada área de superfície. Desta forma, essas nanopartículas atacam a superfície bacteriana penetrando no interior desses organismos levando a uma desregulação das funções vitais do microrganismo devido a alteração da fluidez da membrana aumentando a permeabilidade;
- II. As membranas bacterianas possuem proteínas cujas estruturas contém os elementos químicos enxofre e fósforo. Tanto as nanopartículas de prata quanto os íons prata podem interagir com essas proteínas inibindo as funções do DNA ao interagirem com esses elementos químicos;
- III. As nanopartículas de prata e/ou os íons prata podem atacar a cadeia respiratória na mitocôndria bacteriana e levar a célula à morte;
- IV. Nanopartículas de prata podem ter uma liberação controlada de Ag^+ uma vez dentro das células bacterianas os quais podem formar radicais livres e induzir o estresse oxidativo, reforçando sua atividade bactericida.

O mecanismo de ação bactericida das nanopartículas de prata é mostrado resumidamente na FIGURA 2.1.

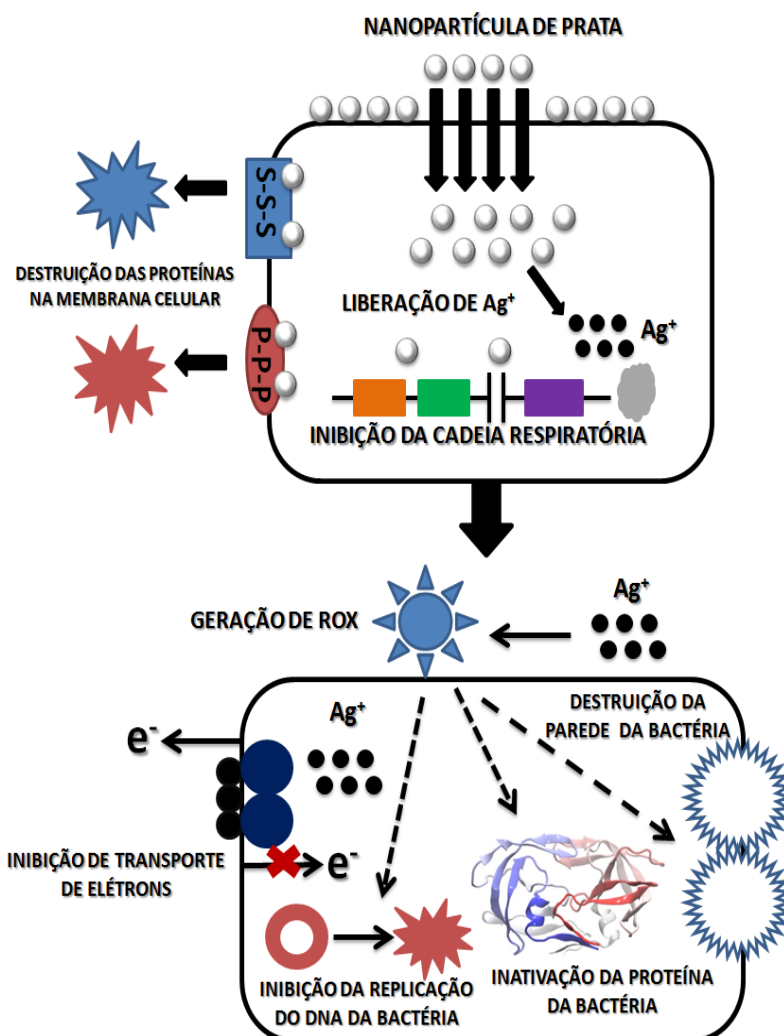


FIGURA 2.1 – Representação esquemática do mecanismo de atividade bactericida exercida pelas nanopartículas de prata.

2.3 - Nucleação e Crescimento de Partículas

Nas últimas décadas, o estudo e desenvolvimento de materiais nanométricos, teve notáveis progressos, particularmente na síntese química de materiais inorgânicos utilizando as rotas coloidais⁵⁶.

A síntese de partículas uniforme com um controle de tamanho e/ou forma é obtida através da interação de átomos ou moléculas durante o processo de

síntese em fase líquida⁵⁷. A formação de partículas coloidais em fase líquida a partir de soluções é obtida por meio do ajuste de variáveis experimentais tais como: concentração de reagentes, temperatura, pH (em soluções aquosas), presença de aditivos (tensoativos, sais, polímeros), propriedades do solvente (temperatura de ebulição, afinidade com as superfícies criadas), adição de sementes de nucleação, entre outros. A influência destes fatores durante os processos de nucleação e crescimento das partículas determinam o tamanho e/ou forma final das partículas⁵⁸.

A natureza da nanopartícula é determinada pelas etapas de nucleação e de crescimento. O processo ocorre por intermédio de colisões aleatórias e do rearranjo dos átomos a partir de uma série de fases metaestáveis até atingir um estágio termodinamicamente mais estável. Nesse momento, os átomos reduzidos no meio reacional dão origem aos *clusters*⁵⁹.

A nucleação pode ocorrer por meio da nucleação homogênea ou por uma nucleação heterogênea⁶⁰. A nucleação homogênea ocorre em materiais altamente puros, sendo que, sob condições específicas, o próprio movimento dos átomos ou moléculas resulta em seu ordenamento. O processo de ordenamento por nucleação heterogênea é catalisado pela presença de heterogeneidades, as quais podem ser as mais variadas possíveis⁶¹.

A formação de núcleos em um sistema homogêneo não é trivial, uma vez que se trata de um evento aleatório. Neste caso, os núcleos serão formados devido às variações na estequiometria local⁶². De acordo com a teoria clássica, a nucleação homogênea engloba um conjunto de eventos que resultam na formação de um núcleo de tamanho crítico da nova fase sólida⁶³.

Considerando a formação de um embrião esférico de raio r , como mostrado na FIGURA 2.2, em que a composição química não varia a barreira termodinâmica, esta transformação será o resultado da soma dos dois fatores, i) uma contribuição negativa da energia livre volumétrica por unidade de volume (ΔG_v) e ii) contribuição positiva, devida à criação de uma nova superfície da energia livre superficial específica γ .

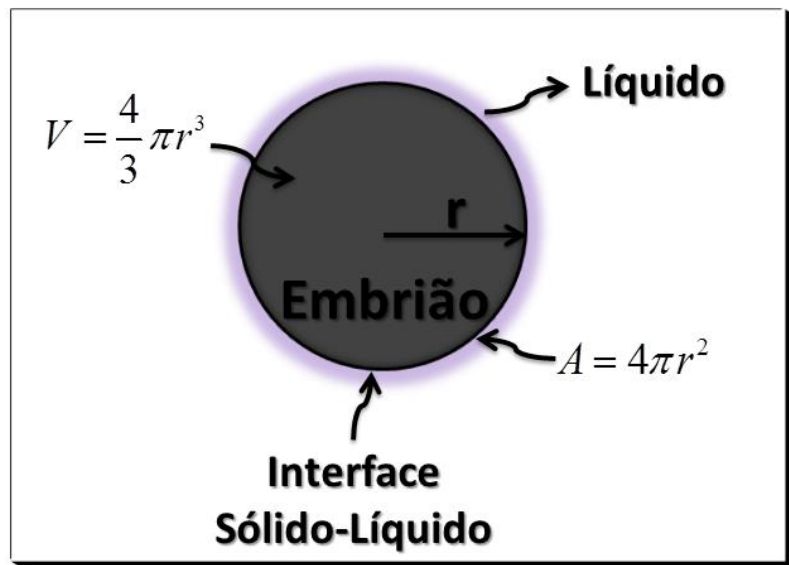


FIGURA 2.2 - Embrião cristalino de raio r .

A soma da energia livre superficial (ΔG_s) e a energia livre volumétrica (ΔG_v) para um sistema esférico pode ser dado pelas Equações 1 e 2.

$$\Delta G = \Delta G_v + \Delta G_s \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\Delta G = \frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_v + 4\pi r^2 \gamma, \quad (\text{Eq. 2})$$

Fazendo a primeira derivada da expressão igual a zero $d(\Delta G)/dr = 0$ temos o raio crítico para um núcleo estável (r_{crit}) dado pela Equação 3.

$$r_{crit} = -\frac{2\gamma}{\Delta G_v} \quad (\text{Eq. 3})$$

Uma partícula com raio igual à r_{crit} está em equilíbrio. Se tiver o raio menor que o r_{crit} , a mesma tende a redissolver já que um aumento no raio leva a um aumento na energia livre de Gibbs. Enquanto que, se tiver um raio maior que o r_{crit} , a partícula tende a crescer já que um aumento no raio induz a um decréscimo na energia livre de Gibbs. As partículas com $r < r_{crit}$ são chamadas de embriões e as com $r > r_{crit}$ são chamadas de núcleos.

Em geral, a presença de partículas, as impurezas e a superfície do recipiente que contém o líquido favorecem a diminuição da energia de ativação para a nucleação. Este tipo de nucleação sobre uma superfície é denominado de nucleação heterogênea ⁶⁴. Os cristais são formados em torno do agente nucleante, devido à molhabilidade ou afinidade química cristal/nucleante.

O modelo clássico de nucleação heterogênea assume que o núcleo sólido é formado como uma partícula de forma de um hemisfério achatado na interface líquido-sólido, como mostrado na FIGURA 2.3. De acordo com a teoria clássica, o ângulo entre o substrato e o líquido é chamado ângulo de contato. Quando um núcleo é formado sobre uma superfície sólida, há três tipos de energias interfaciais, γ_{SL} (interface sólido-líquido), γ_{LV} (interface líquido-vapor) e γ_{SV} (interface sólido-vapor) ⁶⁵.

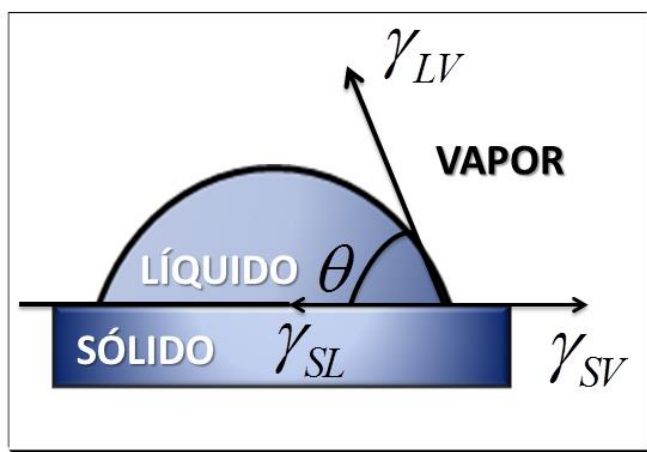


FIGURA 2.3 - Representação das energias interfaciais e ângulo de contato.

O conjunto de equações pode ser corrigido para considerar a redução da energia superficial pelo contato com outras superfícies, nas quais representa um processo de nucleação heterogênea ⁶⁶.

O ângulo de contato θ pode variar de 0° a 180° , dependendo das energias entre as interfaces. Se o ângulo de contato é próximo a 0° isto significa que o núcleo sólido apresenta uma alta molhabilidade, neste caso, a barreira de energia para a nucleação heterogênea é muito pequena. Ao contrário, se o ângulo está

próximo de 180° não existe muita diferença entre a nucleação homogênea e heterogênea.

De acordo com Xu e Johnson (2005)⁶⁷, aplicando as relações geométricas entre um *cluster* e sua superfície, pode-se considerar a diminuição da energia de ativação para nucleação pela Equação 4.

$$\Delta G_{crit,het} = \frac{\Delta G_{crit} (2 + \cos \theta)(1 - \cos \theta)^2}{4} \quad (\text{Eq. 4})$$

Aplicações práticas da Equação 4 são difíceis, pois, em muitos casos o ângulo de contato não pode ser determinado. No entanto, muitas superfícies atuam como heterogeneidade, e neste caso, o evento é facilmente identificado. A molhabilidade da superfície no meio reacional é uma evidência experimental da nucleação heterogênea⁶⁸.

A investigação dos mecanismos de precipitação de partículas coloidais com uma distribuição de tamanhos estreita (amostra “monodispersa”) data dos anos 1940, quando LaMer e Dinegar introduziram o conceito de nucleação instantânea (*burst nucleation*). Neste processo, forma-se um número elevado de núcleos primários em um intervalo de tempo curto, que crescem depois sem que ocorram nucleações posteriores. Como a formação de núcleos ocorre de forma quase simultânea, o histórico de crescimento é praticamente o mesmo, desde que devidamente controlado, permitindo obter amostras com uma distribuição estreita de tamanhos de partícula⁶⁹.

Os métodos mais comuns no controle de forma e tamanho de nanopartícula são a utilização de: surfactantes, polímeros e outros para limitar o crescimento na escala nanométrica. Estes métodos geralmente produzem partículas com formato esférico devido à baixa energia superficial associado a estas partículas. Partículas com formatos diferentes da esférica são formadas devido à interação do surfactante com as diferentes faces cristalográficas da partícula⁷⁰.

2.4 - Métodos de Síntese de Nanopartículas

A área de nanomateriais vem sendo amplamente desenvolvida nos últimos anos e inúmeros estudos foram realizados no âmbito da escala nano ⁷¹. A nanotecnologia é o estudo, desenho, criação e manipulação de materiais funcionais por meio do controle da matéria na escala nanométrica, e a sua fabricação é uma questão chave no desenvolvimento da nanotecnologia ⁷². Atualmente, o desenvolvimento de partículas uniforme e com tamanho nanométrico tem sido intensamente estudado devido a sua importância tecnológica e científica. Estes materiais nanométricos apresentam interessantes propriedades elétricas, ópticas, magnéticas, químicas, e que não pode ser obtidos pelos materiais em escala micrométrica ⁷³.

As propriedades das nanopartículas (ópticas, elétricas e magnéticas) dependem diretamente de sua composição, tamanho e forma. Para a obtenção de nanopartículas podem ser utilizadas duas rotas de síntese: *top down* e *bottom up* ⁷⁴ (FIGURA 2.4).

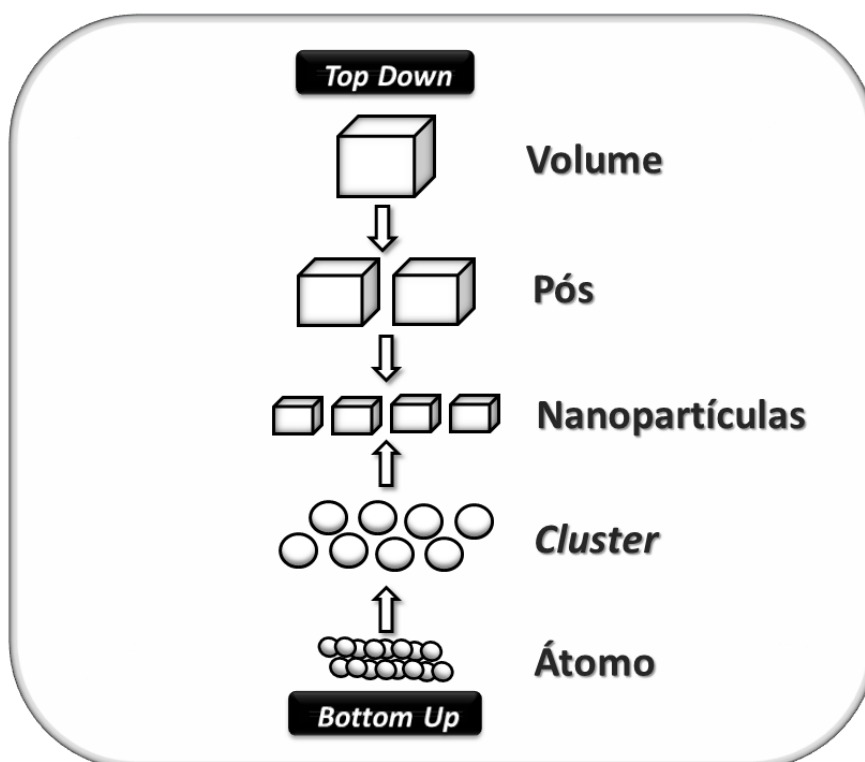


FIGURA 2.4 - Preparação de nanomateriais utilizando as técnicas *top down* e *bottom up*.

Os métodos *top down* são aqueles onde há manipulação do material em escala macro e por meio de processos físicos. Nele, quebram-se as partículas até que estejam na escala nanométrica. Atrito e moagem são exemplos de técnicas mecânicas utilizadas para obtenção de nanopartículas pelo método *top down*⁷⁵.

Apesar de ser muito utilizado industrialmente, o método *top down* apresenta limitação em termos de eficiência na redução do tamanho de partícula. Em geral, requer um longo tempo de processamento para reduzir o tamanho da partícula à limites inferiores a 100 nm⁷⁴.

Os métodos conhecidos como *bottom up* são preferidos por possibilitarem maior controle sobre o processo (maior controle de tamanho e forma, material monocristalino) e a possibilidade de obtenção de partículas em escala de tamanho muito inferior que na rota *top down*. Tais métodos são baseados em reações químicas e utilizam precursores moleculares ou atômicos para a obtenção das nanopartículas desejadas⁷⁶.

O conceito *bottom-up* foi introduzido por Richard Feynman, que imaginava a construção de dispositivos a partir de átomos ou moléculas ligados quimicamente. Assim, as nanopartículas podem ser fixadas como “blocos de construção” versáteis para a obtenção de dispositivos nanométricos, por exemplo, pela sua funcionalização com moléculas de propriedades e funções específicas, seguindo-se o seu arranjo bi ou tridimensional sobre um determinado substrato⁷⁷.

O *bottom up* se desenvolveu apenas mais tarde devido ao aparecimento de novos equipamentos que permitiram medir e manipular a matéria, à escala nanométrica, onde se podem destacar os microscópios de sonda, como a microscopia de força atômica (AFM), e também os microscópios eletrônicos de alta resolução. Assim fica claro que esta abordagem é uma estratégia promissora uma vez que abre possibilidades quase ilimitadas em relação à concepção e construção de materiais capazes de executar funções específicas. Além disso, oferece uma contribuição inestimável para uma melhor compreensão de processos que ocorrem a nível atômico e molecular⁷⁷.

2.5 - Poli(metacrilato de Metila) (PMMA)

Desde a sua descoberta no século XIX, o PMMA tem sido amplamente usado em aplicações ortopédicas, como cimento ósseo em fixação protética^{78,79} e aplicações odontológicas sendo o material mais comum na elaboração de próteses odontológicas completas⁸⁰.

O PMMA (FIGURA 2.5) também conhecido como poli(metil-2 metilpropenoato) (Nomenclatura IUPAC) é um homopolímero sintético, oriundo de técnicas de polimerização via radical livre do monômero metacrilato de metila (MMA). É classificado como um material hidrofóbico, devido à presença do grupamento metila (-CH₃), duro e rígido, mas quebradiço, com uma temperatura de transição vítrea de 105°C^{81,82}.

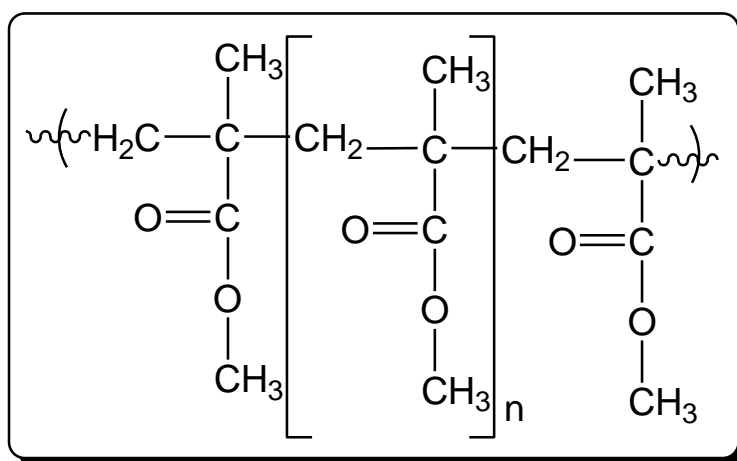


FIGURA 2.5 - Representação estrutural do PMMA.

O PMMA foi descoberto em 1902 pelo químico Otto Röhm em seu estudo de doutorado realizado pela Universidade de Tübingen na Alemanha, com a síntese de ésteres acrílicos⁸³. Em 1928, o material foi patenteado com o nome comercial de Plexiglass, tornando-se o primeiro produto acrílico comercial⁸⁴.

A síntese de acrílicos já era conhecida desde o século XIX⁸⁵ a partir da polimerização do MMA realizada entre duas placas de vidro como realizado na síntese dos acrilatos. O material se separou facilmente das placas de vidro, originando uma folha dura, transparente e incolor⁸⁶. Atualmente, a polimerização do

PMMA é obtida por meio da mistura de dois componentes sendo um líquido que contém o monômero MMA e um pó que contém o iniciador radicalar, geralmente o peróxido de benzoíla ⁸⁷.

Foi durante a Segunda Guerra Mundial que o acrílico ganhou notoriedade mundial com a aplicação pioneira nos *cockpits*, para-brisas de aviões e em submarinos ⁸⁸. A experiência em aplicações militares permitiu que outra área voltasse sua atenção para o material: a medicina ⁸⁹.

Aplicações médicas do PMMA decorrem a partir de 1951 quando Haboush utilizou o mesmo para fixação de prótese no quadril. No entanto, a primeira publicação referente ao uso do PMMA para fixação de prótese no quadril só ocorreu em 1988 ⁹⁰. Desde então, graças à compatibilidade com o tecido humano, o PMMA foi incorporado a uma extensa variedade de aplicações desde o uso médico, como lentes intra-oculares, próteses dentárias, cimento ósseo e implantes estéticos, até a composição de equipamentos hospitalares, como incubadoras. Para fins biomédicos CHAPLIN et al., (2006) ⁹¹ descreveram que as propriedades mecânicas do PMMA utilizado como restaurador ósseo implantado por um período variável entre 15 e 24 anos não exibiram deteriorização.

Resinas acrílicas a base do PMMA se tornaram o material padrão para a confecção de próteses odontológicas por serem quimicamente inertes, não apresentarem toxicidade, serem dimensionalmente estáveis e de fácil manipulação ⁹². Contudo, estes materiais podem ser colonizados e infectados por diversas bactérias e fungos, por exemplo, a *Candida albicans* e *Candida glabrata*, resultando em estomatites protéticas. O mecanismo de adesão destes microrganismos à superfície das próteses acrílicas se inicia com o transporte do microrganismo até a superfície do dispositivo protético, seguida de sua adesão, da união por interações específicas relacionadas às características físico-químicas do material e à sua rugosidade, resultando na colonização e formação do biofilme ⁹³.

A prevenção da formação do biofilme passa necessariamente pelos processos de higienização e desinfecção das próteses odontológicas, mas que são geralmente prejudicados pela falta de orientação e à diminuição da destreza manual do usuário idoso. Além das técnicas tradicionais de higienização, como a escovação, o uso de banhos de ultrassom ou de dentifrícios como soluções de hipoclorito,

peróxidos ou detergentes, novos materiais funcionais com propriedades bacterianas têm sido propostos, com destaque ao uso de nanopartículas de prata, prata e zeólitas ou mesmo titânia ¹³. Apesar de suas propriedades funcionais, esses novos materiais nanocompósitos precisam, ao menos, manter as propriedades mecânicas e físico-químicas fundamentais das resinas acrílicas comerciais desenvolvidas para fabricação de próteses, como resistência à flexão, dureza, porosidade, cor, nível de toxicidade, reatividade química, quantidade de monômeros livres e taxa de liberação de monômeros.

2.6 - Nanocompósitos Poliméricos

A nanotecnologia é uma das áreas de pesquisas que recentemente tem recebido uma considerável atenção acadêmica ⁹⁴ e muitas dessas pesquisas têm focado na busca de novos materiais que apresentem baixo custo em sua produção, boa durabilidade e especialmente baixo impacto ambiental ^{95,96}. Nesse sentido, os nanocompósitos poliméricos se destacaram nos últimos 20 anos devido às melhorias nas suas propriedades mecânicas e térmicas, baixa expansibilidade e flexibilidade de processamento ⁹⁷. Dentre as principais vantagens do uso dos nanocompósitos frente aos compósitos convencionais, está a menor massa devido à baixa adição da carga, o baixo custo devido à pequena quantidade utilizada do agente de preenchimento e diversas propriedades aumentadas ⁹⁸.

O desenvolvimento de compósitos se deu durante e após a crise do petróleo de 1973, em que para a redução do preço final do material se empregavam minerais, tais como, mica, esferas e fibras de vidro, talco e carbonato de cálcio e outros com função de cargas de enchimento na fabricação de produtos poliméricos. Esta classe de materiais começou a ser estudada na década de 80 pelo Laboratório de Pesquisa da Toyota com o desenvolvimento de nanocompósitos de nylon/montmorillonita ⁹⁹ para a fabricação de correias dentadas de automóveis ¹⁰⁰. Este material continha 5% em massa de argila, que melhorava sensivelmente as características deste material quando comparadas às da resina poliamida 6, havendo um aumento de 40% na tensão de ruptura, 68% no módulo de tração e 126% no módulo de flexão ¹⁰¹.

O termo nanocompósito foi primeiramente introduzido por KOMARNENI et al. (1992), durante o período de 1982-1983 para descrever materiais heterogêneos formados a partir de um processo sol-gel (SSG) ¹. Ele foi descrito como uma combinação de duas ou mais fases que inclui uma matriz polimérica e uma partícula nos quais uma de suas dimensões se encontra em escala nanométrica ¹⁰². As fases podem ser amorfas, semicristalinas, cristalinas, ou até mesmo uma combinação das mesmas e de natureza orgânica e inorgânica ¹. Quando combinadas, as fases podem gerar propriedades diferentes dos materiais precursores pela associação química a nível nanométrico ¹⁰³. Este comportamento sinérgico entre as fases constituintes do nanocompósito pode ser tanto positiva (resultando no aumento da intensidade de uma propriedade) quanto negativa (com redução da mesma). O benefício de se inibir ou intensificar uma dada variável depende do tipo de aplicação que se espera dar a este novo material ¹⁰⁴.

De acordo com CAMARGO et al., (2009)¹⁰⁵ os nanocompósitos podem ser classificados de acordo com a matriz do material em três diferentes categorias como mostrada na TABELA 2.1:

- Nanocompósitos de matriz metálica;
- Nanocompósitos de matriz cerâmica;
- Nanocompósitos de matriz polimérica.

TABELA 2.1 - Diferentes tipos de nanocompósitos.

Classe	Exemplos
Metal	Fe-Cr/Al ₂ O ₃ , Ni/Al ₂ O ₃ , Co/Cr, Fe/MgO, Al/CNT, Mg/CNT
Cerâmica	Al ₂ O ₃ /SiO ₂ , SiO ₂ /Ni, Al ₂ O ₃ /TiO ₂ , Al ₂ O ₃ /SiC, Al ₂ O ₃ /CNT
Polímero	Polímero termoplástico, polímero/silicatos, poliéster/TiO ₂

Na síntese de nanocompósitos busca-se uma distribuição uniforme das cargas na matriz polimérica e uma boa adesão na interface dos dois componentes.

De acordo com ESTEVES et al.,(2004)¹⁰⁶ a preparação de nanocompósitos (FIGURA 2.6) pode seguir três rotas:

- I. Síntese das nanopartículas *in situ*: A síntese das cargas envolve métodos químicos de preparação controlada de sólidos inorgânicos. Os materiais preparados segundo esta estratégia apresentam, geralmente, ligações químicas entre os componentes, o que resulta em materiais híbridos mais homogêneos e com maior consistência. Os principais métodos para preparar nanocompósitos por síntese das cargas *in situ* são: método sol-gel e síntese na presença de materiais estruturantes.
- II. Polimerização da matriz *in situ*: As propriedades de um nanocompósito são, geralmente, determinadas pela matriz que, neste caso particular, é um material polimérico. Os polímeros constituem um excelente suporte para as nanopartículas, protegendo-as da degradação física/química e facilitando a sua manipulação/processamento. A síntese controlada do polímero na presença de nanopartículas inorgânicas possibilita um controle rigoroso sobre as propriedades físico-químicas da matriz. Permite ainda obter uma boa dispersão das cargas, originando nanocompósitos homogêneos de fácil processamento e baixo custo de produção.
- III. A mistura de componentes: este método tem sido o mais usado na preparação de compósitos, principalmente em nanocompósitos em que as cargas são estruturas lamelares ou em camadas. As pequenas lamelas de compostos inorgânicos (*montmorilonite*) com dimensões tipicamente nanométricas são geralmente hidrofílicas, e antes de serem dispersas na matriz polimérica, têm de ser quimicamente modificadas para que se tornem compatíveis com os polímeros.

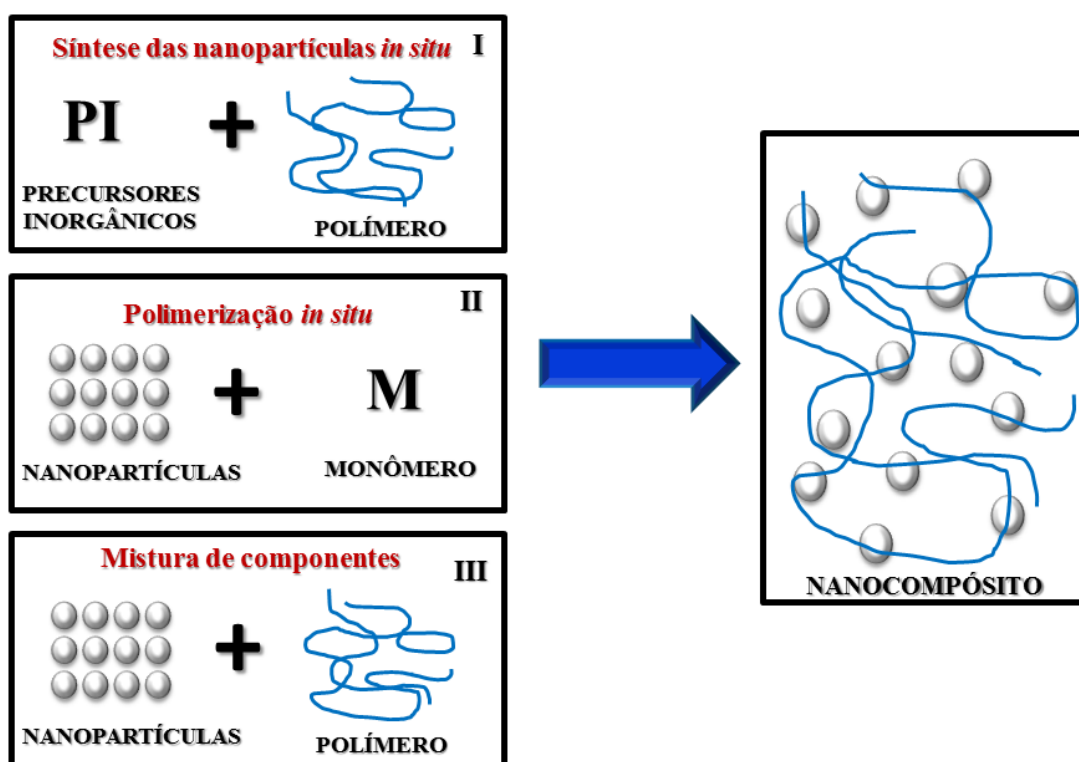


FIGURA 2.6 - Estratégias de síntese de nanocompósitos: I) síntese das partículas *in situ*; II) polimerização da matriz *in situ*; III) mistura de componentes.

A literatura tem reportado um grande número de aplicações para os nanocompósitos, tais como:

- Medicina: desenvolvimento de tendões e ligamentos a partir da incorporação de hidroxiapatita em poliésteres biodegradáveis tais como, ácido polilático (PLA);
- Odontologia: desenvolvimento de próteses odontológicas total contendo nanopartículas que apresentam potencial bactericida como, Au, Ag, Ni ou Cu para inibir o crescimento do fungo *Candida albicans* e *Candida glabrata* que comumente causam candidíase oral em usuários de próteses total ¹⁰⁷;
- Optoeletrônica: desenvolvimento de LEDs a partir da incorporação de sílica ou alumina que contém nanoporos que são preenchidos com polímeros conjugados ¹⁰⁸;
- Dispositivos magnéticos em específico com a utilização de ferritas como a magnetita (Fe_3O_4) e maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) que são utilizadas no combate ao

câncer com o tratamento por hipertermia e liberação controlada de fármacos¹⁰⁹,

- Tintas e revestimentos com a utilização do nanocompósito de poliestireno com sílica¹¹⁰.

CAPÍTULO 3 – OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi realizar a síntese, desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas dos nanocompósitos obtidos a partir da incorporação de nanopartículas de prata em matriz acrílica comercial de uso protético.

Desta forma, é possível definir os seguintes objetivos específicos:

- Obter nanopartículas de prata sintetizadas pelo método de Turkevich em diferentes temperaturas (80, 85 e 90°C) com tamanho controlado e estreita distribuição do diâmetro das partículas;
- Caracterizar as nanopartículas de prata frente suas propriedades ópticas, estrutura cristalina e morfológica e avaliar a estabilidade coloidal em função do pH;
- Obter o material polimérico a partir da termopolimerização da resina acrílica comercial de uso odontológico bem como seus nanocompósitos de PMMA-Ag a partir da mistura de nanopartículas de prata na resina acrílica nas proporções de 0,05%, 0,5% e 5% (estudo prévio realizado pelo grupo de pesquisa) de volume de nanopartícula de prata em relação ao volume de monômero;
- Caracterizar o material polimérico e seus nanocompósitos quanto à sua estruturação química, térmica, mecânica e biológica.

CAPÍTULO 4 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 - Reagentes e Equipamentos

Os reagentes utilizados nas sínteses de nanopartículas de prata e dos nanocompósitos estão listados na TABELA 4.1 e os equipamentos utilizados para as caracterizações estão listados na TABELA 4.2.

TABELA 4.1 - Fórmula química, fabricante e grau de pureza dos reagentes utilizados.

Reagente	Fórmula Química	Fabricante e Grau de Pureza
Ácido Nítrico	HNO_3	Synth 65%
Cera Utilidade	Hidrocarbonetos, óleo mineral, corante	Polidental
Citrato de Sódio	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Synth 99%
Gesso Pedra Tipo I	$\text{CaSO}_4 + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$	Novelli 98,4%
Hidróxido de Amônio	NH_4OH	Synth 27%
Nitrato de Prata	AgNO_3	Sigma Aldrich 99%
Resina Acrílica Lucitone para Base Protética		Dentsply Ind. E Com. Ltda

TABELA 4.2 - Marca e modelo dos equipamentos utilizados.

Equipamento	Marca	Modelo
Analizador Termodinâmico-Mecânico	DMA 2980	TA Instruments Q800
Analizador Termogravimétrico	NETSCH	TG 209 F1
Calorímetro Diferencial de Varredura	NETSCH	DSC 204
Controlador de Temperatura	IKA	ETS-D5
Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massa	Shimadzu	GC-2010
Difrátometro de Raios-x	Shimadzu	XRD 6000
Espectrofotômetro de UV-Vis	Jasco	V-660
Espectrômetro de FT-Raman	Bruker	RFS100/S
Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear	Bruker	Avance III
Máquina universal de ensaio de tração	DL-1000,	EMIC
Medidor de Ângulo de Contato	Contact Angle	OCA
Microscópio Eletrônico de Transmissão em Alta Resolução	FEI TECNAI	F20
Microscópio Eletrônico de Varredura	Philips	XL30 Series
Mufla Metálica	DCL no 6	Dentária Campineira Ltda
Placa com Controle de Temperatura	IKA	C-MAG HS7
Prensa Hidráulica	Essence dental	VH6
Vibrador de Gesso	Essence dental	VH Gold Line

4.2 - Síntese de Nanopartículas de Prata

As partículas de prata foram sintetizadas pelo método de Turkevich, utilizando a metodologia descrita por GORUP et al., (2011)¹¹¹. O método consiste na redução da prata na solução de nitrato de prata (AgNO_3) com a adição de citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) com relações molares de 1:3, respectivamente.

Em um béquer com capacidade volumétrica de 250 mL, foram adicionadas 100,0 mL de água deionizada e aquecida sob agitação constante até a temperatura de 90°C . Em seguida, foram adicionados 1,0 mL da solução de AgNO_3 ($0,1\text{ mol.L}^{-1}$) e posteriormente adicionou-se 1,0 mL de solução de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ($0,3\text{ mol.L}^{-1}$). A mistura foi mantida sob temperatura controlada de 90°C por aproximadamente 12 minutos até o aparecimento da coloração amarela, que evidencia qualitativamente a formação de partículas de prata. Após o aparecimento da coloração amarela, adicionou-se 1,0 mL de solução de amônia ($1,4\text{ mol.L}^{-1}$). A FIGURA 4.1 mostra o processo de obtenção de partículas de prata em meio aquoso.

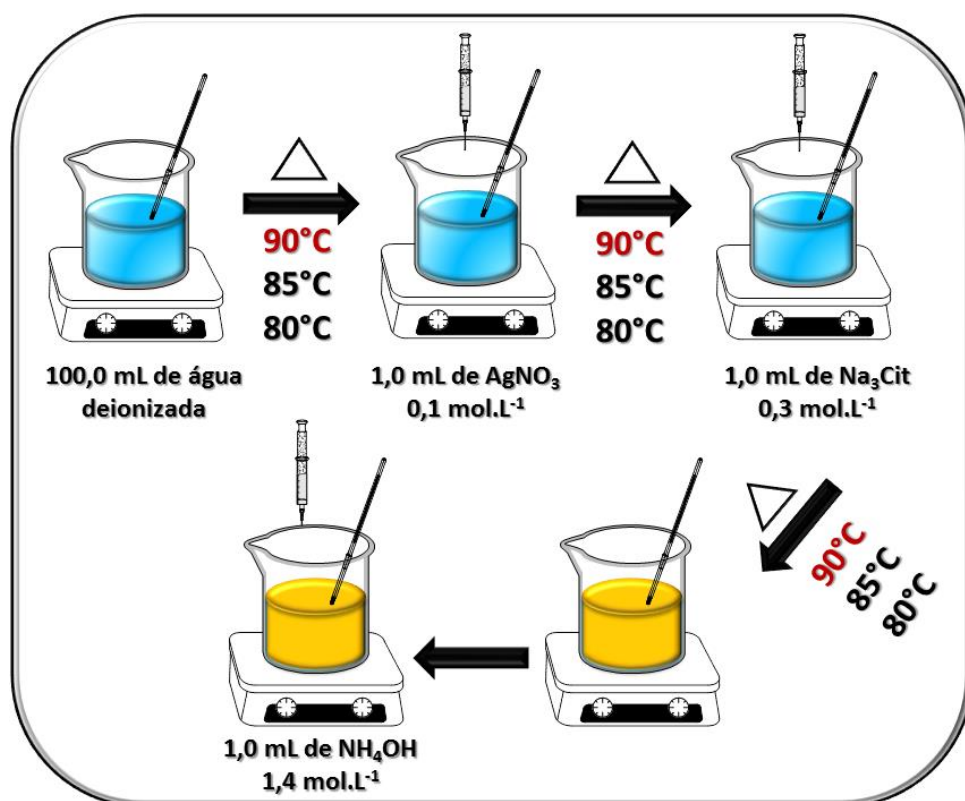


FIGURA 4.1 – Representação esquemática da síntese de partículas de prata em meio aquoso.

Para avaliar a influência da variável temperatura no processo de síntese e no tamanho das partículas de prata, foram realizados ensaios variando a temperatura em 85 e 80°C.

4.3 - Preparação e Inclusão dos Espécimes

Os espécimes foram preparados utilizando a metodologia descrita por SODAGAR et al., (2012)¹¹². Para a padronização dos espécimes, os mesmos foram obtidos em uma matriz metálica com medidas compatíveis ao do futuro corpo de prova (60 mm de comprimento, 10 mm de largura e 3 mm de espessura).

O molde metálico foi preenchido com cera utilidade liquefeita. Depois do resfriamento da cera foi realizada a adaptação da contra-mufra metálica de uso odontológico, preenchendo a mesma com gesso pedra tipo I e à deixando secar as condições ambientes por aproximadamente 12 horas. A FIGURA 4.2 mostra os processos de preparação de preenchimento do molde com cera utilidade e inclusão do mesmo no gesso pedra tipo I.

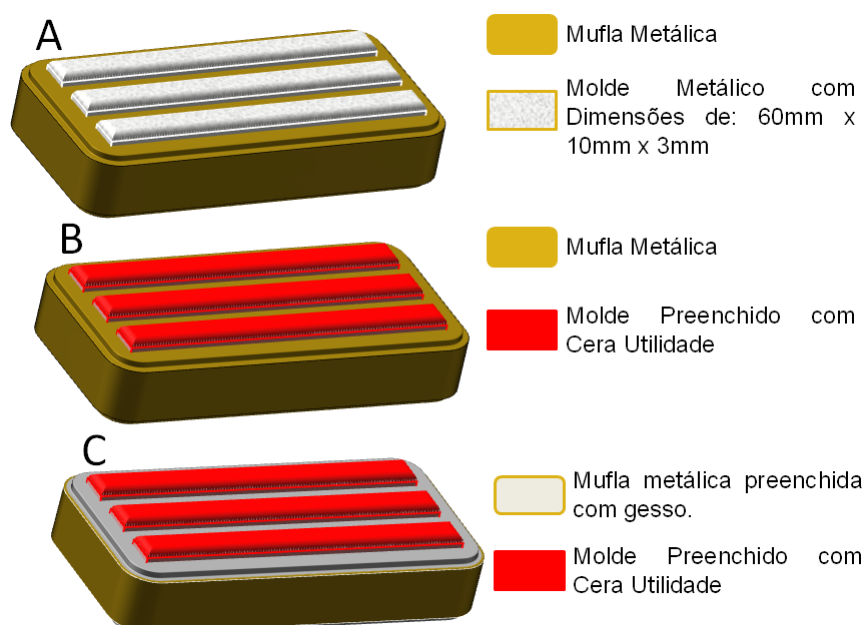


FIGURA 4.2 - Representação esquemática da mufla metálica com molde metálico; B) molde metálico preenchido com cera utilidade; C) encaixe do molde preenchido com cera no gesso pedra tipo I.

A tampa da mufla metálica foi então preenchida com gesso pedra tipo I e posicionada e o conjunto foi levado para uma prensa hidráulica com uma carga de 1 tonelada para eliminação dos excessos de gesso pedra tipo I por 1 hora (FIGURA 4.3) e novamente o conjunto mufla metálica e contra-mufla metálica foi mantido em condições ambientes para a secagem do gesso pedra tipo I.

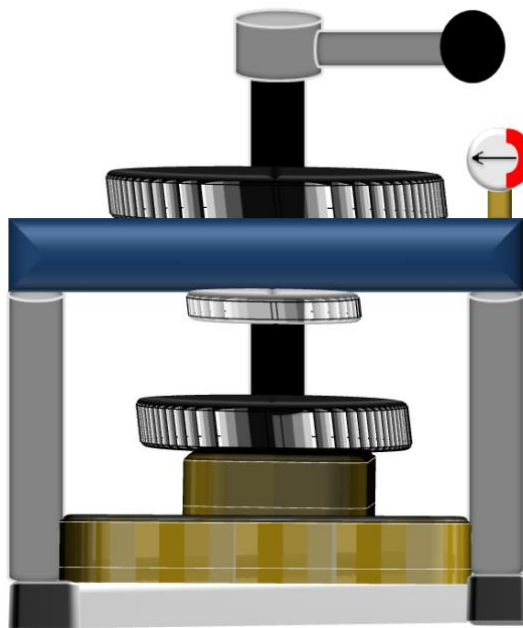


FIGURA 4.3 - Conjunto metálico de mufla e contra-mufla para remoção do excesso de gesso pedra tipo I.

Após a secagem do gesso pedra, o conjunto mufla metálica e contra-mufla metálica foi aberto e a cera utilidade foi removida do interior dos moldes com o auxílio de espátula. A superfície da placa metálica e do molde foi limpa com acetona. A FIGURA 4.4 mostra resumidamente o processo de remoção da cera utilidade no molde.

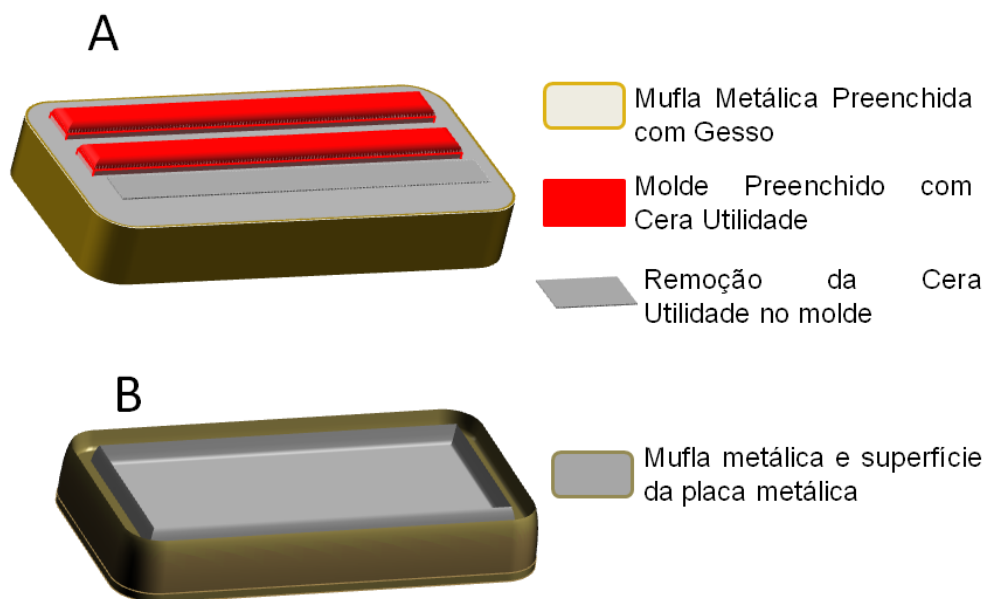


FIGURA 4.4 - A) Remoção da cera utilidade do interior dos moldes; B) Interior da placa metálica.

4.4 - Preparação do PMMA e dos Nanocompósitos de Poli(metacrilato de metila)-Prata (PMMA-Ag)

A resina acrílica para base protética *Lucitone 550* foi preparada de acordo com as instruções do fabricante. Para cada espécime utilizou-se uma razão de 2,1 gramas de pó (que contém o iniciador radicalar peróxido de benzoíla) para 1,0 mL de líquido (que contém a unidade monomérica MMA). Em um pote de mistura de vidro foi colocado o *Lucitone 550* líquido e posteriormente adicionado o *Lucitone 550* em pó. Os componentes da resina acrílica na forma líquida e em pó foram misturados vagarosamente com uma espátula e esperou-se que a mistura alcançasse a forma plástica.

Ao atingir a fase plástica, a resina acrílica foi condensada no interior dos moldes metálicos incluídos em gesso pedra tipo I no interior de mufla metálica. Em seguida, a resina foi submetida a uma prensagem uniaxial com carga de 1 tonelada por 30 minutos. Os espécimes foram, então, polimerizados em banho de água quente por 1,5 horas a 73°C seguidos de 30 minutos a 100°C. Após a

termopolimerização, a mufla foi resfriada sobre bancada e os espécimes foram removidos. A FIGURA 4.5 mostra o processo de preparação do PMMA.

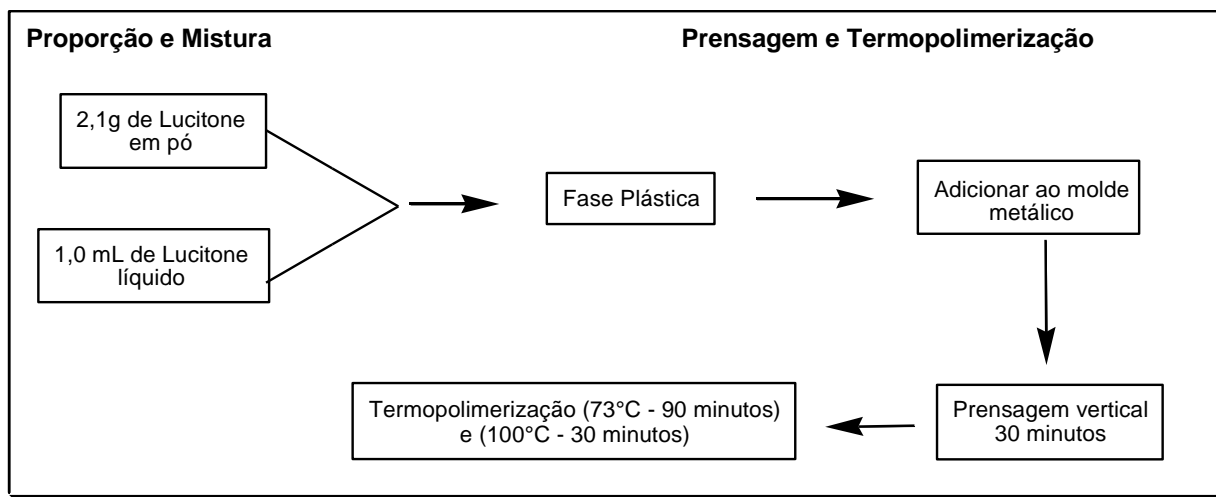


FIGURA 4.5 - Processo de preparação do PMMA.

Os compósitos foram preparados usando a mesma metodologia com as concentrações de nanopartículas de prata descrita por MONTEIRO et al., (2012)¹¹³. A solução contendo as partículas de prata foi adicionada ao componente líquido da resina acrílica nas concentrações mostradas na TABELA 4.3. Às concentrações foram baseadas no volume do líquido Lucitone 550 (1,0 mL). A mistura entre o líquido e o pó foi feita vagarosamente e esperou-se até que a mesma atingisse a forma plástica.

TABELA 4.3 - Identificação e porcentagem de adição de partículas de prata na resina acrílica.

Identificação	Porcentagem de partículas de prata na matriz polimérica	Código
Matriz polimérica de PMMA	0%	PMMA
Partícula de prata incorporada na matriz polimérica de PMMA	0,05%	PMMA-Ag-0,05%
Partícula de prata incorporada na matriz polimérica de PMMA	0,5%	PMMA-Ag-0,5%
Partícula de prata incorporada na matriz polimérica de PMMA	5%	PMMA-Ag-5%

Ao atingir a fase plástica, a resina acrílica foi condensada no interior dos moldes metálicos incluídos em gesso pedra tipo I no interior de mufla metálica. Em seguida, a resina foi prensada em uma prensa hidráulica com carga de 1 tonelada por 30 minutos. Os espécimes foram, então, polimerizados em banho de água quente por 1,5 horas a 73°C seguidos de 30 minutos a 100°C. Após a polimerização, a mufla foi resfriada sobre bancada e os espécimes desincluídos. A FIGURA 4.6 mostra o processo de preparação dos nanocompósitos.

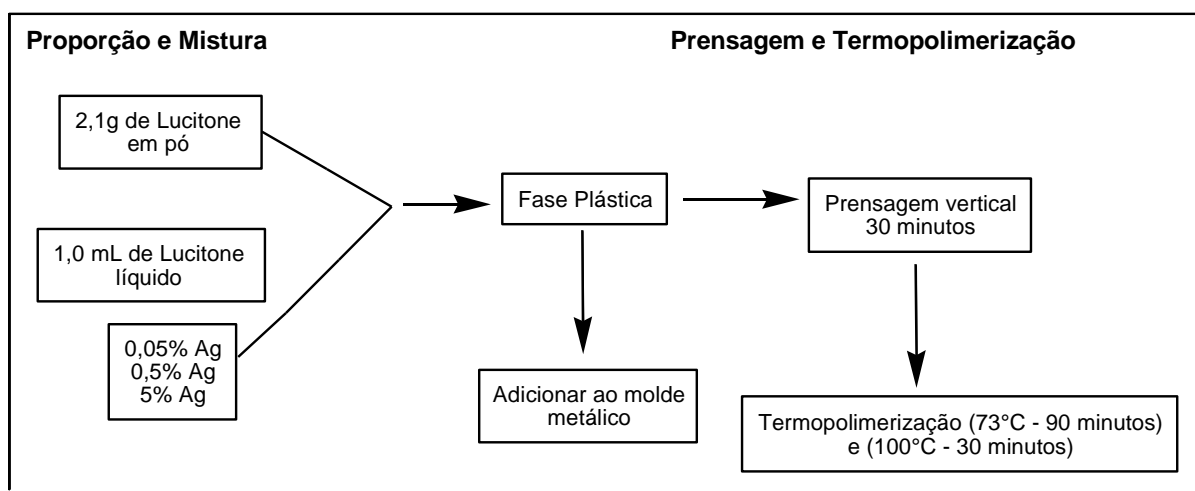


FIGURA 4.6 - Preparação dos nanocompósitos de PMMA-Ag em diferentes concentrações.

4.5 - Caracterização das Nanopartículas de Prata, PMMA e dos Nanocompósitos (PMMA-Ag)

As amostras obtidas foram caracterizadas por: espectrofotometria de UV-Vis, difratometria de raios X (DRX), microscopia eletrônica de transmissão, espalhamento dinâmico de luz (DLS), medição de potencial zeta, espectroscopia de espalhamento Raman (FT-Raman), microscopia eletrônica de varredura (MEV), Ressonância Magnética Nuclear em Estado Sólido (ss-RMN), medição de ângulo de contato, análise termogravimétrica (TGA), microscopia óptica *Hot Stage*, calorimetria diferencial de varredura (DSC), cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massas (CG-MS), análise termodinâmica e mecânica (DMTA), ensaio mecânicos de dureza e ensaio mecânico de resistência à flexão de 3 pontos.

4.5.1 - Caracterização das Nanopartículas de Prata

4.5.1.1 - Espectroscopia de UV- Vis

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível das soluções coloidais de prata foram obtidos a partir da solução aquosa em um espectrofotômetro (Jasco V-660) na região de 300 nm a 800 nm utilizando-se cubetas de quartzo de 1 cm de caminho ótico e água como líquido padrão.

4.5.1.2 - Difração de raios X

A DRX foi utilizada para a caracterização da estrutura cristalina e para estimativa do tamanho médio das partículas de prata. Os difratogramas de raio X foram obtidos de amostras na forma de pó. Utilizou-se o equipamento Shimadzu modelo XRD 6000, com fonte de radiação CuK_α ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$), voltagem de 30 kV e corrente de 30 mA. As medidas foram feitas em varredura contínua no intervalo de $35^\circ \leq 2\theta \leq 85^\circ$, a uma velocidade de varredura de $0,2^\circ \cdot \text{min}^{-1}$.

A identificação estrutural das amostras analisadas foi feita comparando os difratogramas obtidos com padrões tabelados disponíveis em bancos de dados “*Joint Committee on Powder Diffraction Standards – Powder Diffraction File (JCPDS - PDF)*”.

A estimativa do tamanho médio dos domínios de coerência cristalográfico (D_{DRX}) foi obtida pela determinação da largura à meia altura do pico mais intenso (FWHM: *full-width at half maximum*), aplicando a Equação de Scherrer¹¹⁴ conforme mostrada na Equação 5 :

$$D_{DRX} = \frac{0,9\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (\text{Eq. 5})$$

Neste estudo, avaliou-se o tamanho dos cristalitos das partículas de prata, a partir da largura a meia altura do pico de maior intensidade, cuja posição foi determinada previamente a partir dos dados fornecidos pelo programa computacional do equipamento.

4.5.1.3 - Microscopia Eletrônica de Transmissão

As imagens de microscopia de transmissão das nanopartículas de prata foram realizadas em um microscópio TECNAI F20, operando a 200 kV. As amostras foram depositadas em uma grade de cobre coberta com uma fina camada de carbono amorfo.

4.5.1.4 - Espalhamento Dinâmico de Luz

O espalhamento dinâmico de luz (DLS, do inglês, *dynamic light scattering*) é uma técnica utilizada para a determinação do tamanho de partículas em soluções coloidais. Para as análises de DLS, as nanopartículas foram filtradas em filtro de fluoreto de polivinilideno (PVDF) com diâmetro de poros de 0,45 µm de diâmetro, para remover partículas de poeira que poderiam interferir nas análises. As medidas de DLS foram realizadas em temperatura ambiente (25°C) usando, o equipamento Zetasizer Nanoseries da Malvern Instruments.

4.5.1.5 - Medição de Potencial Zeta

A medição de potencial zeta foi usada para determinar o potencial de superfície das nanopartículas de prata. A medida foi realizada em um Zetasizer modelo Nano Series da Malvern Instruments usando um titulador MPT-2. O pH foi ajustado para o valor desejado. As amostras foram agitadas por aproximadamente 10 minutos e após agitação, o pH de equilíbrio foi registrado e o potencial zeta das nanopartículas de prata foi medido. Em cada caso, foi realizada três medições separadas.

4.5.2 - Caracterização dos Nanocompósitos de PMMA-Ag

4.5.2.1 - Espectroscopia de Espalhamento Raman

Os espectros Raman foram obtidos utilizando um espectrofotômetro FT-Raman, da marca Bruker, modelo RFS/100/S, usando um laser de Nd:YAG com potência de 60 mW e comprimento de onda de 1064 nm, com precisão nas frequências dos modos em torno de 4 cm^{-1} , na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

4.5.2.2 - Microscopia Eletrônica de Varredura

Para esta investigação, os espécimes foram imersos por 3 minutos em nitrogênio líquido (-196°C) e fraturados (fratura criogênica). Após a fratura, os espécimes foram fixados nos porta amostras do microscópio com fita adesiva de carbono e aplicou-se tinta prata nas laterais da fratura com o intuito de se melhorar a condução dos elétrons pelas mesmas. As imagens foram obtidas usando um FEG-VP Zeiss Supra 35 (“*Field Emission Electron Guns*”).

4.5.2.3 - Ressonância Magnética Nuclear em Estado Sólido

Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance III operando em um campo magnético Oxford de 9,4 Tesla, que tem relacionada uma frequência de 400 MHz para núcleos de ^1H e 100 MHz para núcleos de ^{13}C . As amostras em estado sólido, na forma de pó, foram empacotadas em um rotor de zircônia, de 4 mm. Foram obtidos espectros de RMN de ^{13}C , utilizando o adamantano como padrão externo. Foram feitos experimentos de polarização cruzada com rotação em torno do ângulo mágico e supressão de bandas laterais (CPTOSS-*cross polarization with total sideband suppression*), utilizando um tempo de contato (p15) de 3ms, um tempo de reciclo (d1) de 3s e rotação de 5kHz.

4.5.2.4 - Medição de Ângulo de Contato

O método direto mais utilizado para medidas de ângulo de contato consta da medida do perfil da gota de líquido (água deionizada com volume de $5,0\ \mu\text{L}$) depositada sobre uma superfície sólida. Estes se referem ao método da gota

séssil. No método da gota séssil, uma gota de um líquido devidamente purificado é depositada sobre a superfície de um sólido por meio de uma micro-seringa. A gota é observada com uma lente de baixo aumento, e o ângulo de contato é medido através de um goniômetro.

4.5.2.5 - Análise Termogravimétrica

O comportamento térmico das amostras foi estudado utilizando um equipamento da marca NETZSCH modelo TG 209 F1 com razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em atmosfera dinâmica de N_2 com vazão de $20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A temperatura empregada variou de 25 à 800°C em suporte de alumina usando $10,101 \pm 1,295$ mg das amostras.

4.5.2.6 - Microscopia Óptica *Hot Stage*

O comportamento térmico dos polímeros foi complementado utilizando um microscópio de luz polarizada Leica®, modelo DM2500P, instalado no laboratório de cristalografia do Instituto de Física de São Carlos. Este microscópio contém objetivas capazes de ampliar de 40x até 630x, além de uma câmera digital acoplada e um programa computacional de captação de imagens em tempo real e uma platina de aquecimento (*Hot-Stage*) controlada por um sistema que variou automaticamente a temperatura da amostra entre a temperatura ambiente e 400°C .

4.5.2.7 - Calorimetria Diferencial de Varredura

As medidas de calorimetria diferencial de varredura dos materiais foram realizadas em um analisador termogravimétrico com varredura térmica diferencial NETZSCH modelo DSC 204 Phoenix, com taxa de aquecimento de $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ na faixa de temperatura de -100°C a 200°C sob atmosfera de N_2 .

4.5.2.8 - Cromatografia em Fase Gasosa – Espectrometria de Massa

Todas as amostras submetidas à pirólise atingindo a temperatura final de 800°C em menos de 30s por meio de um pirolisador PY-2010is. Os produtos gasosos gerados pela pirólise da amostra foram transportados pelo fluxo de gás hélio (99,999%), com fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹ até a coluna do cromatógrafo onde foram separados. O cromatógrafo de gás era constituído de uma coluna capilar revestida de polietileno glicol de 25 m x 0,32 mm d.i. (diâmetro interno) com um filme de 0,25 µm de espessura. O cromatógrafo estava acoplado ao a um espectrômetro de massa. As análises foram realizadas a uma temperatura inicial de 40°C (2min) e final de 280°C e taxa de aquecimento de 20°C.min⁻¹ e variação massa carga utilizada foi de 35-500 m/Z.

4.5.2.9 - Análise Termodinâmica-Mecânica

As propriedades dinâmico-mecânicas da resina acrílica comercial de uso odontológico e de seus nanocompósitos foram medidas em um equipamento DMA 2980, TA Instruments Q800, em uma frequência de 1 Hertz (Hz) no modo de tensão. As medidas foram realizadas com as amostras em forma de pastilhas retangulares com as dimensões de 60 mm de comprimento, 10 mm de largura e 1 mm de espessura. As varreduras ocorreram na faixa de temperatura de -100 °C até 160 °C a uma taxa de aquecimento de 2°C/min e com uma amplitude de 25 µm.

4.5.2.10 - Ensaio de Dureza

A dureza de superfície foi determinada utilizando um microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA) e o programa computacional Buehler Omni Met (Buehler, Lake Bluff, USA), carga de 25 g por 10 s. Cinco impressões, separadas entre si por uma distância de 100 µm, foram realizadas na região central de cada bloco.

4.5.2.11 - Ensaio Mecânico de Resistência à Flexão de 3 Pontos

O ensaio mecânico de resistência à flexão adotado foi o de flexão de três pontos (ISO 4049), realizado pela máquina de ensaio universal (Modelo DL-1000, EMIC Equipamentos e Sistemas LTDA.), onde os pontos de apoio eram formados de dois cilindros com 2 mm de diâmetro, localizados paralelamente à distância de 40mm entre seus centros. O terceiro ponto, confeccionado nas mesmas dimensões dos anteriores e o responsável pela aplicação da carga, encontrava-se centralizado e paralelo aos demais. O ensaio foi realizado a uma velocidade de $1\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ e carga de 5 toneladas.

4.5.2.12 - Avaliação Microbiológica do PMMA e de seus Nanocompósitos Frente ao Fungo *Candida glabrata*

Biofilmes de *Candida glabrata* (*C. glabrata*) ATCC 90030 foram formados no interior das placas de microtitulação de 24 poços (Costar, Tewksbury, EUA) que continham as amostras de resina acrílica e seus nanocompósitos. Uma alíquota de 1,0 mL da suspensão celular padronizada ($1,0 \times 10^7$ células/mL em água sabouraud com dextrose (AS) para *C. glabrata*) foi adicionada às cavidades. As placas foram incubadas sob agitação em atmosfera de O_2 à 37°C durante 48 h, em que a cada 24 h o meio (AS) foi renovado. Após o tempo de incubação, o meio (AS) foi aspirado, e cada poço lavado uma vez com 1 mL de sabouraud caldo com dextrose para remover as células não aderentes. Todos os ensaios foram realizados independentemente e em triplicata, por três vezes.

4.5.2.12.1 - Ensaios do Cristal Violeta

A biomassa total de biofilme formada foi analisada pelo método colorimétrico do cristal violeta (CV). Os biofilmes foram fixados com 1,0 mL de metanol 99%. Após 15 minutos de contato entre o biofilme e a superfície das amostras, o metanol foi removido e os poços foram secos à temperatura ambiente, e, em seguida, 1,0 mL do corante de CV (1% v/v) foram adicionados aos poços e incubou-se durante 5 min. O CV foi retirado e os poços foram lavados uma vez com

1 mL de água deionizada. Por fim, 1 mL de ácido acético (33% v/v) foram inseridos nos poços para solubilizar o corante, e a absorvência obtido foi lida num leitor de placas de microtitulação (EON Microplacas Espectrofotômetro; Bio Tek, Winooski, EUA) a 570 nm e normalizada em relação à área de poços (Abs/cm²).

4.5.2.12.2 - Ensaio de XTT

Os biofilmes formados foram submetidos ao ensaio de XTT (2,3- (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-[(fenilamina)carbonil]-2H-tetrazolium) foi utilizado para determinar a atividade metabólica dos biofilmes. Após o período de formação de biofilme, os poços foram lavados uma vez com tampão de fosfato (PBS) e incubados com 1,0 mL de uma solução contendo 150 mg de XTT/L e 10 mg de fenazina metossulfato durante 3 h no escuro, a 37°C sob agitação (120 rpm) em incubadora. Os valores de absorvência de XTT foram medidos em um comprimento de onda de 490 nm e normalizados por unidade de área dos poços (absorvência/cm²).

4.5.2.12.3 - Ensaio de Contagem de Unidades Formadoras de Colônias

Os biofilmes formados sobre os corpos de prova de resina acrílica foram removidos por sonicação a 30W durante 30 segundos com 1,0 mL de sabouraud caldo com dextrose e agitação vigorosa por vórtex por 1 min para desagregar células do biofilme. Cada suspensão de células do biofilme foi diluída em em PBS e plaqueada. Após incubação a 37 ° C durante 24-48 h foi quantificado o número total de unidades formadoras de colônias (CFUs) por unidade de área (Log₁₀ CFU/cm²) dos corpos de prova.

CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Síntese das Nanopartículas de Prata

Métodos químicos, físicos e biológicos têm sido usados para o preparo de nanopartículas de prata¹¹⁵. A redução química é o método mais utilizado na preparação de nanopartículas estáveis em sistema aquoso. Os íons Ag^+ podem ser reduzidos por substâncias orgânicas como citrato de sódio, álcoois, carboidratos, ácido tartárico, ácido ascórbico, e outros¹¹⁶. As reações descritas neste trabalho usam o AgNO_3 como material de partida, nos quais a prata foi reduzida com a adição de citrato de sódio. Este procedimento é conhecido como Método de Turkevich (Figura 5.1).

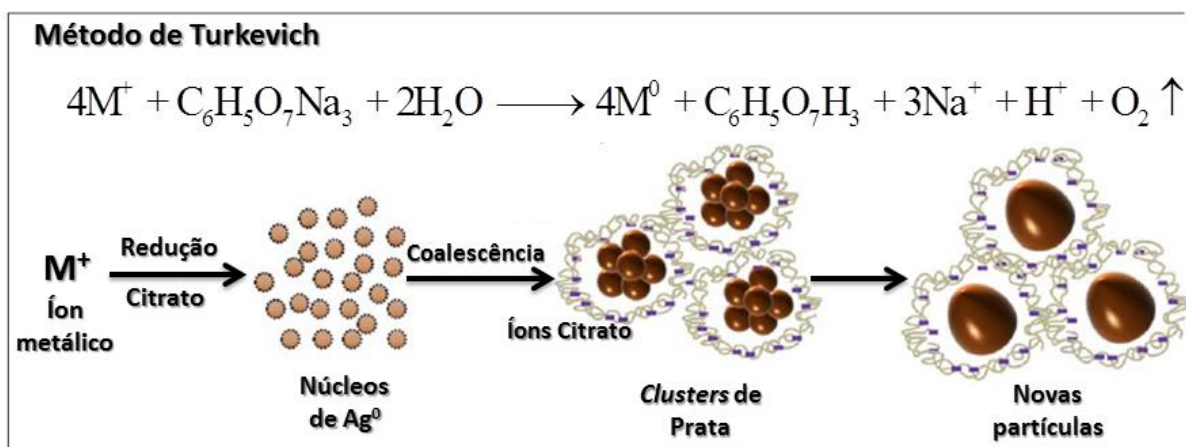
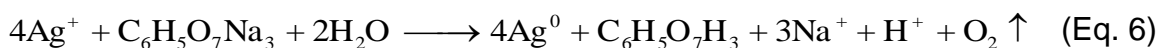


Figura 5.1 – Mecanismo de formação de nanopartículas de prata.

O citrato de sódio pode apresentar algumas funções no processo de formação e crescimento de nanopartículas de prata, tais como agente redutor, estabilizante, e complexante¹¹⁷. De acordo com DONG et al., (2012)¹¹⁸ a redução dos íons Ag^+ através do redutor orgânico citrato de sódio procede conforme indicado na Equação 6.



De acordo com THANH et al., (2014)¹¹⁹ a formação das partículas de prata ocorre em 3 passos (FIGURA 5.1). O primeiro passo ocorre com uma rápida

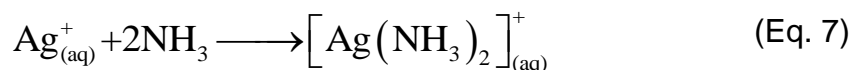
nucleação, onde nos primeiros minutos de síntese 50% dos íons Ag^+ reduzidos pelo citrato de sódio em solução aquosa são transformados em núcleos ou partículas. Nessa etapa, o tamanho médio das partículas é inferior a 2 nm. O segundo passo consiste na coalescência das partículas, seguido do crescimento das mesmas até um tamanho próximo de 4 nm. Este aumento no tamanho das partículas ocorre com uma diminuição no processo de redução devido a diminuição na quantidade dos íons Ag^+ , sugerindo que a coalescência ou a maturação de *Ostwald* são os principais processos no crescimento dessas partículas ¹²⁰.

As partículas de prata formadas permanecem em suspensão devido à repulsão eletrostática gerada e se mantêm estáveis por intermédio de uma carga negativa na superfície. Como as nanopartículas de prata possuem carga negativa devido à presença de íons citrato adsorvidos em sua superfície, uma força repulsiva age nas nanopartículas evitando a formação de agregados. Portanto, as partículas em solução permanecem estáveis sem utilização de outros agentes estabilizantes ¹¹⁸.

No entanto, diferente de outros metais nobres, somente uma fração de íons Ag^+ são reduzidos à prata metálica, quando se utiliza um excesso de agente redutor. Devido à presença dos íons Ag^+ , novos núcleos serão formados enquanto as nanopartículas inicialmente formadas continuarão crescendo devido à presença dos íons Ag^+ que não foram reduzidos durante a formação dos primeiros núcleos ¹²¹. Este processo é conhecido com *Ostwald Ripening*, no qual as nanopartículas maiores crescem pelo consumo das menores, por meio da dissolução das menores e a deposição dos íons da solução na superfície das maiores ¹²². Este processo resulta em um sistema com uma larga distribuição de tamanho, consistindo de partículas com diferentes tamanhos sendo que as partículas formadas no início do processo apresentam um tamanho maior que as partículas formadas subsequentemente.

Para resolver esse problema e obter nanopartículas esféricas de prata com estreita distribuição de tamanho, um excesso de amônia é adicionado. Na presença de íons prata, o complexo solúvel de diamin prata (I) é formado imediatamente como mostrado na Equação 7, removendo os íons de prata que não foram reduzidos, prevenindo assim a formação de novos núcleos e o crescimento

das nanopartículas já formadas ¹¹¹. Sem prata iônica disponível no meio reacional, o sistema é interrompido na etapa inicial, o que resulta em nanopartículas de prata monodispersas.



O parâmetro macroscópico utilizado como referência para a verificação de ocorrência da reação predita na Equação 6 é a visualização da coloração amarela na solução. A FIGURA 5.2 mostra os coloides de prata obtidos em 3 diferentes temperaturas.



FIGURA 5.2 - Coloides de prata sintetizados em temperatura de: A) 90°C; B) 85°C e C) 80°C.

A cor amarela característica observada na prata coloidal é resultado da absorção da radiação eletromagnética em ressonância com os plasmons de superfície. Essa absorção se dá em um comprimento de onda em torno de 420 nm ¹²³ para partículas com formato esférico ¹²⁴. Com o aumento das partículas de prata, a coloração amarela característica da suspensão passa para laranja e, posteriormente, violeta até atingir a coloração característica da prata em escala macroscópica.

Para a confirmação da formação dos coloides de prata, a técnica de espectrofotometria de absorção UV-Vis tem sido utilizada por ser sensível à

formação das mesmas. As nanopartículas de prata exibem um pico de absorção intenso em função dos plasmas de superfície. A FIGURA 5.3 mostra os espectros de UV-Vis dos coloides de prata no intervalo de 300 nm - 800 nm.

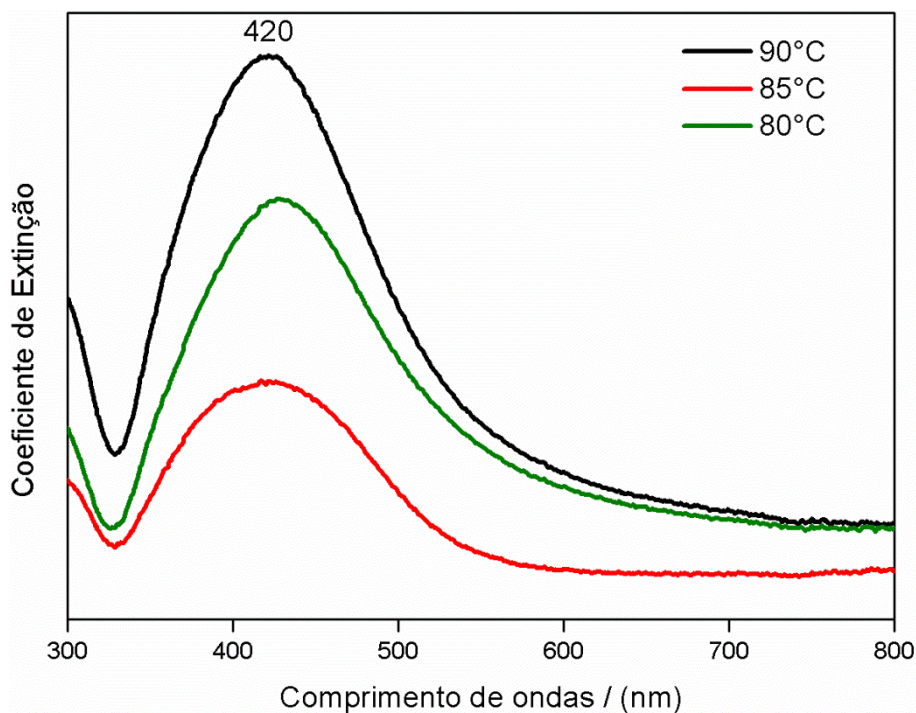


FIGURA 5.3 – Espectros de extinção de UV-Vis dos coloides de prata.

A adição de amônia imediatamente depois do processo de nucleação não mudou a posição do máximo de absorção da banda plasmônica. Estes resultados indicam que o tamanho da partícula de nanopartículas de prata não foi praticamente inalterado e apenas a concentração da partícula aumentou ligeiramente.

Para a aquisição de informações sobre o tamanho e a forma das nanopartículas foi utilizada a técnica de microscopia eletrônica de transmissão, onde, um feixe de elétrons atravessa a amostra sofrendo diversos tipos de espalhamento que dependem das características do material. Imagens de campo claro são formadas por elétrons que sofrem pouco desvio, enquanto as de campo escuro são formadas por elétrons difratados pelos planos cristalinos do material.

A técnica de caracterização de materiais conhecida por DLS (do inglês *Dynamic Light Scattering*), é uma técnica muito útil e versátil para medição *in situ* do

tamanho, distribuição de tamanho das nanopartículas. O DLS pode ser utilizado na rotina de caracterização de partículas, bem como em estudo sobre a natureza das interações de moléculas e partículas em dispersões líquidas. Essa técnica se baseia no fato de que a intensidade da luz espalhada de uma dispersão de partículas em dado ângulo de espalhamento é o resultado da interferência da luz espalhada de diferentes partículas no meio ao atingir o detector ¹²⁵.

A FIGURA 5.4 mostra as imagens das nanopartículas de prata sintetizadas em diferentes temperaturas com os seus respectivos histogramas obtidos pela técnica de MET e DLS.

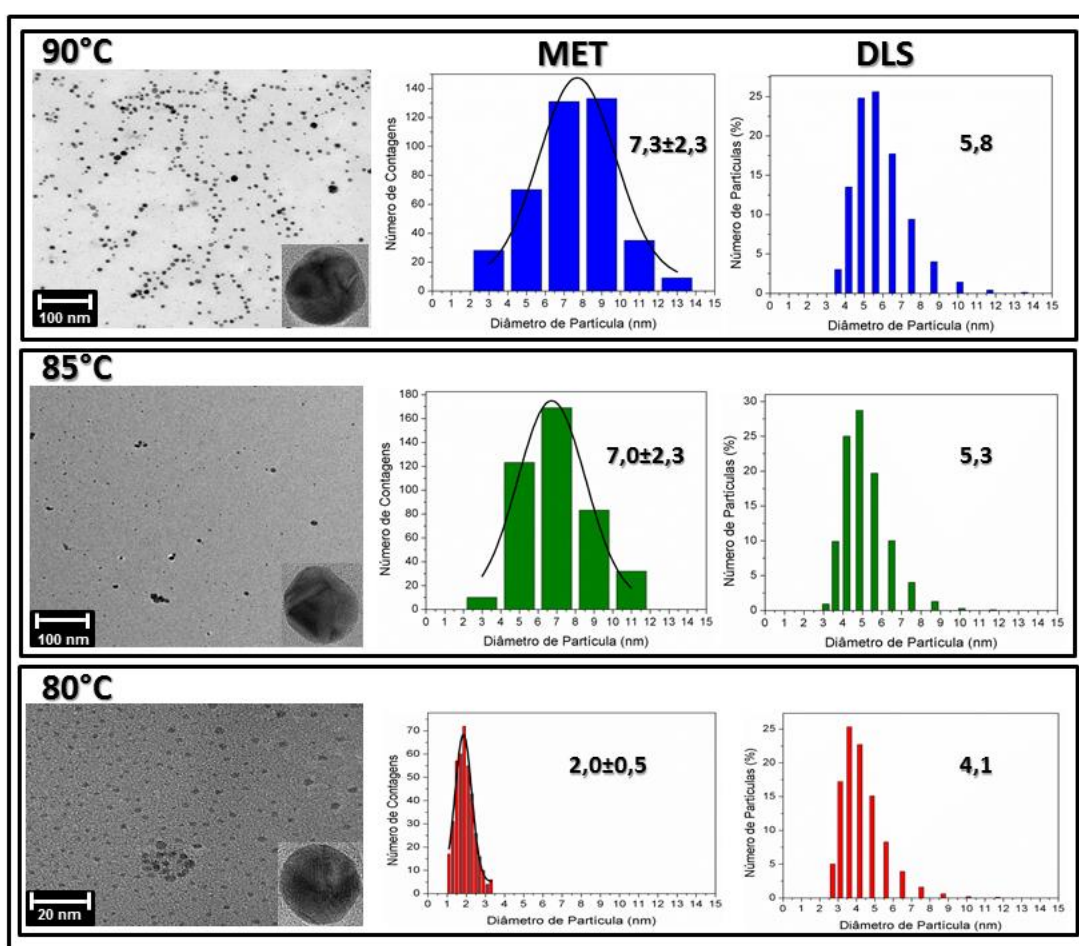


FIGURA 5.4 - Micrografias, histogramas e DLS respectivamente de nanopartículas de prata sintetizadas à: A: 90°C, B: 85°C e C: 80°C.

A FIGURA 5.4 indica que os materiais apresentam dimensões nanométricas, com o formato esférico com diâmetro médio de 7,6 nm, 7,3 nm e 2,0 nm para as sínteses realizadas a 90°C, 85°C e 80°C respectivamente.

Na TABELA 5.1 está listada a média do diâmetro, D_{MET} , o desvio padrão, δ_{MET} , obtidos por MET, e tamanho médio obtido pelo DLS.

TABELA 5.1 - Valores estatísticos encontrados pelas técnicas de MET e DLS.

Amostra	N° de Contagem	D_{MET} (nm)	δ_{MET} (nm)	D_{DLS} (nm)
Nanopartícula de Prata (90°C)	409	7,6	$\pm 2,30$	5,8
Nanopartícula de Prata (85°C)	430	7,3	$\pm 2,31$	5,4
Nanopartícula de Prata (80°C)	401	2,0	$\pm 0,50$	4,1

A adição de amônia resulta em suspensões coloidais aquosas estáveis de nanopartículas de prata esféricas com estreitas distribuições de tamanho (FIGURA 5.4). Estes resultados revelam que a adição de amônia no sistema imediatamente após a fase de nucleação é uma maneira eficiente para se estabilizar suspensões coloidais de nanopartículas de prata monodispersa com tamanhos médios menores do que relatado na literatura (de 20nm-100nm), uma vez que os íons de prata livres, que são responsáveis no crescimento das partículas e na formação de novos núcleos, formam complexos solúveis, preservando as nanopartículas de prata por longos períodos de armazenamento sem coalescer ou precipitar.

A identificação da estrutura cristalina das nanopartículas de prata foi realizada pela técnica de difração de raios X, visando determinar suas características estruturais quanto às fases cristalinas presentes e o tamanho médio dos domínios cristalinos em função das temperaturas de síntese a que foram submetidas.

A FIGURA 5.5 apresenta os difratogramas de raios X das amostras de prata obtidos. A formação de nanopartículas de prata, cuja fórmula empírica é (Ag), foi evidenciada pela comparação entre os padrões de reflexões obtidos experimentalmente e a ficha cristalográfica correspondente (JCPDS 04-0783).

Concluiu-se que o sólido cristalizou no sistema cúbico de face centrada, apresentando os picos de reflexão relativos aos planos cristalográficos representados pelos índices de Miller: (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), (3 1 1) e (2 2 2). O pico de reflexão relativo ao plano cristalográfico (4 2 2) é característico do substrato (Si) no qual as partículas de prata formaram um fino filme.

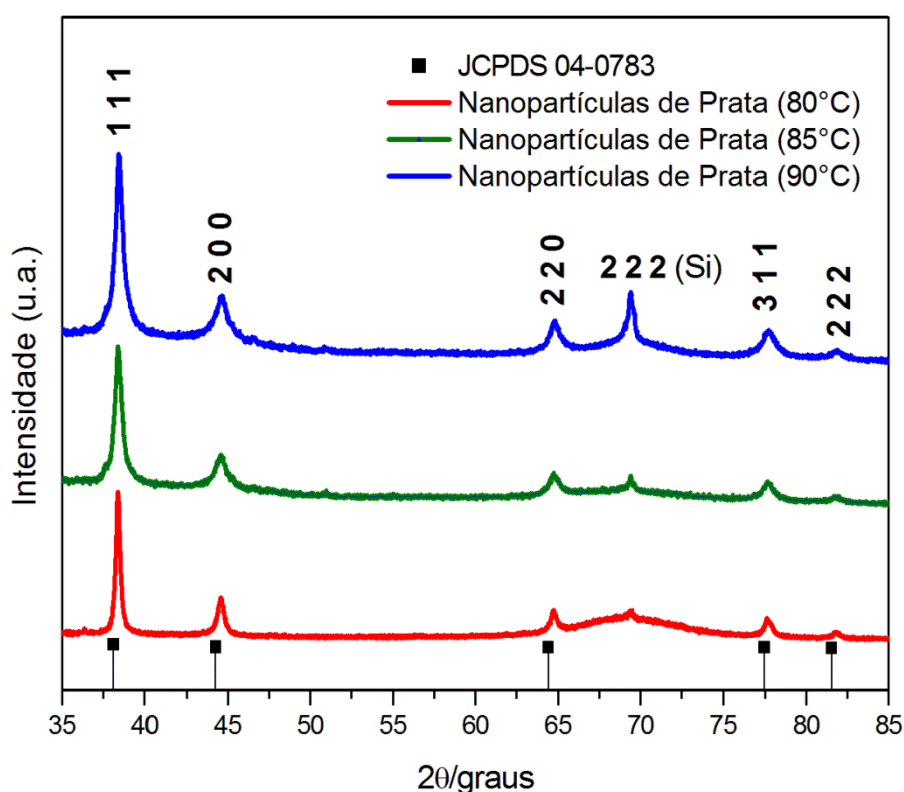


FIGURA 5.5 - Difractogramas de raios X das nanopartículas de prata sintetizadas à: 80, 85 e 90°C.

O tamanho médio dos domínios cristalinos (D_{DRX}) para as nanopartículas de prata foi calculado pela Equação de Scherrer (Equação 5):

$$D_{DRX} = \frac{0,9\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (\text{Eq. 5})$$

onde, D_{DRX} é o diâmetro médio do cristalito;

λ = comprimento de onda da radiação Cu K α ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$);

0,9= constante de proporcionalidade que depende da forma das partículas, assumida como sendo esférica (0,9);

θ = ângulo de difração de Bragg do pico mais intenso;

β = largura a meia altura do pico de maior intensidade (FWHM). Utilizou-se a largura e a meia altura de uma reflexão, descontando a largura intrínseca introduzida pelo tipo de difratômetro, utilizando-se um monocristal padrão. Assim teremos:

$$\beta = \sqrt{B^2 - b^2} \quad (\text{Eq. 8})$$

onde B é a largura a meia altura do pico mais intenso obtida da amostra; b é a largura intrínseca obtida do cristal padrão. Utilizou-se o silício como padrão.

A TABELA 5.2 apresenta os valores estimados do tamanho médio dos domínios cristalinos das partículas de prata sintetizadas em diferentes temperaturas 80, 85 e 90°C, onde estes valores foram calculados a partir da largura a meia altura do pico de maior intensidade ($2\theta \sim 38,4^\circ$), cujo valor foi determinado a partir dos dados fornecidos pelo programa computacional do equipamento (XRD 6000), considerando-se o pico mais intenso de cada difratograma representado pelo índice de Miller (1 1 1) característico de partículas de prata mostrado na FIGURA 5.5.

TABELA 5.2 - Estimativa dos tamanhos de domínio de coerência cristalográfica das partículas de prata pela equação de Scherrer.

Amostra	Temperatura de Síntese	Parâmetros:			Domínio de coerência cristalográfica
		(h k l)	2 θ /(graus)	β	
Partículas de Prata	80°C	1 1 1	38,45	0,944	2,78
Partículas de Prata	85°C	1 1 1	38,40	0,019	7,49
Partículas de Prata	90°C	1 1 1	38,43	0,019	7,77

Concluiu-se que a metodologia utilizada resultou em partículas em escala nanométrica, não havendo mistura de fases cristalinas cujos resultados estão em concordância com aqueles descritos por GORUP et al., (2011)¹¹¹.

Para avaliar a estabilidade das soluções foi utilizada a técnica de espalhamento de luz utilizando o parâmetro de Potencial Zeta (ζ) que, avalia a interação partícula-partícula sendo um elemento crucial na determinação das características das suspensões coloidais e proporciona informação útil sobre a carga superficial das nanopartículas e, informações sobre a sua estabilidade e capacidade de interagir com as moléculas ¹²⁶. A FIGURA 5.6 mostra os resultados de potencial zeta em função da variação de pH para as diferentes nanopartículas de prata.

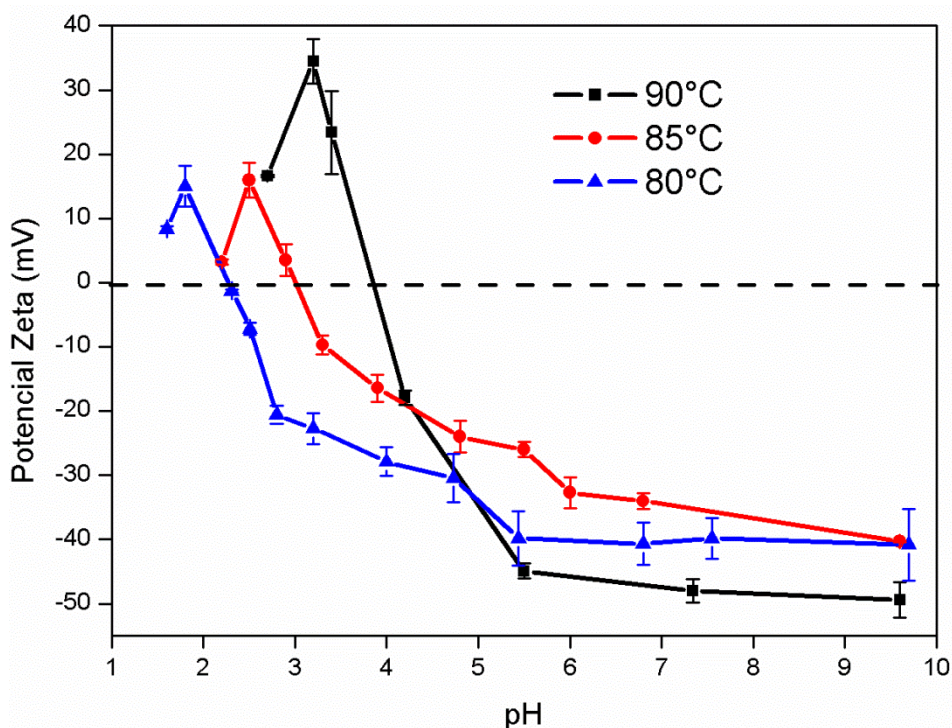


FIGURA 5.6 - Potencial Zeta das nanopartículas de prata em diferentes pH.

A superfície das nanopartículas de prata é carregada com os íons citrato adsorvidos na superfície das mesmas, sendo assim o resultado para o potencial zeta dessas nanopartículas serão negativos, dependendo do pH ¹²⁷. Inicialmente, no pH de síntese (9,5) para todas as nanopartículas os valores de potencial zeta foram de aproximadamente -40 mV. Estes valores explicam o fato das nanopartículas permanecerem estáveis por meses, devido à presença de cargas elétricas nas superfícies das partículas para impedir a aglomeração (repulsão eletrostática) o que garante a sua estabilização ^{128,129}.

Com a adição de ácido nítrico na solução coloidal houve uma diminuição nos valores de potencial zeta devido a mudança no grau de protonação do íon citrato. A FIGURA 5.7 mostra uma simulação dos três estados de ionização do íon citrato, resultando em quatro espécies com diferentes cargas. Em pH próximo a 5, tem-se a primeira protonação do íon citrato resultando em um aumento no potencial zeta das partículas. Em pH próximo a 4, tem-se a segunda protonação do íon citrato ¹³⁰. Em pH ácido, entre 4 e 5, os valores de potencial zeta foram menores que -30 mV. De acordo com Leite e Ribeiro (2012)⁶⁶ nanopartículas com potencial de $\zeta \geq \pm 30$ mV podem ser considerado estável. Portanto, em pH < 5 essas partículas

tornam-se instáveis, aglomerando-se e precipitando-se. O valor isoelétrico para essas nanopartículas foi em $\text{pH} < 3$.

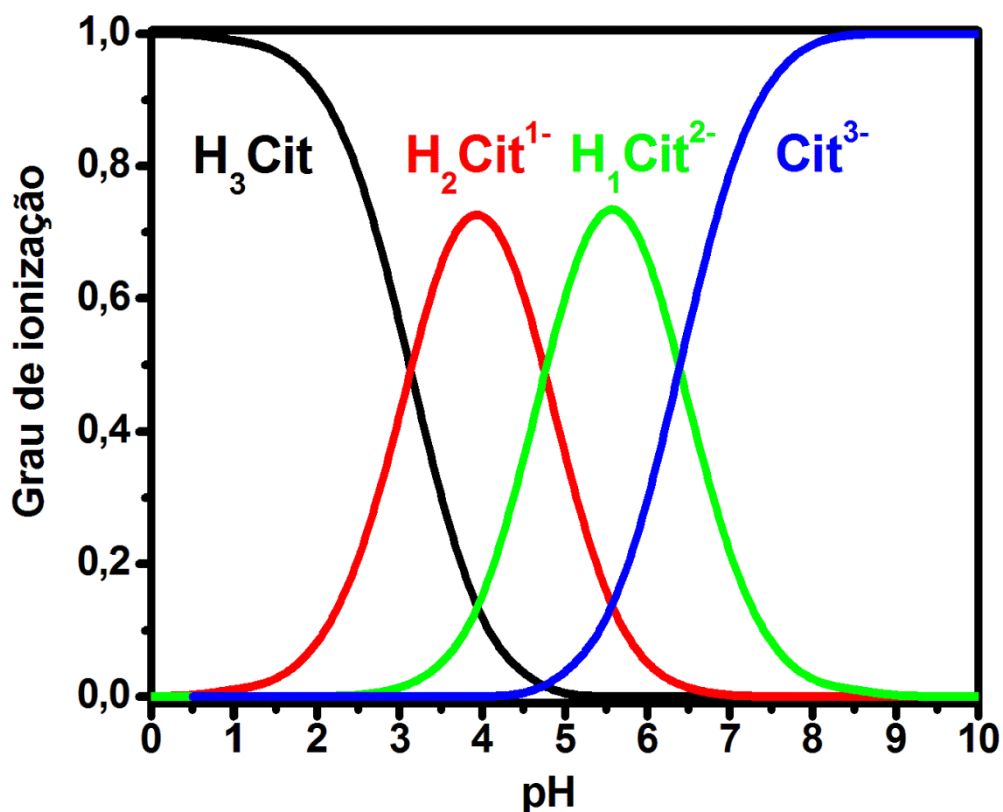


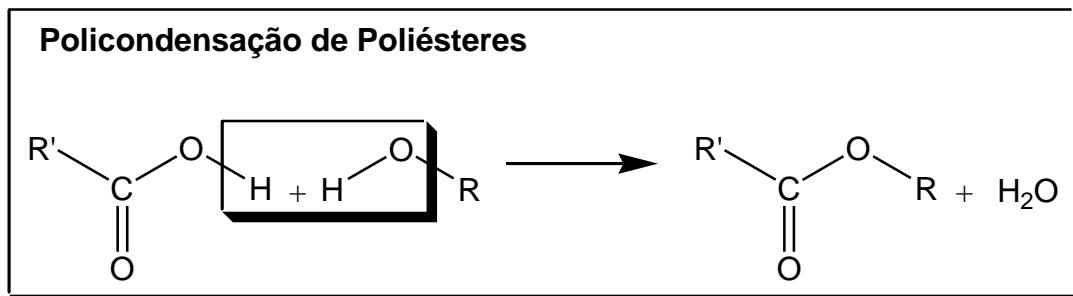
FIGURA 5.7 - Distribuição simulada de diferentes espécies de citrato em função do pH. Imagem com as curvas de distribuição das diferentes moléculas do citrato.

5.2 - Caracterização Estrutural do PMMA e de seus Nanocompósitos

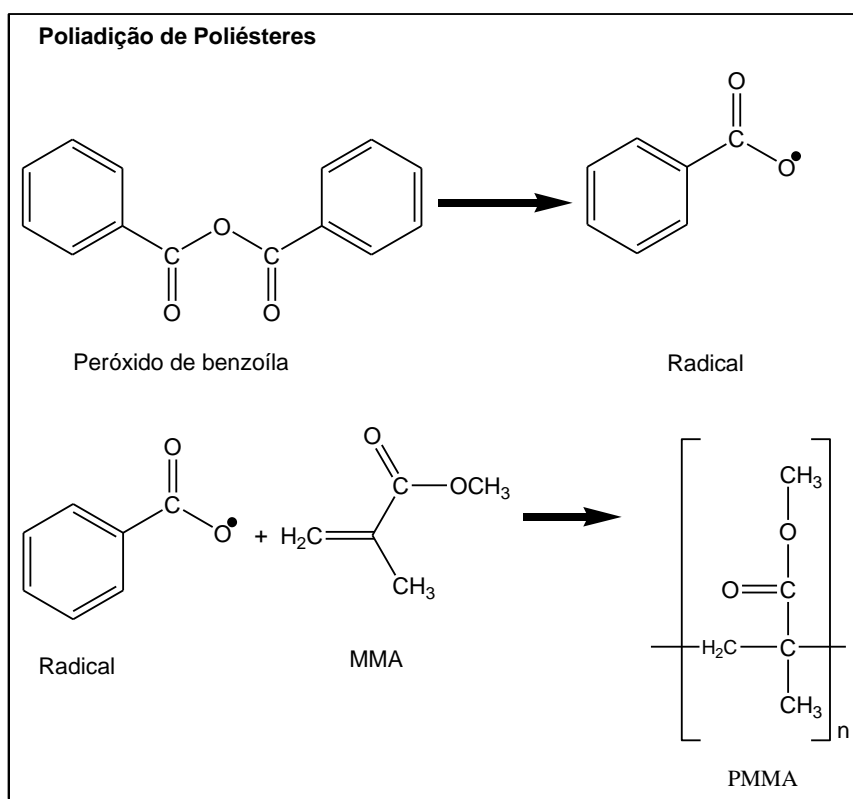
De acordo com Nuyken e Pask (2013)¹³¹, a polimerização do PMMA pode ocorrer por dois mecanismos diferentes:

- ✓ Reações de condensação: O termo "polimerização de condensação, ou reação de condensação" foi introduzido por W.H. Carothers¹³² em seu estudo na preparação de poliésteres e poliamidas que consiste na reação de um

grupo funcional de uma molécula com outro grupo funcional na extremidade de outra molécula, aumentando a cadeia e liberando uma molécula;



- ✓ Reações de adição: a cadeia polimérica cresce por reação direta entre uma espécie radicalar com a dupla ligação de um monômero ⁷⁸.



A polimerização do PMMA é uma reação de adição no qual um monômero torna-se instável reagindo com um iniciador, uma molécula que é volátil mais comumente um radical (moléculas que contêm um único elétron desemparelhado). Estes radicais são formados quando a energia térmica ou luminosa quebram a molécula de peróxido. A ligação de radicais com monômeros, formam os monomêros radicalares que podem atacar a ligação dupla de outro

monômero pelo mecanismo representado na FIGURA 5.8, aumentando a cadeia polimérica ⁸⁵. Como os radicais são espécies transitórias, os iniciadores são adicionados na forma de um peróxido na forma não reativa que são estáveis em solução ¹³³.

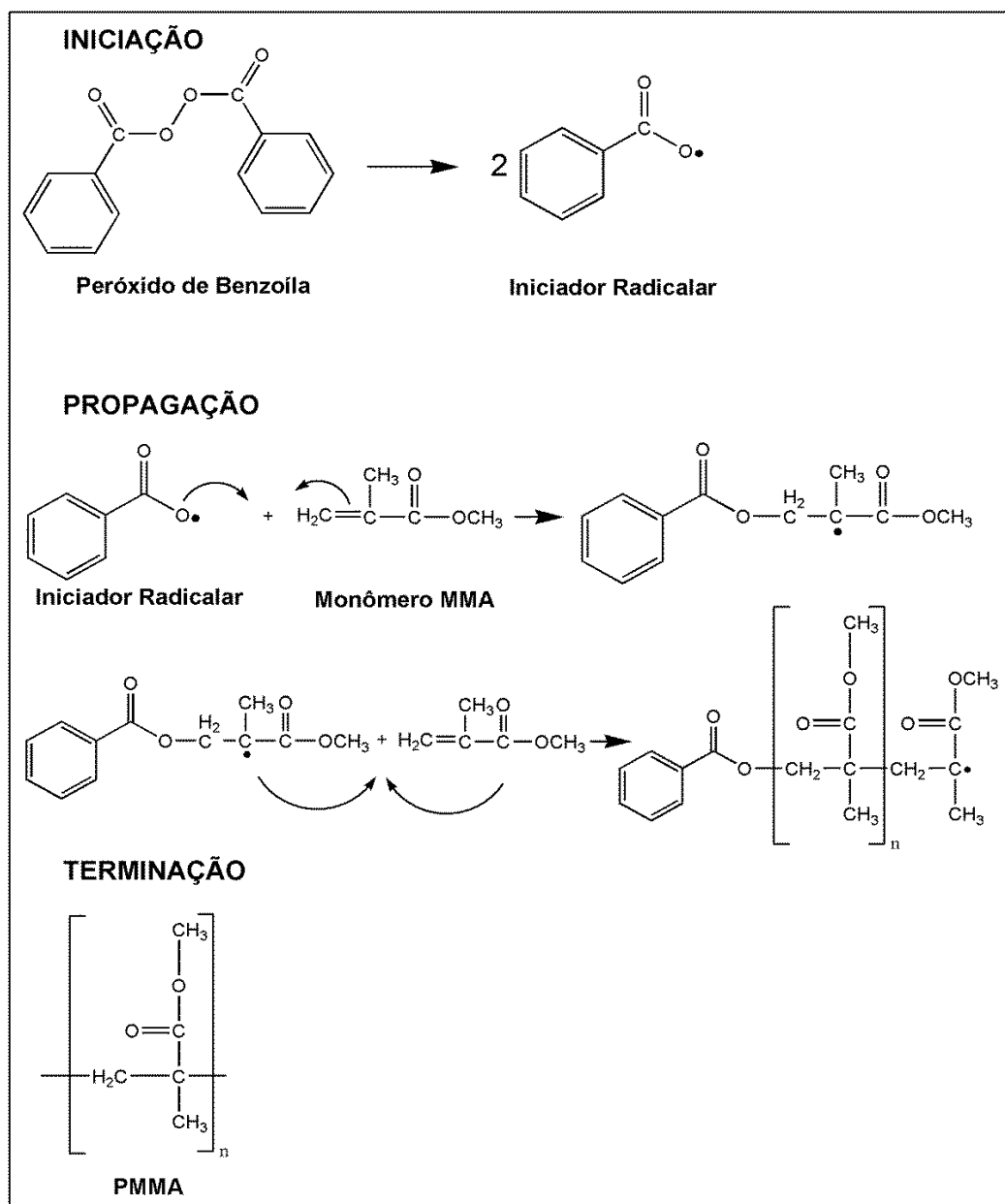


FIGURA 5.8 - Polimerização do PMMA por reação de adição.

A polimerização de MMA é uma reação exotérmica ¹³⁴. Há liberação de energia térmica de 57 kJ.mol^{-1} , resultando em um aumento na temperatura de cura da resina acrílica. Esta temperatura máxima pode ser influenciada pela composição

química da resina acrílica e pela razão entre a massa de pó e o volume de líquido usado na termopolimerização. A temperatura máxima *in vitro* da resina de PMMA de acordo com as Normas ISO 5833 e ASTM F 451 é de (60 e 80°C), respectivamente⁷⁸.

Para identificar os elementos presentes em no *Lucitone 550* em sua forma de pó (análise qualitativa) assim como estabelecer a proporção em que cada elemento se encontra presente na amostra, foi utilizada a técnica de fluorescência de raios X. Na TABELA 5.3 são apresentados os resultados de análise química de cada átomo identificado pela técnica de FRX.

TABELA 5.3 - Resultados de análise química do *Lucitone 550* em pó.

Analíto	Porcentagem (%)
Sódio (Na)	58,0
Titânio (Ti)	32,4
Ferro (Fe)	06,2
Cloro	03,4

Para se estimar a quantidade de prata no volume de suspensão coloidal a ser adicionada na matriz polimérica foi realizada uma gravimetria. Volumes de 1,5, 1,0 e 0,5 mL de solução coloidal contendo nanopartículas de prata foram adicionados em béquer com capacidade volumétrica de 10 mL e deixado em estufa de aquecimento à temperatura de 90°C para evaporação da água e os resultados em massa para um volume definido são mostrados na FIGURA 5.9.

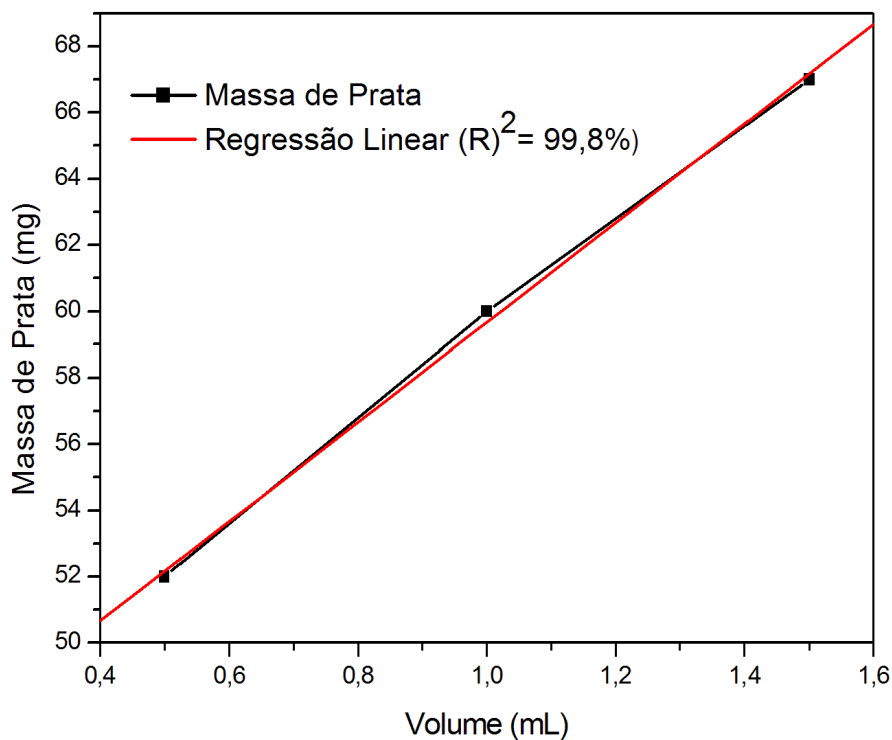


FIGURA 5.9 - Gravimetria para determinar a quantidade de prata presente em um volume de colóide de prata.

Conclui-se que para as concentrações de 5, 0,5 e 0,05% de solução coloidal contém respectivamente 43,7 mg, 4,37 mg e 0,437 mg de prata na matriz polimérica.

A espectroscopia de espalhamento Raman é uma técnica de análise qualitativa que é amplamente utilizada para a identificação de compostos para a identificação de grupos funcionais. A FIGURA 5.10 mostra o espectro Raman (FT-Raman) da matriz polimérica (PMMA) e de seus nanocompósitos

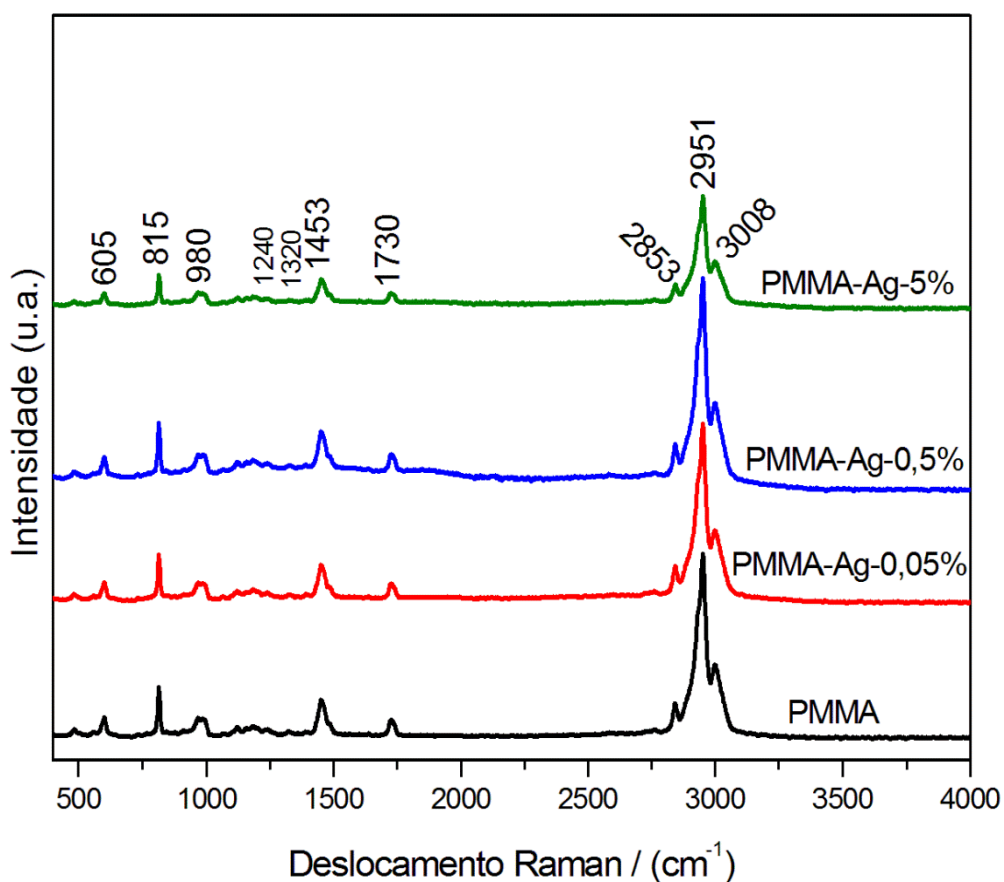


FIGURA 5.10 - FT-Raman das amostras de PMMA e de seus nanocompósitos.

No espectro de FT-Raman, na região de 1000 cm^{-1} – 2000 cm^{-1} se encontram-se os modos de vibração da ligação C=O e C-O-C que caracteriza o grupamento éster presente em polimetacrilatos assim como no monômero MMA¹³⁵. A TABELA 5.4 apresenta a correlação entre os modos vibracionais e suas respectivas bandas de absorção obtidas nos espectros mostrados na FIGURA 5.10.

TABELA 5.4 - Correlação de deslocamento Raman (cm^{-1}) com os modos vibracionais das amostras de PMMA e de seus nanocompósitos.

Número de Ondas / (cm^{-1})	Modos Vibracionais
ν 3005	Estiramento assimétrico de H-C (sp^3) (-CH ₃)
ν 2952	Estiramento assimétrico de H-C (sp^3) (-CH ₂)
ν 2852	Estiramento simétrico de H-C (sp^3) (-CH ₃)
ν 1730	Estiramento de (C=O)
δ 1450	Deformação de H-C (sp^3) (-CH ₃)
δ 1320	Deformação em tesoura de H-C (sp^3) (-CH ₂)
δ 1240	Estiramento de (C-O)
ν 980	Estiramento (C-C)
δ 600 – 400	Deformações de (C-C e C-O) fora do plano

Os nanocompósitos não apresentaram deslocamento em seus modos vibracionais provavelmente devido à pequena quantidade de prata que foi inserido na estrutura polimérica, sendo possível inferir que a quantidade de átomos de prata ligados a carbonila do metacrilato de metila é muito menor que a quantidade de carbonila livre não resultando em mudanças na posição dos grupos funcionais.

Um possível mecanismo para inserção de nanopartícula de prata na matriz polimérica inclui as seguintes etapas: Inicialmente os íons Ag^+ são dispersos em na matriz polimérica de PMMA e são coordenados aos átomos de oxigênio do grupamento carbonila do PMMA (FIGURA 5.11-A). Na literatura é relatado que o grupamento acrilato do PMMA pode formar ligação química com íons metálicos nos quais se agregam para formar as nanopartículas de prata no PMMA (FIGURA 5.11-B) ¹³⁶.

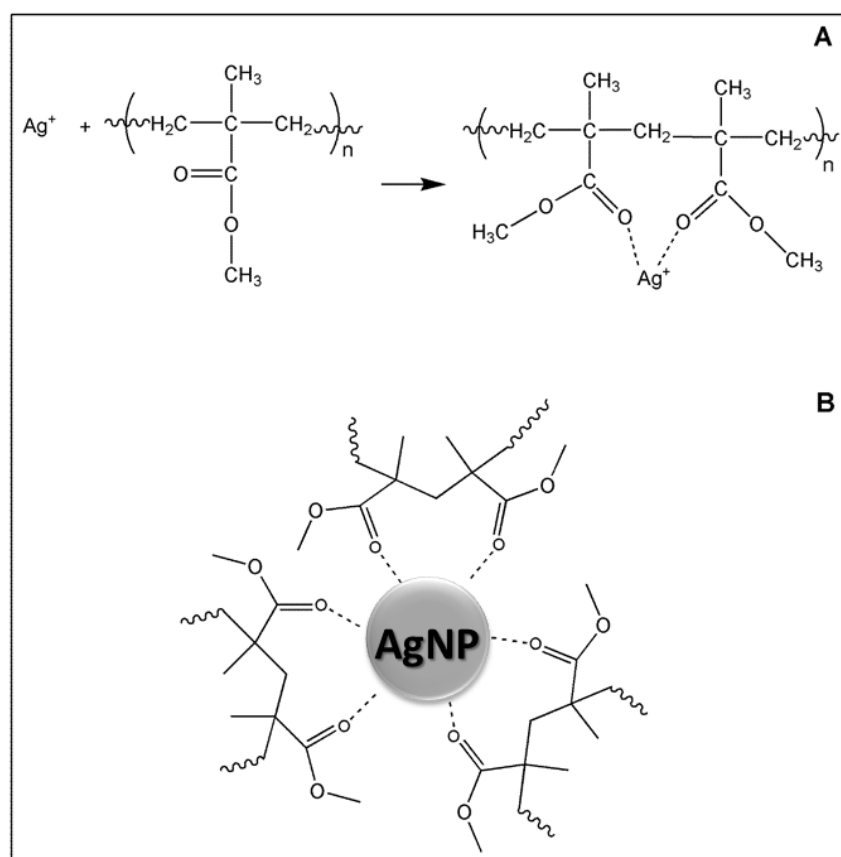


FIGURA 5.11 - Possível mecanismo de incorporação de nanopartículas de prata em matriz polimérica de PMMA.

A dispersão das nanopartículas de prata bem como a morfologia do PMMA e de seus nanocompósitos foi realizada usando a técnica de MEV. Na FIGURA 5.12 (A) (B) (C) e (D) pode ser visto que a matriz polimérica apresenta uma superfície homogênea com a formação poros e nesses poros são encontradas as nanopartículas de prata. As micrografias sugerem que o modo de dispersão das nanopartículas de prata no polímero foi dependente da concentração de solução coloidal adicionada ao PMMA com uma distribuição heterogênea de prata nos materiais. Quanto maior o volume de coloide adicionado, maior a quantidade de partículas distribuídas, porém menor a sua dispersão na massa polimérica.

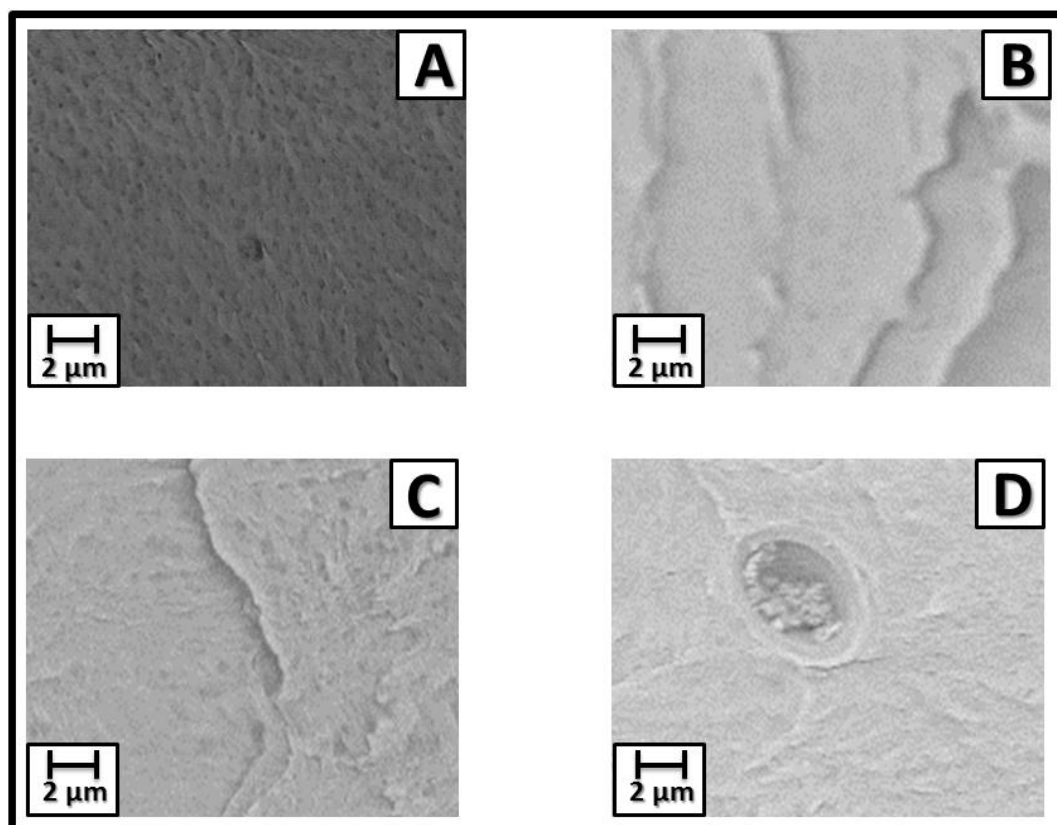


FIGURA 5.12 - Micrografias da fratura nas amostras: A) PMMA, B) PMMA-Ag-0,05%, C) PMMA-Ag-0,5% e D) PMMA-Ag-5%.

Diferentes técnicas estão disponíveis para caracterizar materiais poliméricos. A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Carbono-13 no estado sólido utilizando polarização cruzada (CP) representa a mais poderosa abordagem experimental usado para coletar informações sobre as características estruturais e conformacionais de polímeros ¹³⁷.

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear é baseada na absorção de energia na gama das radiofrequências por parte de núcleos numa molécula, na presença de um campo magnético forte. Alguns núcleos possuem momento angular de spin (ou spin nuclear), que resulta da combinação dos spins dos prótons e dos nêutrons desse núcleo.

A caracterização estrutural do material polimérico e de seus nanocompósitos foi feita usando a técnica de RMN em estado sólido e os resultados são mostrados na FIGURA 5.13.

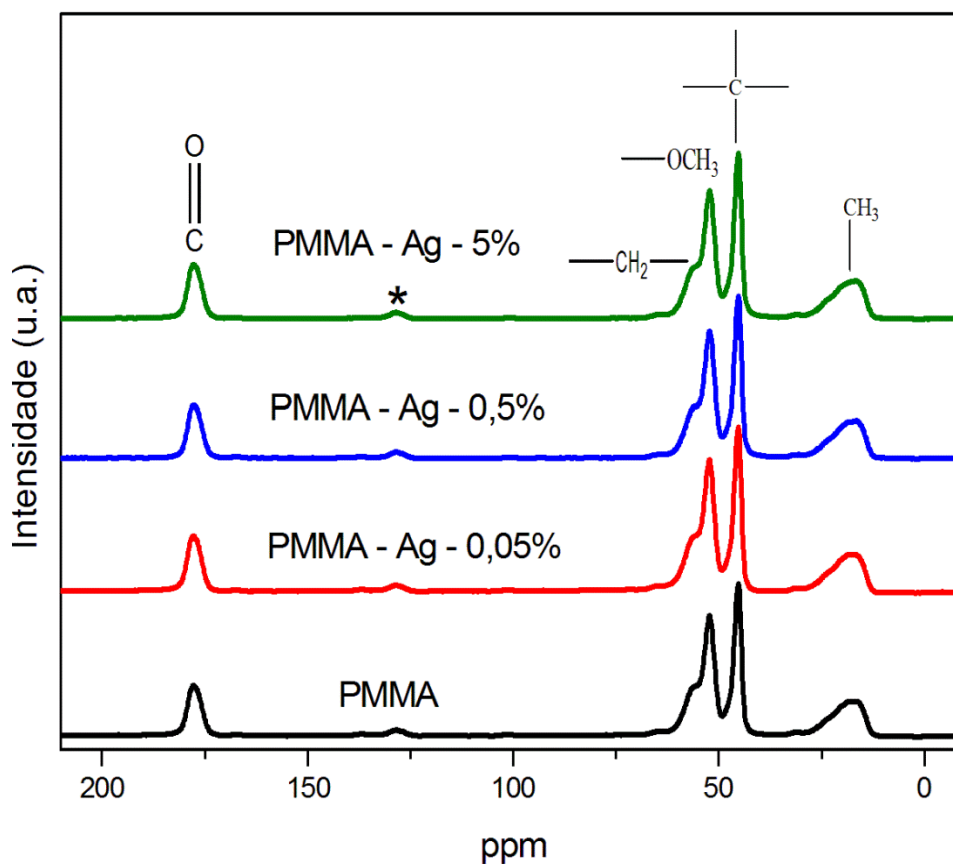


FIGURA 5.13 - Espectros de ^{13}C de RMN em estado sólido do PMMA e de seus nanocompósitos.

A FIGURA 5.13 mostra o espectro de RMN (estado sólido) do PMMA e de seu nanocompósito, que consiste de 5 principais picos que são atribuídos aos seguintes grupos funcionais:

- Grupo metila ($-\text{CH}_3$) em 16,8 ppm;
- Carbono quaternário da cadeia polimérica em 45 ppm;
- Grupos metoxi ($-\text{OCH}_3$) em 51,9 ppm;
- Grupo metileno ($-\text{CH}_2$) em 56 ppm;
- Grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) a 177,3 ppm.

Todos esses sinais correspondem quanto à sua disposição espacial como atático, como reportado na literatura por AVOLIO et al., (2010)¹³⁸. O deslocamento químico em 128,7 ppm refere-se a banda de rotação.

A mudança nas propriedades superficiais do PMMA (predominantemente hidrofóbico) e de seus nanocompósitos é um aspecto importante a considerar na preparação de nanocompósitos. Com o intuito de observar o efeito da inserção das nanopartículas de prata na matriz polimérica.

A molhabilidade de uma superfície é uma propriedade que retrata as características superficiais do sólido indicando a hidrofiliabilidade. A FIGURA 5.14 mostra as fotografias da gota de água sobre as superfícies das amostras do material polimérico e de seus nanocompósitos. Não houve interação da gota com o PMMA. Por outro lado, houve um pequeno aumento na polaridade dos nanocompósitos com o aumento do percentual de coloide inserido na matriz polimérica. TANG et al., (2008)¹³⁹ relatam que superfícies hidrofóbicas, pelo fato de terem pouca afinidade por água não podem ser molhadas, ou seja, a gota de água colocada sobre essa superfície não se espalham, e tendem a diminuir a área de contato interfacial, indicando que a superfície é apolar e se a superfície for molhada, ou seja, se a gota espalhar sobre a superfície, há afinidade pela água, concluindo que o mesmo é um composto com superfície polar.

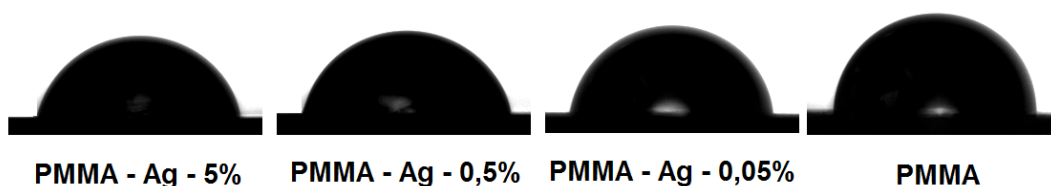


FIGURA 5.14 - Molhabilidade superficial do material polimérico e de seus nanocompósitos.

O ângulo de contato é definido como o ângulo entre um plano tangente a uma gota do líquido e um plano contendo a superfície onde o líquido se encontra depositado¹⁴⁰, conforme representado na FIGURA 5.15.

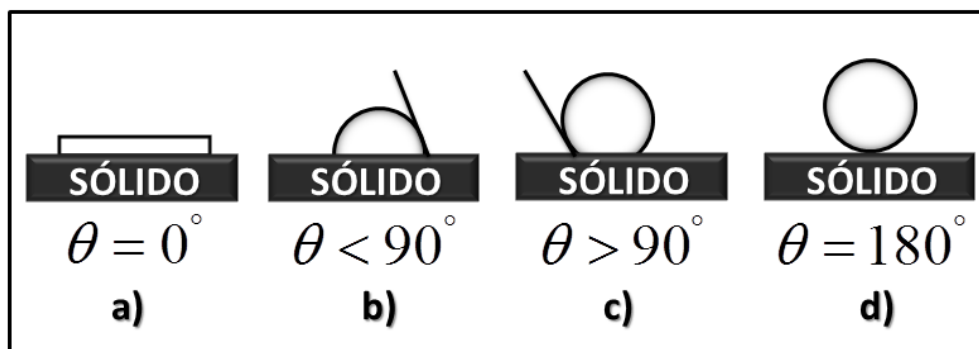


FIGURA 5.15 - Ângulos de contato de líquidos com superfícies sólidas: (a) superfície molhante; (b) predominantemente molhante; (c) e (d) não molhantes.

Por definição tem-se que: quando $\theta \approx 0^\circ$, o líquido se espalha indefinidamente sobre o sólido, ou seja, o molhamento da superfície é total (FIGURA 15 A); quando $\theta < 90^\circ$, há o molhamento parcial do sólido e o líquido se espalha espontaneamente (FIGURA 15 B); e quando o $\theta > 90^\circ$ não há o molhamento do sólido pelo líquido, ou seja, não ocorre o espalhamento do líquido (FIGURA 15 C e D).

A FIGURA 5.16 mostra o comportamento do ângulo de contato formado entre a gota d'água e a superfície do PMMA e de seus nanocompósitos no transcorrer de 60 segundos.

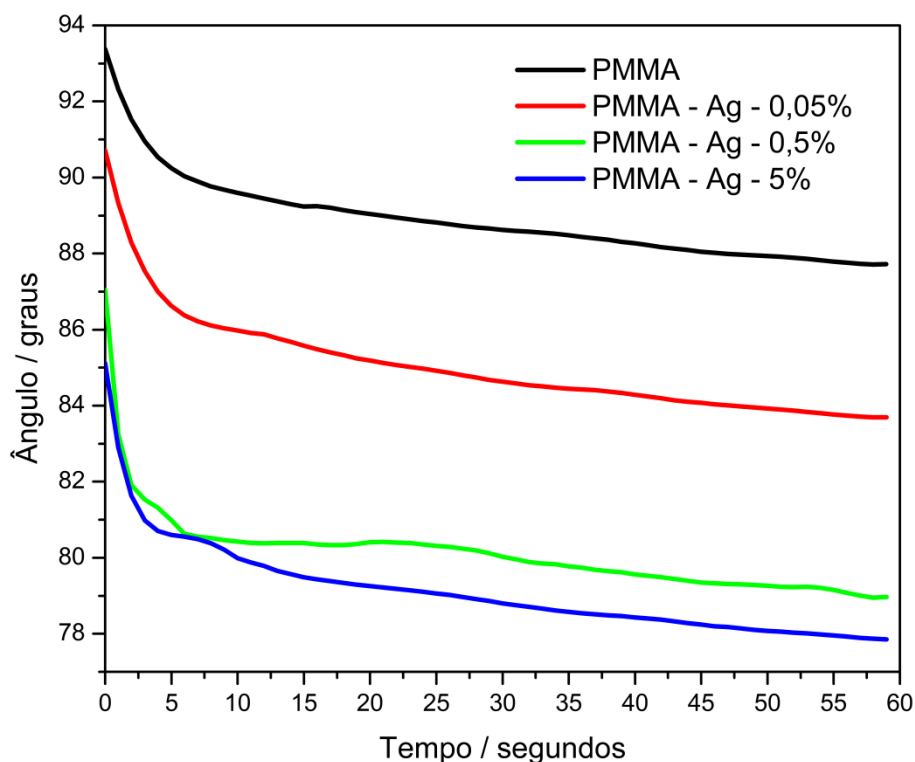


FIGURA 5.16 - Molhabilidade das superfícies das amostras de PMMA e seus nanocompósitos no transcorrer de 60 segundos.

Como para todas os nanocompósitos o ângulo ao final de 60s é menor que 90° conclui-se que, a gota de água penetrou no sólido e preencheu uma parte dos poros, formando uma superfície que pertence ao sólido, mas também ao líquido¹⁴¹. O aumento na hidrofiliabilidade leva a uma redução na adesão de microrganismos na superfície de materiais¹⁴². Como o PMMA é um polímero com comportamento hidrofóbico¹⁴³ e sua modificação superficial é uma forma eficaz de inibir a adesão de microrganismos na superfície das próteses dentárias. Samuel e Guggenbichler (2004)¹⁴⁴ relataram que matrizes poliméricas contendo nanopartículas de prata apresentam propriedades de superfície hidrofílica, as quais auxiliam na prevenção da adesão de microrganismos e formação de biofilme. Portanto, conclui-se que a diminuição nos valores de ângulo de contato é um indício que os nanocompósitos PMMA-Ag apresentam-se como materiais promissores para a inibição de formação de biofilmes em próteses dentárias.

5.3 - Caracterização Térmica do PMMA e de seus Nanocompósitos

A análise térmica é definida como um grupo de técnicas por meio das quais uma propriedade física de uma substância é medida em função da temperatura com uma programação controlada de temperatura e sob uma atmosfera especificada ¹⁴⁵.

A termogravimetria (TGA) é uma técnica da análise térmica na qual a variação da massa da amostra (perda ou ganho) é determinada em função da temperatura e/ ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura ¹⁴⁶.

As curvas termogravimétricas das amostras de PMMA e de seus nanocompósitos são mostradas na FIGURA 5.17. Através deste estudo, foi possível investigar o comportamento térmico do material na presença de N₂.

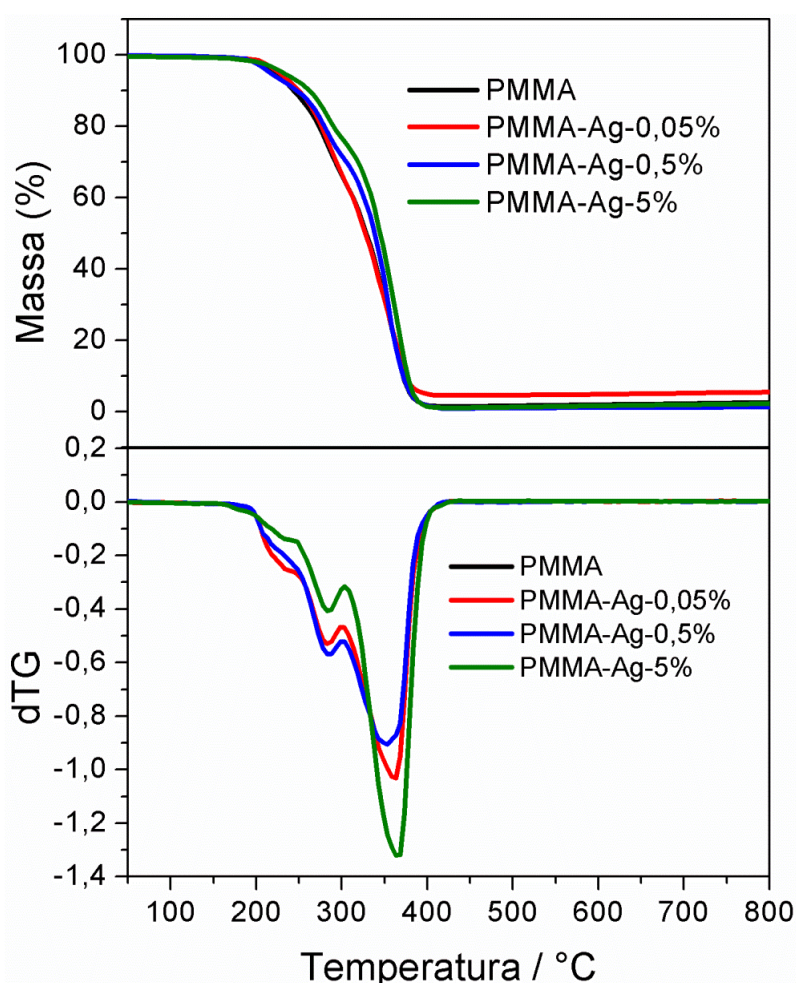


FIGURA 5.17 - Curvas termogravimétricas e suas derivadas das amostras de PMMA e de seus nanocompósitos.

Muitos estudos têm sido reportados sobre a degradação térmica do PMMA. Os resultados obtidos para o PMMA e seus nanocompósitos mostraram que a degradação térmica procede em três passos de perda de massas. Para a degradação térmica do PMMA, FERRIOL et al., (2003)¹⁴⁷, descreveram que a primeira perda de massa iniciada em aproximadamente 200°C, é característica da ligação em cadeia cabeça-cabeça (H-H). Hu (2003)¹⁴⁸ observou que os grupamentos vinílicos terminais presentes no PMMA (PMMA-CH=CH₂), degradam-se em uma temperatura mais baixa que a parte saturada da cadeia polimérica do PMMA (PMMA-H). A parte insaturada da cadeia polimérica (PMMA-CH=CH₂) degrada entre 230 e 300°C, enquanto que a parte saturada da cadeia polimérica (PMMA-H) degrada-se entre 300 e 400°C. Isso ocorre devido a menor estabilidade do grupamento PMMA-CH=CH₂ que sofre uma cisão β por apresentar ligação fraca C-C (FIGURA 5.18).

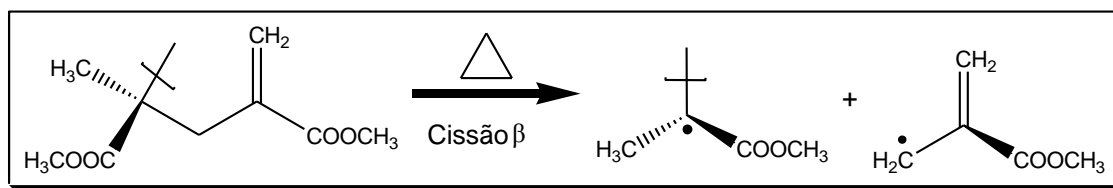


FIGURA 5.18 - Mecanismo de degradação do PMMA.

O processo de degradação para polímeros que despolimerizam ocorre através da clivagem aleatória da cadeia, seguida de despolimerização. A degradação térmica do PMMA ocorre por despolimerização, produzindo quase que 100% de monômero. Essa degradação ocorre por meio da cisão aleatória da cadeia e não é acompanhada por transferência de hidrogênio no sítio da cisão devido ao impedimento espacial dos grupamentos CH₃ e COOCH₃ (FIGURA 5.19 - A). Deste modo a cisão resulta na formação de dois radicais livres (FIGURA 5.19 - B) que podem ocasionar, então, a despolimerização¹⁴⁹.

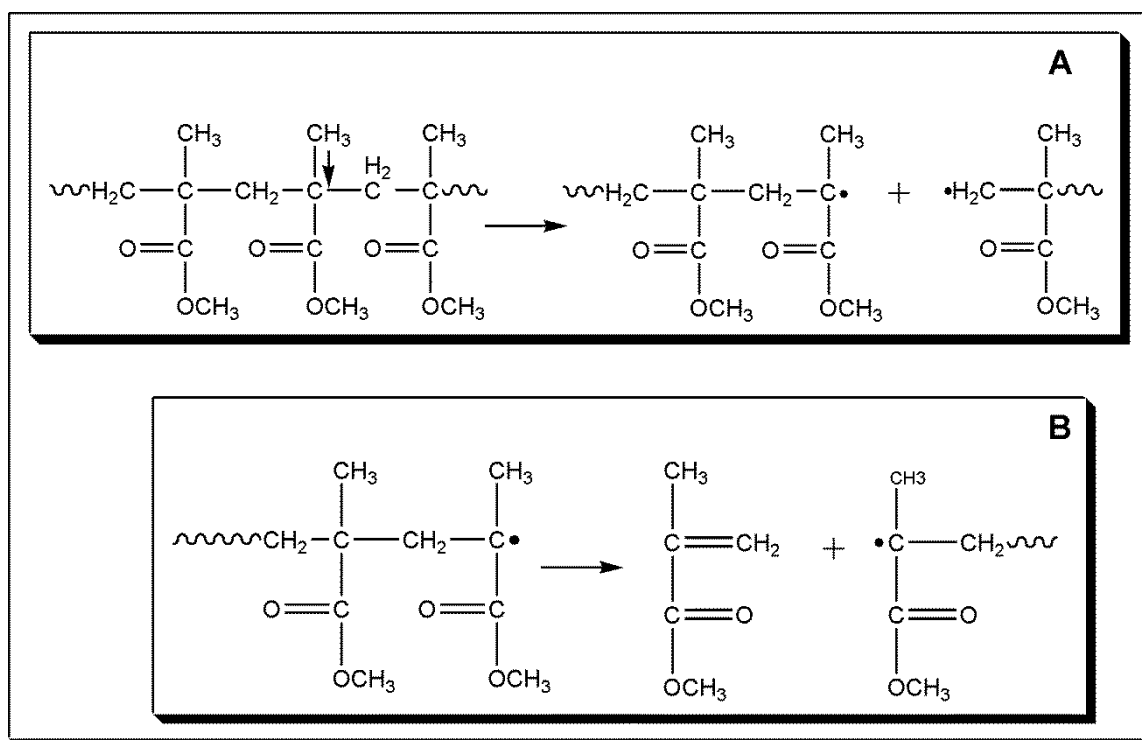


FIGURA 5.19 - Degradação do PMMA: (A) Cisão aleatória da cadeia; (B) despolimerização dos radicais livres.

Como as taxa de perda de massa nos compósitos, PMMA-Ag, é maior que na amostra de PMMA, isso significa que há entidades mais fracamente ligadas ao polímero¹⁵⁰. O aumento no percentual de coloides de prata incorporado na matriz polimérica leva a um aumento na estabilidade térmica do nanocompósito em 20°C como mostrada na FIGURA 5.20.

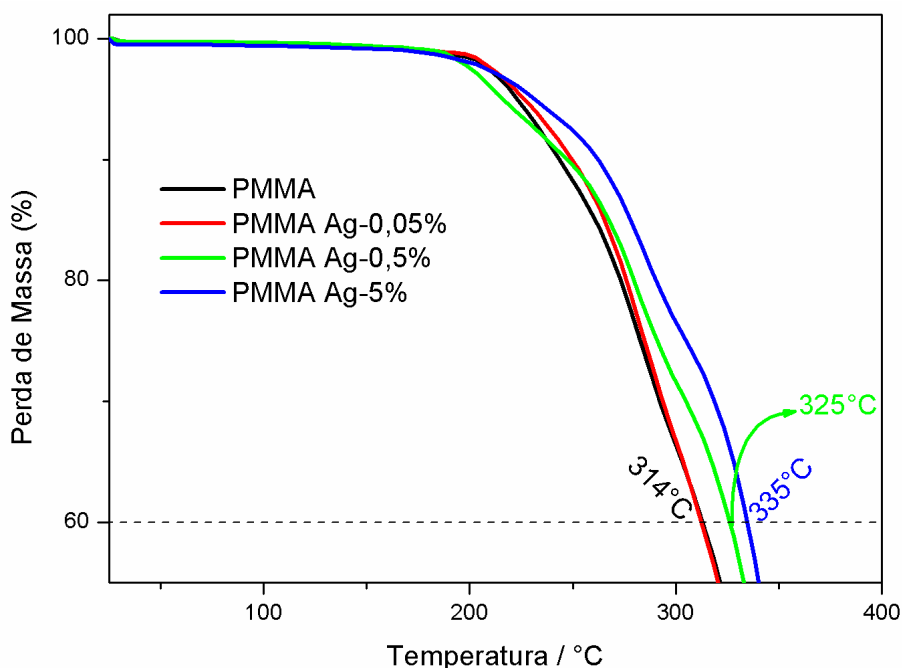


FIGURA 5.20 - Estabilidade térmica da matriz polimérica e de seus nanocompósitos.

Na Tabela 5.5 estão mostradas as temperaturas de T_{onset} , menor temperatura no qual se inicia a variação de massa para um determinado conjunto de condições experimental e, T_{endset} , menor temperatura que indica que o processo responsável pela variação de massa foi concluído.

TABELA 5.5 - Temperatura de T_{onset} e T_{endset} para as amostras de PMMA e seus nanocompósitos.

Amostra	Temperatura de T_{onset} (°C)	Temperatura de T_{endset} (°C)
PMMA	188	418
PMMA-Ag-0,05%	200	421
PMMA-Ag-0,5%	203	424
PMMA-Ag-5%	205	430

Partículas em escala nanométrica apresentam áreas superficiais elevadas e quando são dispersas em matrizes poliméricas promovem alterações nas

propriedades da matriz, que são relacionadas com a interação química específica entre as cargas e o polímero. Este tipo de interação pode influenciar na dinâmica molecular da matriz polimérica resultando em alterações significativas nas suas propriedades físicas, como: comportamento térmico e/ou mecânico ¹⁵¹.

A inserção das nanopartículas em matrizes poliméricas aumenta a estabilidade térmica dos materiais poliméricos e alguns mecanismos têm sido propostos, tais como: o efeito de barreira em que nanopartículas retardam a troca de calor e o transporte de massa necessário para que haja o processo de degradação. Além disso, a estabilidade térmica aumenta com a diminuição da mobilidade da cadeia polimérica em compostos que possuem partículas inseridas em polímero ¹⁵².

A estabilidade térmica do material foi analisada usando as técnicas de Microscopia Óptica *Hot Stage* com TGA em atmosfera oxidativa. Quanto maior a proporção de nanopartícula de prata no polímero, maior é a sua estabilidade térmica que pode ser claramente observado pelas micrografias ópticas de *Hot Stage* (FIGURA 5.21). Em baixas temperaturas ($T < T_g$), a cadeia polimérica não tem mobilidade suficiente para permitir deformações e, o comportamento do polímero é rígido, comportamento vítreo. Em temperaturas acima da T_g , os nanocompósitos adquirem energia interna suficiente permitindo o deslocamento de uma cadeia em relação a outras por mudanças conformacionais. Em temperaturas próximas a 300°C observa-se a degradação térmica das amostras por quebra das ligações químicas por ação da temperatura. A temperatura de degradação das amostras é superior para o nanocompósito PMMA-Ag-5%, devido à menor interação entre os grupamentos polares ($\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{—}$) nas macromoléculas poliméricas requerendo uma maior energia térmica para que haja a quebra das ligações químicas. Assim, quanto menor a quantidade de grupamentos polares na cadeia polimérica menor será o valor de estabilidade térmica.

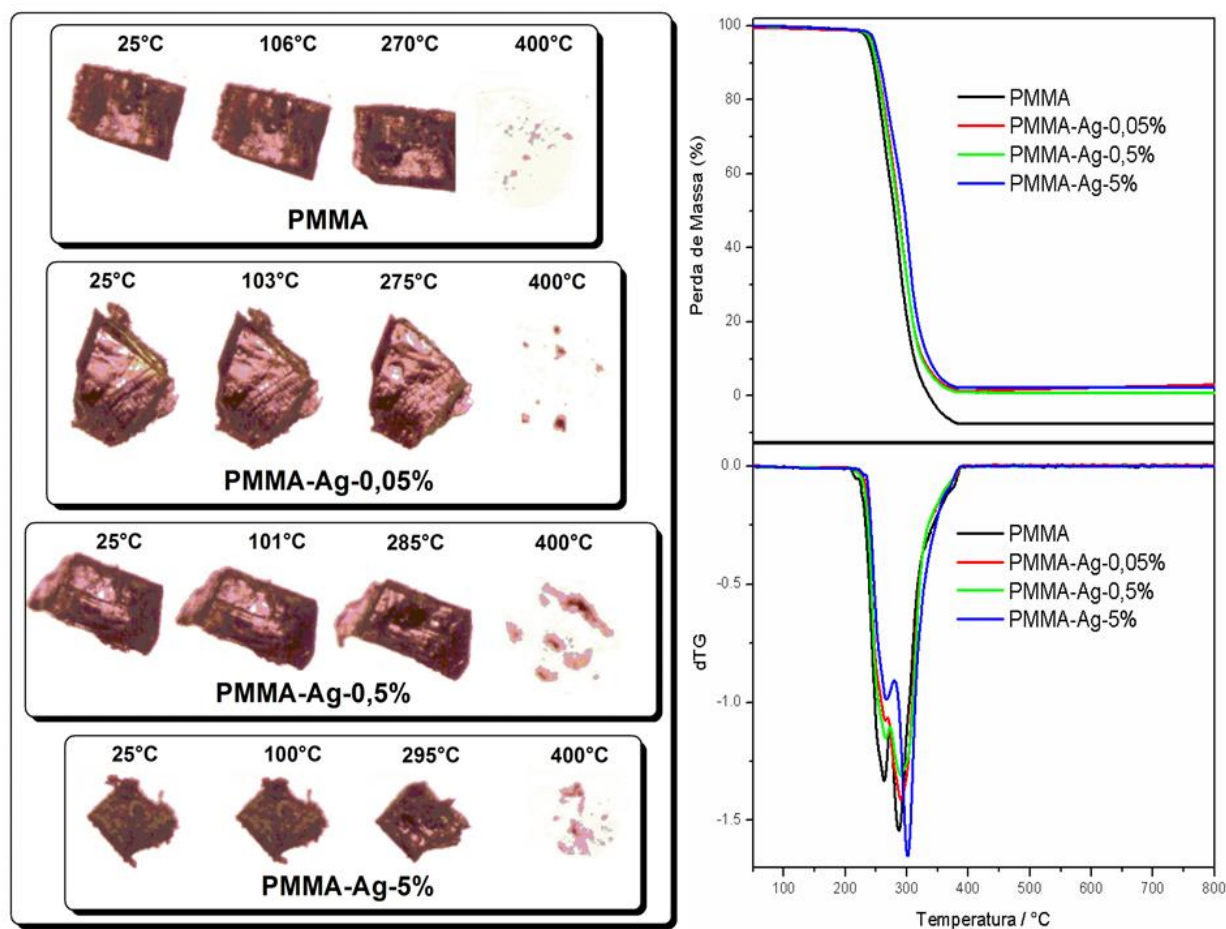


FIGURA 5.21 - Micrografias de *Hot Stage* e análise termogravimétrica em atmosfera oxidativa do PMMA e de seus nanocompósitos.

A influência da presença e a porcentagem de nanopartículas de prata no PMMA, bem como de seus produtos de substituição, foi realizada através de calorimetria exploratória diferencial (DSC), com o objetivo de determinar a temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura na qual se inicia os movimentos de segmentos da cadeia polimérica passando de um comportamento vítreo para borrachoso¹⁵³. A FIGURA 5.22 mostra as curvas DSC obtidas para o PMMA e seus nanocompósitos.

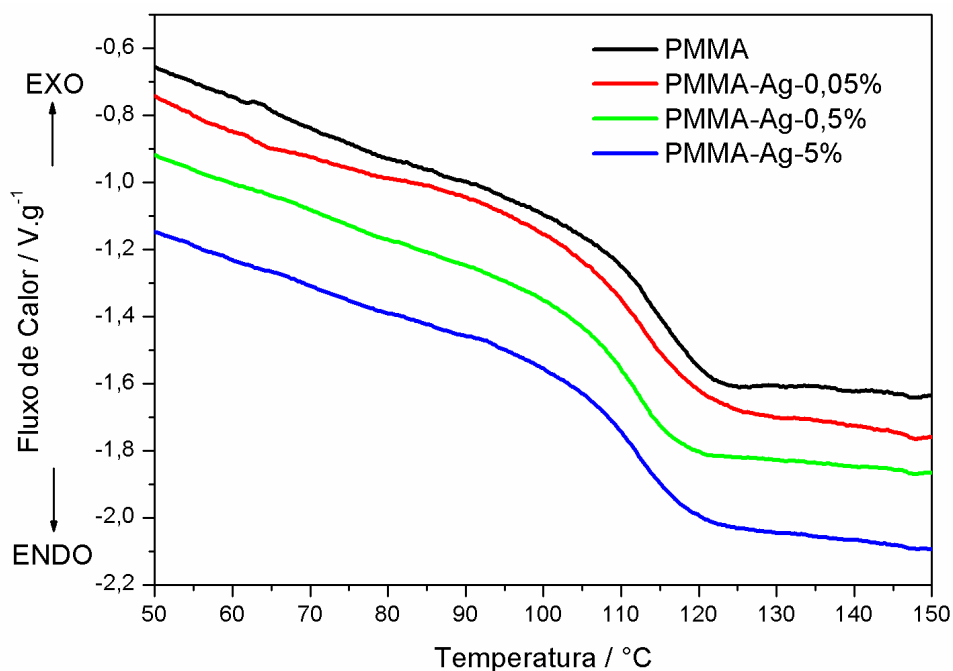


FIGURA 5.22 - Curva DSC do PMMA e de seus nanocompósitos.

Os valores das temperaturas de transição vítrea foram obtidos pelo método na meia altura dos prolongamentos, que é encontrado a partir do prolongamento das linhas tangentes à curva antes e após a transição, traçando uma linha perpendicular a esses prolongamentos, a qual é cortada ao meio pela curva de DSC. Os valores de T_g obtidos para o polímero e seus nanocompósitos estão listados na TABELA 5.6.

TABELA 5.6 - Valores de T_g do PMMA e de seus nanocompósitos.

Amostra	Temperatura de T_g (°C)
PMMA	115
PMMA-Ag-0,05% Ag	113
PMMA-Ag-0,5%	112
PMMA-Ag-5%	111

De acordo com Kong e Jang (2008)¹², a T_g pode ser influenciada pela espessura do polímero e para o PMMA varia de 97 – 125°C. A inserção de cargas na cadeia lateral do polímero leva a duas principais consequências: a diminuição da polaridade e a consequente diminuição das interações intermoleculares.

Estes dois fatores levam a uma redução na T_g . Porém, a queda foi muito pequena o que pode ser justificado por um pequeno grau de substituição. Canevarolo Jr (2002)¹⁵⁴ relata que a presença de cargas se aloja entre as cadeias poliméricas, afastando-as uma das outras. Esse afastamento reduz a força de atração intermolecular secundária, aumentando a mobilidade das cadeias, ou seja, lubrificando-as. Essa lubrificação molecular reduz o nível energético necessário para dar mobilidade à cadeia polimérica, reduzindo a temperatura de transição vítrea do polímero. Por outro lado, nenhuma mudança significativa na capacidade calorífica.

Também não foi observada nenhuma alteração na capacidade calorífica a T_g (ΔC_p), foi observada com a inserção de nanopartículas de Ag na matriz polimérica, indicando a ausência de uma fase interfacial rígida entre os materiais inorgânico-orgânicos¹⁵⁵. Deste modo, mesmo com a alteração discreta da T_g nos nanocompósitos, o conteúdo amorfo da matriz polimérica não foi alterada e não poderia comprometer a sua utilização em próteses dentárias.

Para identificar e caracterizar componentes voláteis de materiais poliméricos tal como monomêros residuais, a técnica de espectrometria de massa acoplada com cromatografia gasosa (CG-MS) foi utilizada. Para o estudo da pirólise

de polímeros, sistemas combinados têm sido utilizados para degradar o polímero, separar e identificar os produtos gerados. O espectro dos produtos voláteis gerados na pirólise do PMMA e de seus nanocompósitos é mostrado na FIGURA 5.23.

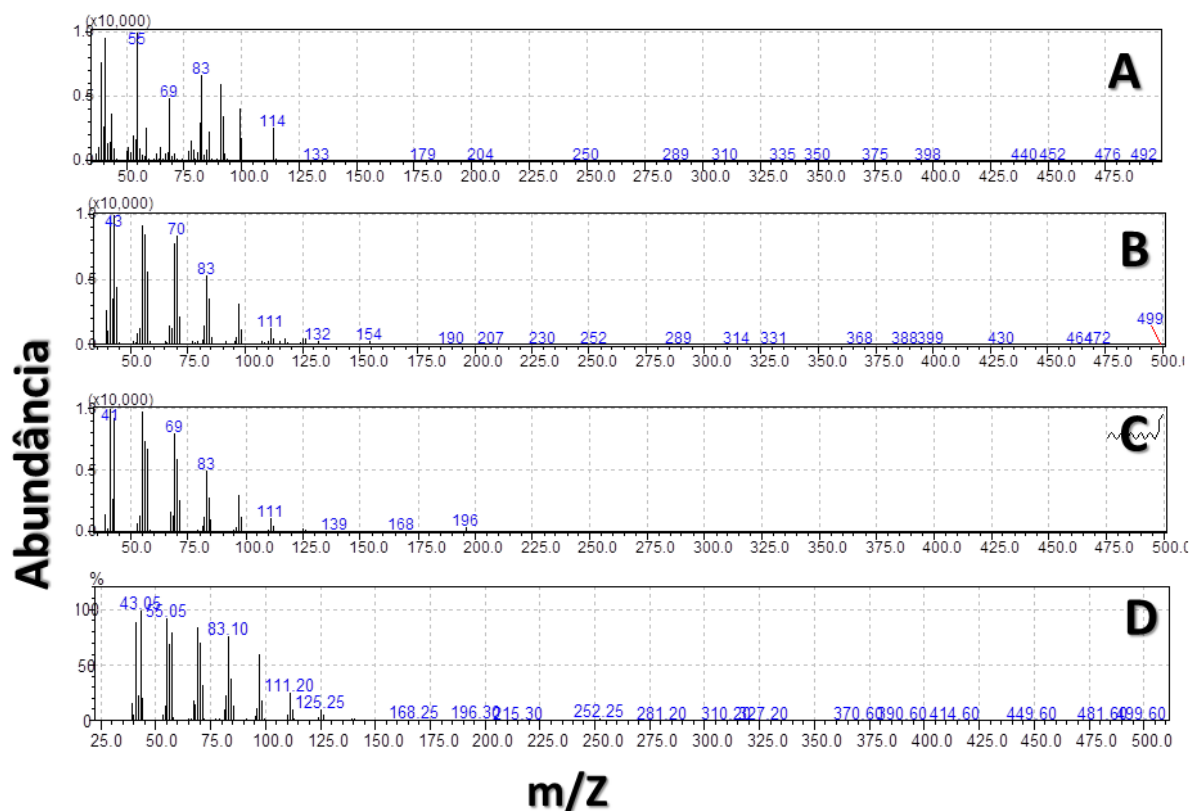


FIGURA 5.23 - Espectro de massa dos produtos voláteis gerado com a pirólise. A) PMMA, B) PMMA-Ag 0,05%, C) PMMA-Ag 0,5% e D) PMMA-Ag 5%.

Os picos presentes com razão massa carga (m/Z) de 100, 69, 59, 41, 39 e 15, correspondem a fragmentos característicos do metacrilato de metila. Portanto, a reação predominante de degradação é a despolimerização, onde ocorre a quebra da cadeia terminal¹⁵⁶. O pico presente no composto A com m/Z em 114 é característico do grupamento ($-CH_2-$) presente em uma segunda estrutura monomérica. Os picos presente nos composto B, C e D com m/Z 111 sugere a presença do átomo de Na que está presente na composição do pó de Lucitone 550.

O processo de clivagem do metacrilato de metila cujos fragmentos dão origem aos picos observados do espectro de massa é mostrado na FIGURA 5.24,

confirmando que o produto principal da degradação do PMMA e de seus nanocompósitos é o monômero metacrilato de metila.

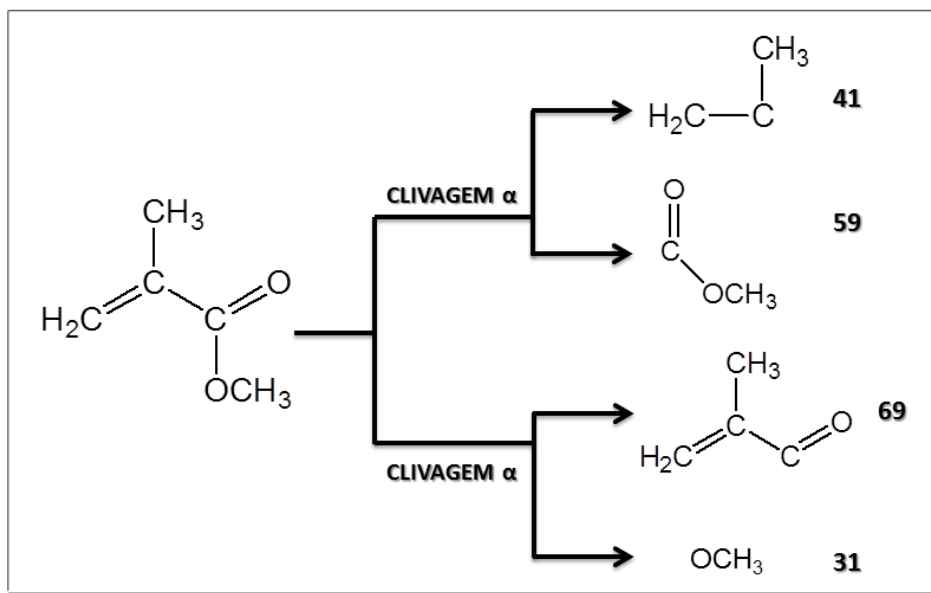


FIGURA 5.24 - Processo de clivagem do metacrilato de metila.

Para caracterizar o comportamento mecânico de materiais a técnica de DMTA é uma das mais sensíveis, na qual é baseada na observação da resposta viscoelástica de um material submetido a uma pequena tensão oscilatória, quando submetidos em função da temperatura. Esta técnica separa o comportamento viscoelástico em dois componentes: uma parte real, o módulo elástico ou de armazenamento (E'); e uma parte imaginária, o amortecimento ou módulo de perda (E'') e o $\tan \delta$ (a relação entre E''/E'), que é uma medida do comportamento de amortecimento, responsável por determinar a ocorrência de transições de mobilidade molecular, tais como a temperatura de transição vítrea¹⁵⁷. Os resultados de DMTA são mostrados na FIGURA 5.25.

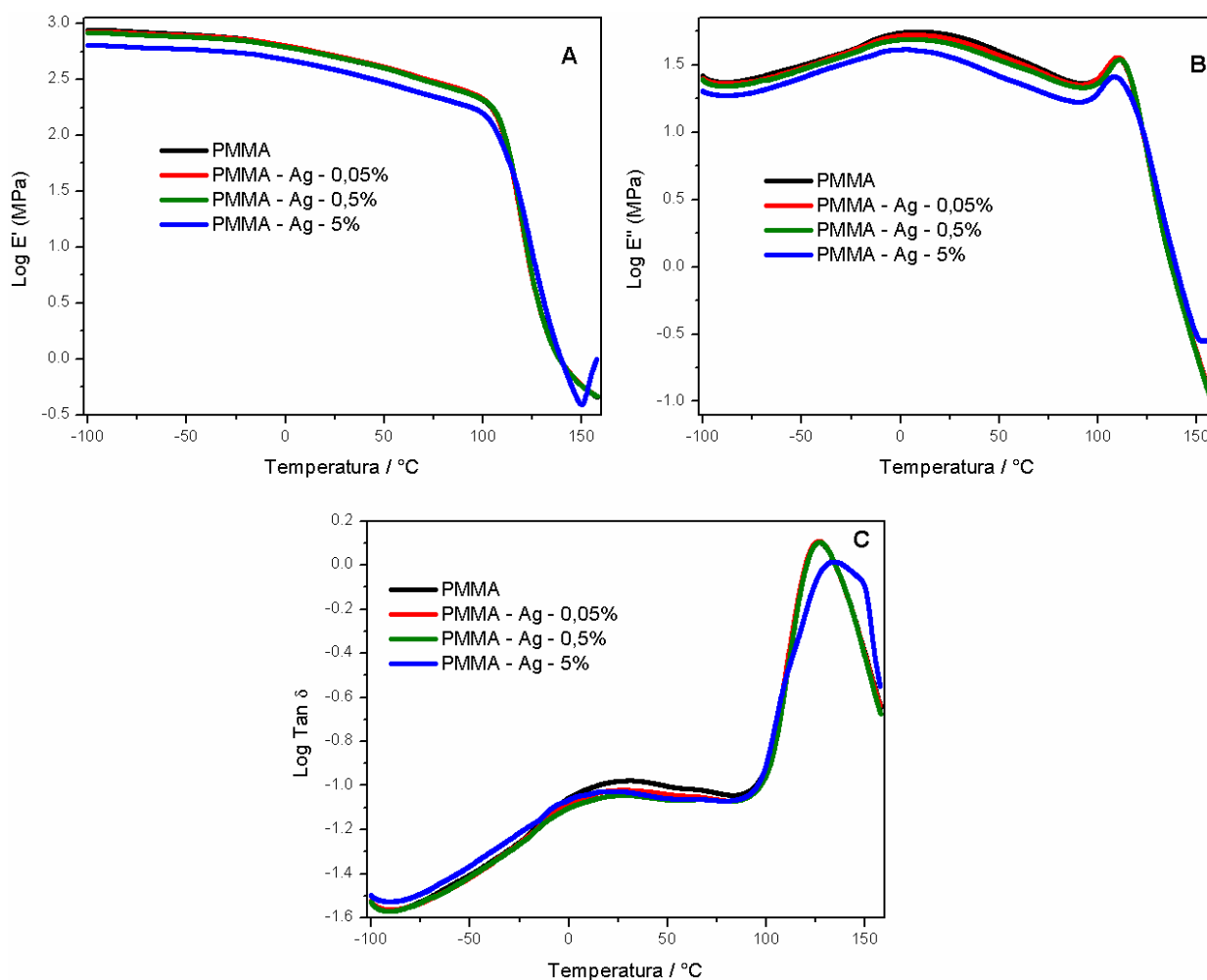


FIGURA 5.25 - DMTA do PMMA e de seus nanocompósitos. A: Módulo de Armazenamento; B: Módulo de perda e C: $\text{Tan } \delta$.

No PMMA, em temperaturas acima de 100°C ocorre a relaxação primária, relaxação α , que é resultante dos movimentos moleculares a longas distâncias, que envolvem os segmentos da cadeia polimérica principal, como observado na T_g . A T_g é facilmente visualizada pela queda abrupta do módulo de armazenamento e pelos picos das curvas no módulo de perda e $\text{tan } \delta$. A temperatura correspondente ao máximo do pico que aparece a temperatura mais alta na curva $E'' \times T$ foi atribuída à temperatura de transição vítrea ou T_g , em aproximadamente 110°C.

Abaixo da T_g ocorrem as relaxações secundárias, relaxação β , com movimentação molecular de grupos ou parte de grupos laterais. No PMMA, está

relacionada com a rotação do grupo éster ligada à cadeia principal (movimentos moleculares locais), apresentado no estado vítreo do polímero em 20°C ¹⁵⁸. As curvas de módulo de perda (Figura 5.25(b)) apresentaram um pico centrado em aproximadamente 20 °C referente à transição β do PMMA. A relaxação β do PMMA é devido à rotação do grupo éster (Figura 5.26). Embora seja amplamente aceito que a relaxação β em polímeros acrílicos esteja associada à rotação intramolecular do grupo COOR, também há evidências de que esta relaxação esteja associada a interações intermoleculares.

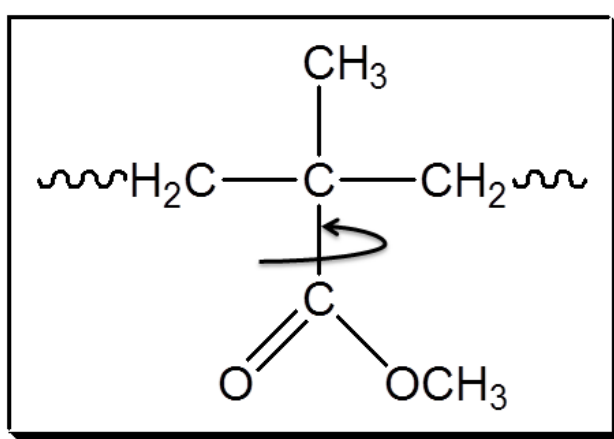


FIGURA 5.26 - Representação esquemática do movimento molecular na relaxação secundária do PMMA.

A FIGURA 5.25 mostra os processos de transição detectados no PMMA. Quando as nanopartículas foram incorporadas ao PMMA, ambos E' , E'' e $\tan \delta$ foram muito semelhantes para os nanocompósitos com menor concentração de AgNPS em ambos os estados, vítreos e de borracha, exceto para o nanocompósito com 5% de colóide de Ag, que apresentou uma redução nos módulos de perda e armazenamento quando comparado ao PMMA puro, especialmente no estado vítreo. Este comportamento combinado com a pequena redução na T_g e nas relaxações β , observada pelos picos na curva de E'' , que é atribuído a um efeito de plastificação, uma vez que os movimentos da cadeia locais e de longa distância foram facilitados pela incorporação de nanopartículas distribuídos na matriz polimérica ¹⁵⁹. KOPESKY et al., (2005) ¹⁵⁹ também observou redução nas propriedades termo-mecânicas em misturas de PMMA com concentrações variáveis de silsesquioxano poliédrico oligomérico (POSS), que funcionou como um

plastificante, mesmo com boa miscibilidade, bem como Saladino et al. (2012)¹⁶⁰ que observou menor módulo de armazenamento na presença de nanopartículas de sílica em nanocompósitos de PMMA.

Comparando-se os resultados das medidas de DSC com as de DMTA, pode-se observar que em ambas, os nanocompósitos apresentaram uma variação linear da sua T_g (FIGURA 5.27), observando que, os nanocompósitos apresentaram temperaturas de transição vítrea menores quando comparadas com o polímero puro, devido às interações do colóide de prata com PMMA, que promovem maiores mobilidades das cadeias poliméricas. Os métodos dinâmico-mecânicos são muito sensíveis às transformações que ocorrem em nível molecular, sendo capazes de detectar não só movimentos significativos como a T_g , como também mais discretos conhecidos como transições secundárias¹⁶¹.

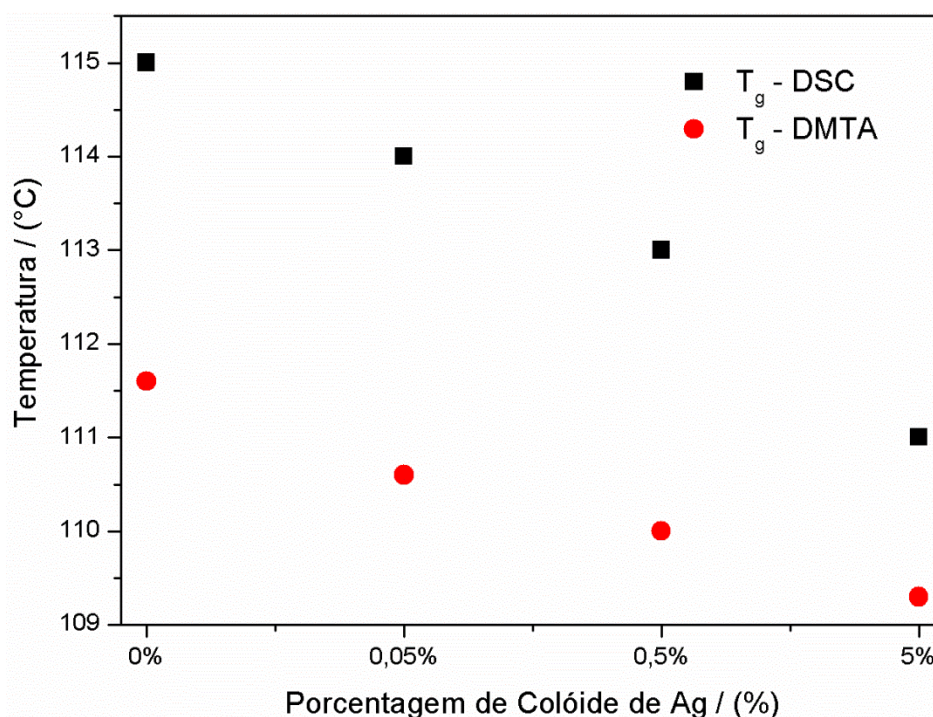


FIGURA 5.27 - Valores de T_g obtidos pelas técnicas de DMTA e DSC.

A habilidade dos polímeros para absorver a energia mecânica e para dispersá-la como calor é chamada de propriedade de amortecimento ou “*damping*”. Devido à natureza viscoelástica, os polímeros possuem propriedades de

amortecimento, especialmente na região de transição do estado vítreo para o estado viscoso, ou seja, perto da temperatura de transição vítrea, em que a frequência dos movimentos coordenados dos segmentos das cadeias poliméricas é a mesma que a taxa (frequência) da ação mecânica. Portanto, próximo a T_g , os polímeros têm valores máximos da tangente e do módulo de perda mecânica, $\tan \delta$ e E'' respectivamente, sendo uma medida da energia dissipada. Sabe-se também, que as propriedades viscoelásticas dos polímeros dependem da sua estrutura química e intermolecular, por isso é necessário levar em consideração que certas classes de polímeros têm elevadas perdas mecânicas na região de transição vítrea.

5.4 - Caracterização Mecânica do PMMA e de seus Nanocompósitos

Os resultados e análise estatística dos testes mecânicos de dureza e resistência mecânica à flexão de 3 pontos estão mostrados nas FIGURAS 5.28 e 5.29, respectivamente.

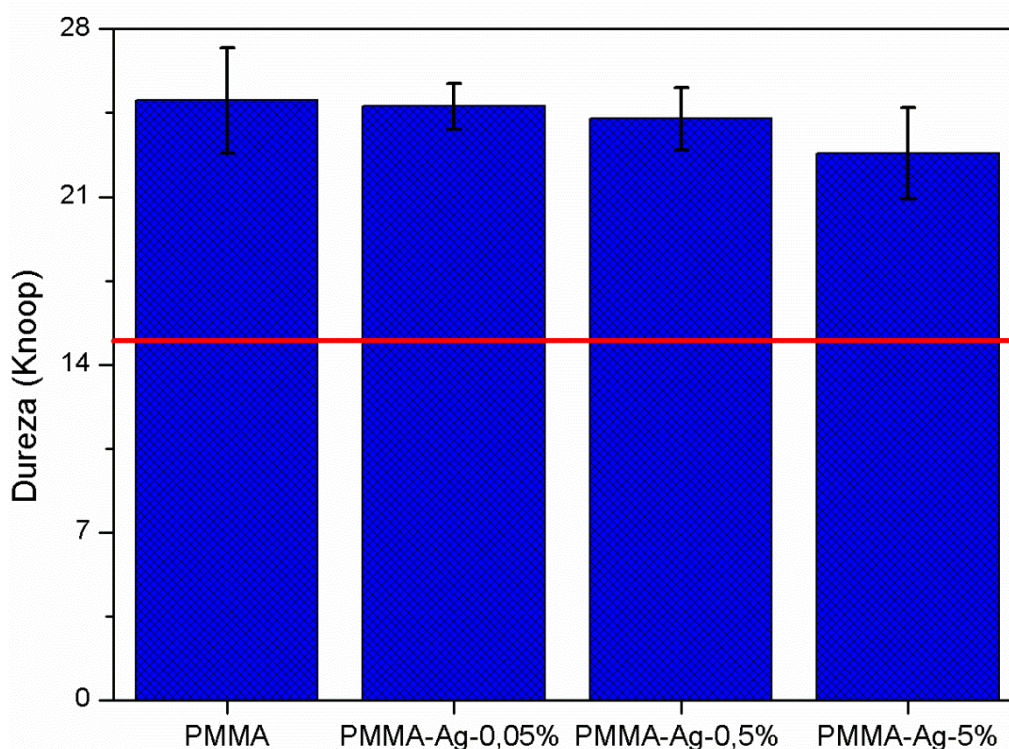


FIGURA 5.28 - Teste de dureza para o PMMA e seus nanocompósitos.

Observando-se a FIGURA 5.28 nota-se que estatisticamente todos os grupos apresentaram o mesmo valor de dureza. Individualmente, a diminuição nos valores de dureza nos nanocompósitos em relação à matriz polimérica pode ser devido à penetração da solução coloidal na camada amorfa superficial das resinas acrílicas, exercendo um efeito plastificante ou amolecedor desta camada e sugeriram a existência de uma interação química entre as nanopartículas de prata e a camada superficial de resina.

Em relação às afirmações acima, os valores médios de dureza superficial encontrados neste trabalho podem ser considerados bons para todos os grupos de resinas acrílicas analisadas, uma vez que a *American Dental Association* (1958), através de sua especificação nº12, estabeleceu que a dureza superficial das resinas acrílicas para dentes artificiais não pode apresentar valores inferiores a 15,00 Knoop. Assim, como não há uma especificação própria para a dureza superficial das resinas acrílicas para base de dentaduras, esta especificação nº12 para as resinas de dentes artificiais pode ser utilizada como parâmetro e, então, se para os dentes artificiais que recebem todas as cargas oriundas das funções mastigatórias um valor de dureza¹⁶².

Os resultados dos ensaios mecânicos de resistência à flexão de 3 pontos estão mostrados na FIGURA 5.29.

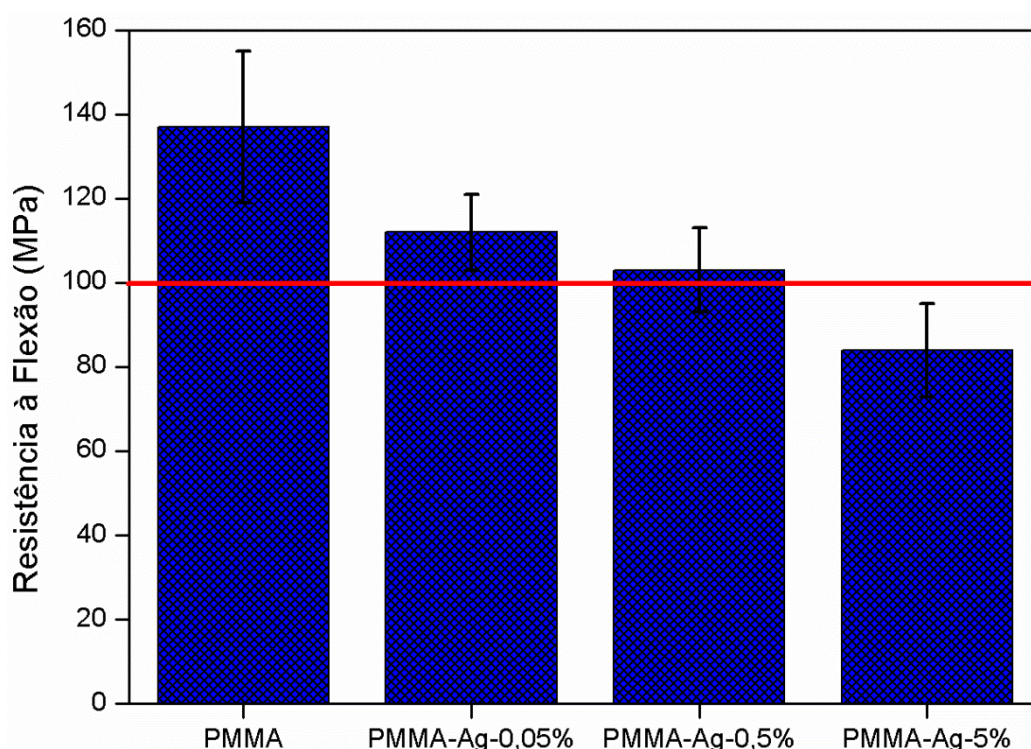


FIGURA 5.29 - Ensaio mecânico de flexão de 3 pontos do PMMA e de seus nanocompósitos.

A norma ISO 4049 é a utilizada para avaliar esta propriedade mecânica desses materiais restauradores. De acordo com esta norma, a resistência à flexão mínima aceitável para as resinas acrílica de uso odontológico é de 100 Mpa. Como observado nos resultados, somente o nanocompósito contendo maior porcentagem de colóide de prata apresenta valor menor que 100 MPa, assim as demais resinas acrílicas utilizadas neste estudo apresentaram valores médios superiores, sendo, aceitáveis clinicamente quanto à propriedade de resistência à flexão. A diminuição na resistência à flexão ocorreu pois, o grau de conversão da resina acrílica foi afetado após a adição dos colóides de prata, aumentando a quantidade de monômero residual que age como plastificante ¹⁶³. CASEMIRO et al., 2008 ¹⁶⁴, também observaram queda na resistência à flexão após a incorporação de prata e zinco em três resinas acrílicas comercialmente disponíveis. Esses autores explicam que a redução do grau de conversão da resina relacionado à maior quantidade de monômero residual poderia ter influenciado os resultados obtidos.

5.5 - Avaliação Microbiológica do PMMA e de seus Nanocompósitos Frente ao Fungo *Candida glabrata*

O presente estudo analisou o efeito antimicrobiano do PMMA associado à nanopartículas de prata em diferentes concentrações frente ao fungo *Candida glabrata* (*C.glabrata*) ATCC 90030. Foram realizadas análises da biomassa total através do método de cristal violeta (CV), análise de atividade metabólica pelo teste de XTT e contagem de unidades formadoras de colônia (CFU) além da análise estrutural dos biofilmes por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). O CV é um ensaio que avalia a densidade de células, corando células vivas, mortas e matriz extracelular após tratamento e lavagem do excesso de corante, verificadas a uma absorvância de 570 nm em espectrofotometria. O teste do XTT é baseado na habilidade de enzimas mitocondriais de converterem sais solúveis de tetrazolium em compostos solúveis de formazan, verificando assim a atividade metabólica celular, através de sua absorvância (490 nm). O CFU é um ensaio utilizado para quantificar o número celular de bactérias/fungos viáveis presentes em biofilme.

A Figura 5.30 mostra o efeito de diferentes concentrações de nanopartículas nos nanocompósitos avaliando a biomassa total de células de *C.glabrata* aderidas às superfícies acrílicas. Os nanocompósitos preparados com concentrações de 0,05%, 0,5% e 5% levaram uma redução na biomassa da *C.glabrata* de 35%, 17% e 28%, respectivamente, comparados ao PMMA.

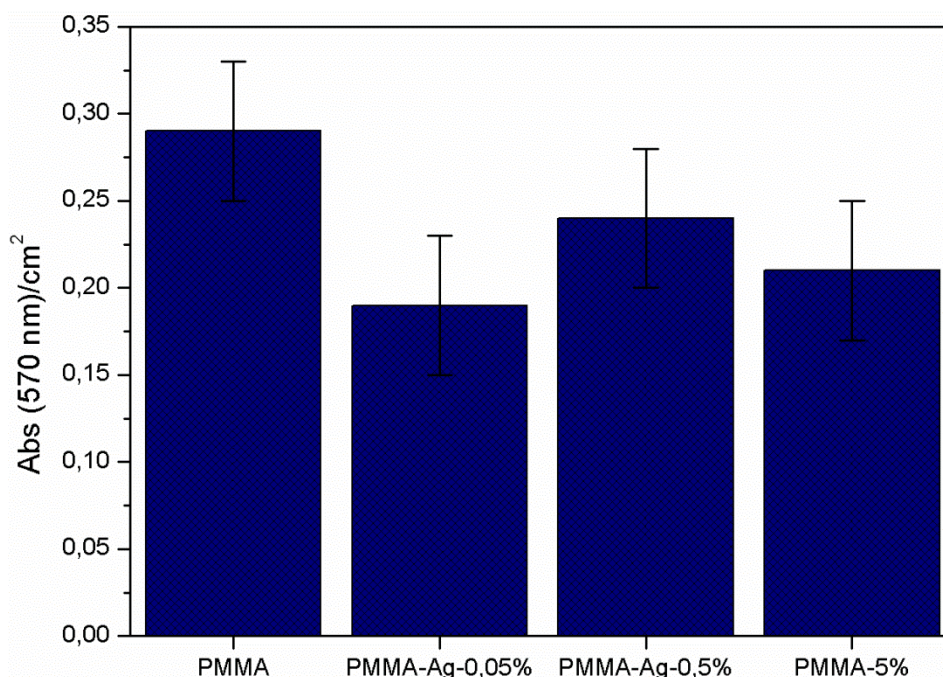


FIGURA 5.30 - Absorbâncias médias por cm² obtido por medida de CV no PMMA e seus nanocompósitos.

A atividade bactericida das nanopartículas de prata tem sido atribuída a diferentes mecanismos, tais como, contato direto entre as nanopartículas e o microrganismo causando desregulação das funções vitais da bactéria/fungo, e a geração de espécies reativas de oxigênio que interagem com a membrana do microrganismo liberando de forma lenta os íons prata que interferem na replicação do DNA através de reações químicas com o grupamento tiol ¹⁶⁵. O pequeno tamanho das nanopartículas de prata contribuiu para esta ação antimicrobiana devido à sua maior permeação na membrana do fungo *C. Glabrata*. Estes resultados sugerem que a diminuição na biomassa total nos nanocompósitos foi, provavelmente, devido à desregulação e a permeabilidade das nanopartículas de prata na membrana do fungo, o que acarretou na morte das células microbianas presentes membrana do fungo ¹⁶⁶.

Os resultados de XTT mostrados na Figura 5.31 para *C.glabrata* mostraram que as maiores reduções na atividade metabólica foram para o nanocompósito com 0,05% de nanopartículas de prata. Os nanocompósitos

preparados com concentrações de 0,05%, 0,5% e 5% levaram a redução na atividade metabólica de 57%, 15% e 28%, respectivamente, comparados ao PMMA.

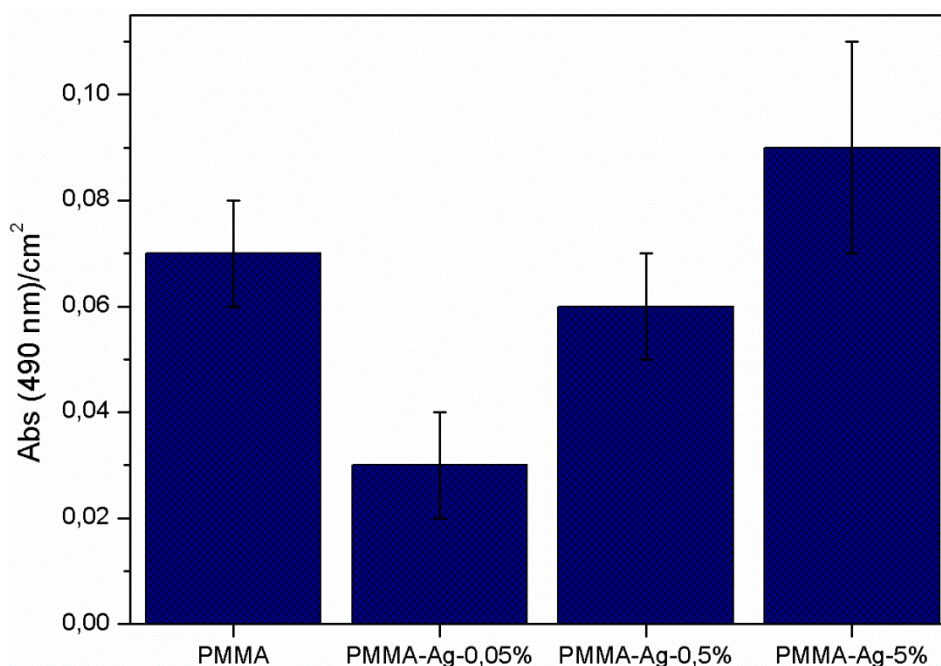


FIGURA 5.31 - Absorbâncias médias por cm² obtido por ensaios de XTT no PMMA e seus nanocompósitos.

Os ensaios de CV e XTT mostraram que o nanocompósito contendo 0,05% de Ag reduziu significativamente (em comparação ao PMMA) a biomassa total e a atividade metabólica das células no biofilme. Esses dois resultados são positivos, visto que:

- I. A biomassa total (ensaio de cristal violeta) quantifica células e a matriz extracelular dos biofilmes mesmo não ocorrendo redução no número de células (CFU) para o grupo 0,05% a biomassa foi reduzida sugerindo assim que houve a redução de produção de matriz extracelular.
- II. Para o grupo 0,05%, embora o número de células não tenha reduzido de maneira significativa, essas células apresentaram atividade metabólica significativamente reduzida (ensaio de XTT), assim sugerindo que a ação das nanopartículas de prata apresentou um efeito fungistático.

Os valores médios do \log_{10} CFU/cm² estão demonstrados na Figura 5.32. Após 24 horas de incubação das células de *C. glabrata*, verificou-se que não há reduções significativas no número de células aderidas do biofilme nos nanocompósitos em comparação com o PMMA.

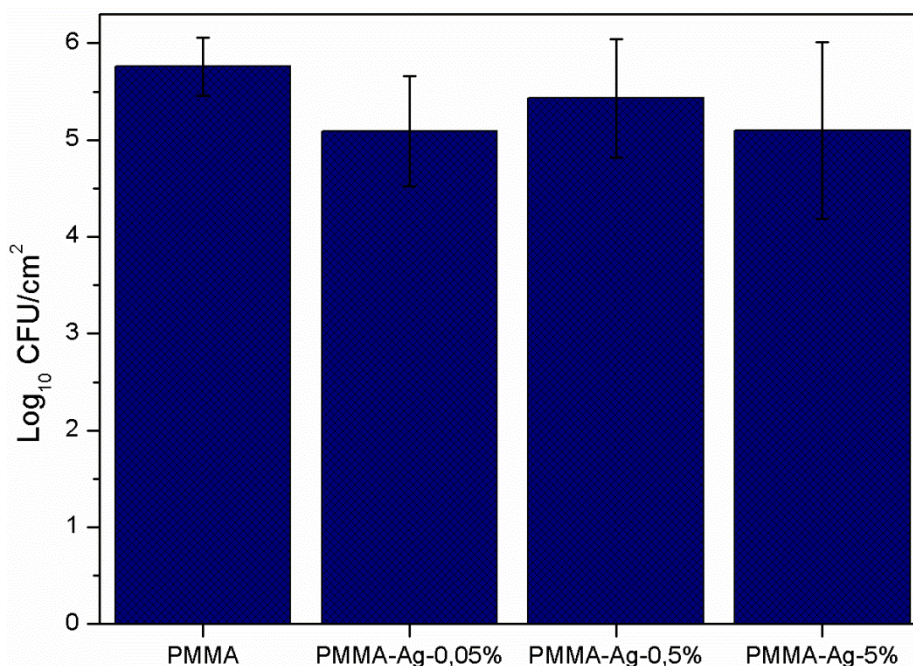


FIGURA 5.32 – Valores médios do logaritmo de colônias formadas por cm² para o PMMA e seus nanocompósitos.

A literatura relata que apesar da atividade bactericida de soluções de nanopartículas de prata contra vários microrganismos, informações sobre o efeito dessas nanopartículas após a sua incorporação em polímeros para base de prótese é limitada ¹⁶⁷. Alguns estudos têm sugerido nanopartículas de prata incorporadas em polímeros apresentam ação bactericida por meio da liberação de íons de prata ¹². A liberação de íons de prata / nanopartículas de prata tem sido considerada como uma contribuição adicional para o efeito antimicrobiano das nanopartículas de prata ¹⁶⁸. Essa liberação é baseada na difusão de moléculas de água para dentro da resina acrílica e na migração de íons de prata através do polímero para o meio aquoso ¹⁰.

Após a incorporação de nanopartículas de prata à resina acrílica para base de prótese, não houve efeito antifúngico significativo, pois a resina acrílica para base protética *Lucitone 550* contém um agente muito utilizado para a formação de ligação cruzada (etilenoglicol dimetacrilato) no polímero. Assim, é provável que devido à formação da estrutura polimérica, as nanopartículas de prata ficaram retidas no interior das cadeias poliméricas e sua liberação para o meio aquoso foi restringida. Assim, a ausência de propriedade antifúngica da resina acrílica à base de PMMA, após a incorporação das nanopartículas de prata, observada no presente estudo, poderia estar relacionada a pouca liberação de íons de prata ou de nanopartículas de prata pelas amostras ¹⁶⁹.

A Figura 5.33 mostra as células do fungo *C. glabrata* aderido na superfície do PMMA e de seus nanocompósitos.

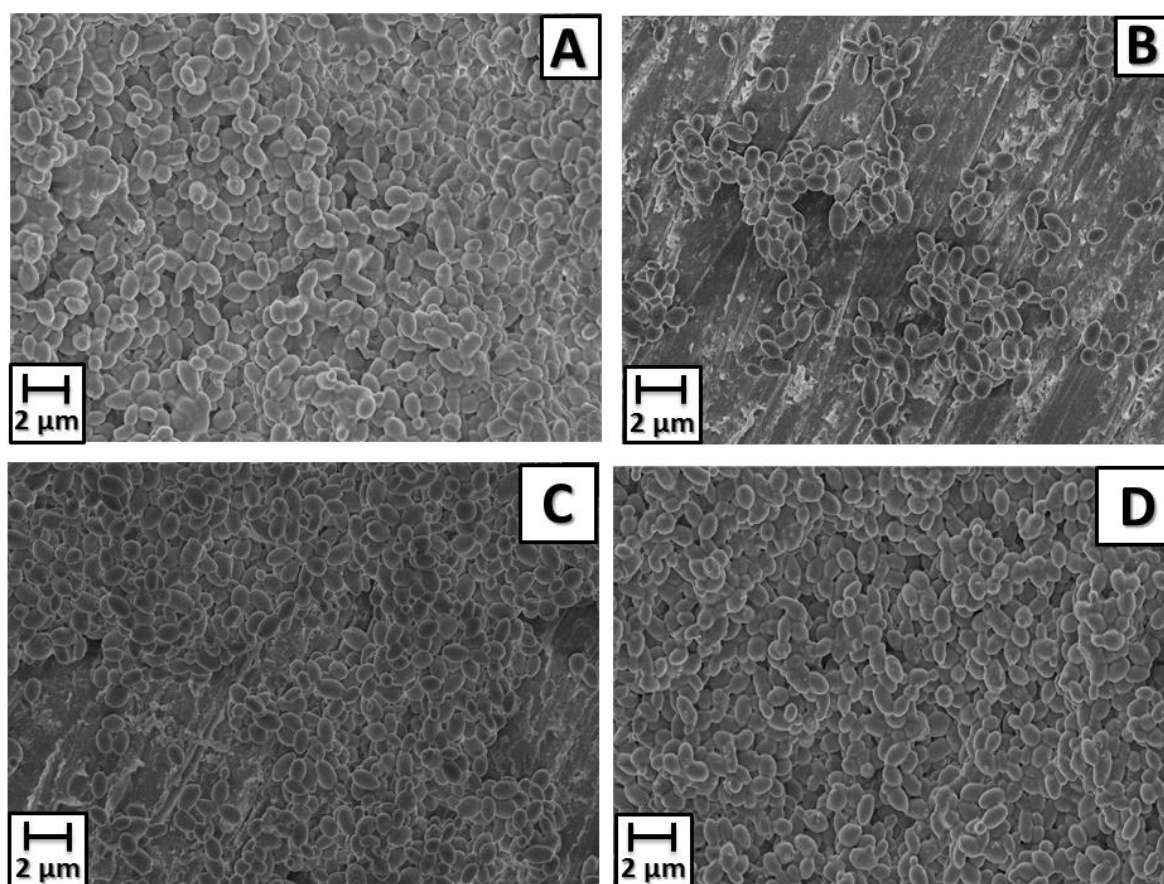


FIGURA 5.33 Micrografias das superfícies das resina acrílicas contendo o fungo *C.glabrata* incubado por 24h. A) PMMA; B) PMMA-Ag-0,05%; C) PMMA-Ag-0,5%; D) PMMA-Ag-5%.

Observa-se que a resina acrílica apresenta um aglomerado de microrganismo com formato esférico aderido em sua superfície. Os nanocompósitos não apresentaram uma redução significativa quanto à adesão do fungo *C. glabrata* ATCC 90030 em sua superfície.

CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES

Este trabalho teve como principal foco estudar a síntese de nanopartículas de prata e do PMMA e do nanocompósito PMMA-Ag em diferentes proporções. Com base nos procedimentos adotados e nos resultados obtidos, podem ser feitas as seguintes considerações:

- Foi possível, através da metodologia utilizada, obter partículas de prata, composto polimérico PMMA e os seus nanocompósitos.
- Pelo método de Turkevich, foram preparadas partículas de prata variando-se as temperaturas no qual foi processada a síntese, apresentando coloração amarela e banda plasmon centrada em um comprimento de aproximadamente 420 nm característica das nanopartículas de prata.
- As mesmas apresentaram estrutura cúbica de face centrada confirmada com a difração por raio X com diâmetro dos cristalitos da ordem de 7 nm para as amostras sintetizadas à 90 e 85°C e de 2 nm para a amostra sintetizada à 80°C obtidos pela Equação de Scherrer e confirmado com a MET.
- O processamento do PMMA foi confirmado através de dados extraídos do espectro de FT-Raman no qual apresentaram bandas de absorção dos grupamentos ésteres característico do PMMA e deslocamento químico característico do mesmo. Os nanocompósitos não apresentaram mudança significativa nos valores de absorção e deslocamento químico devido à pequena quantidade de substituinte presente nas amostras.
- Com as análises térmicas foi possível estimar a estabilidade térmica das amostras. Quanto maior a porcentagem de substituinte maior o valor de temperatura no qual a amostra começa a degradar confirmado por TGA e menor seu valor de T_g confirmado por DSC e DMTA.
- A morfologia do polímero e de seus nanocompósitos foi verificada por MEV e observa-se que as nanopartículas de prata (partículas esféricas) somente foram visíveis no nanocompósito com maior grau de substituição na matriz polimérica.

- Com relação aos testes mecânicos, os valores de dureza estão dentro da norma da ADA especificação número 12 apresentando, valores de dureza acima de 15 Knoop e para os testes mecânicos de resistência à flexão de 3 pontos somente o nanocompósito com maior porcentual de nanopartículas de prata apresentou resultado de resistência à flexão menor que 100 MPa como preconizada pela ISO 4049, sendo que clinicamente os nanocompósitos com grau de substituição de 0,05% e 0,5% podem ser aplicados à odontologia.
- Os testes microbiológicos frente ao fungo *Candida glabrata* mostraram que o nanocompósito com grau de substituição de 0,05% apresentou maiores reduções na biomassa total e atividade metabólica através dos ensaios de CV e XTT. Quanto ao teste de CFU os resultados mostraram que não há redução significativa nas colônias na superfície dos nanocompósitos, o que sugere que somente uma fração das nanopartículas de prata está na superfície dos nanocompósitos.

CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. KOMARNENI, S. "Nanocomposites". *J. Mater. Chem.*, **2** (12): 1219, 1992.
2. LAINE, R. M.; CHOI, J. & LEE, I. "Organic-inorganic nanocomposites with completely defined interfacial interactions". *Adv. Mater.*, **13** (11): 800, 2001.
3. HUSSAIN, F. "Review article: polymer-matrix nanocomposites, processing, manufacturing, and application: an overview". *J. Compos. Mater.*, **40** (17): 1511, 2006.
4. LI, S.; LIN, M. M.; TOPRAK, M. S.; KIM, D. K. & MUHAMMED, M. "Nanocomposites of polymer and inorganic nanoparticles for optical and magnetic applications". *Nano Rev.*, **1**: 5214, 2010.
5. DAI, J. & BRUENING, M. L. "Catalytic nanoparticles formed by reduction of metal ions in multilayered polyelectrolyte films". *Nano Lett.*, **2** (5): 497, 2002.
6. LUONG, N. D.; LEE, Y. & NAM, J.-D. "Highly-loaded silver nanoparticles in ultrafine cellulose acetate nanofibrillar aerogel". *Eur. Polym. J.*, **44**: 3116, 2008.
7. WUITHSCHICK, M.; PAUL, B.; BIENERT, R.; SARFRAZ, A.; VAINIO, U.; SZTUCKI, M.; KRAEHNERT, R.; STRASSER, P.; RADEMANN, K.; EMMERLING, F. & POLTE, J. "Size-controlled synthesis of colloidal silver nanoparticles based on mechanistic understanding". *Chem. Mater.*, **25**: 4679, 2013.
8. SINGH, R.; SHEDBALKAR, U. U.; WADHWANI, S. A. & CHOPADE, B. A. "Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications". *Appl. Microbiol Biot.*, **99**: 4579, 2015.
9. JUNG, W. K.; KOO, H. C.; KIM, K. W.; SHIN, S.; KIM, S. H. & PARK, Y. H. "Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*". *Appl. Environ. Microbiol.*, **74** (7): 2171, 2008.
10. KUMAR, R. & MÜNSTEDT, H. "Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites". *Biomaterials*, **26**: 2081, 2005.

11. DAMM, C.; MÜNSTEDT, H. & RÖSCH, A. "The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano- and microcomposites". *Mater. Chem. Phys.*, **108**: 61, 2008.
12. KONG, H. & JANG, J. "Antibacterial properties of novel poly(methyl methacrylate) nanofiber containing silver nanoparticles". *Langmuir*, **24**: 2051, 2008.
13. MONTEIRO, D. R.; GORUP, L. F.; TAKAMIYA, A. S.; RUVOLLO-FILHO, A. C.; CAMARGO, E. R. & BARBOSA, D. B. "The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver". *Int. J. Antimicrob. Ag.*, **34**: 103, 2009.
14. SODAGAR, A. A., B.; KASSAEE, M. Z.; POURAKBARI, B.; ARAB, S. & BAHADOR, A. "Anti-cariogenic effect of polymethylmethacrylate with in situ generated silver nanoparticles on planktonic and biofilm bacteria". *Ann. Biol. Res.*, **4** (8): 211, 2013.
15. BAHADOR, A. P., B.; GHORBANZADEH, R.; MOGHADAM, S. O. & SODAGAR, A. "Anti-bacterial of polymethylmethacrylate with in situ generated silver nanoparticles on primary colonizers of human dental plaque and cariogenic bacteria". *Annu. Res. Rev. Biol.* , **4** (10): 1587, 2014.
16. VALADARES, L. F. "Biobased fibers and materials in Brazil". *Chem. Biol. Technol. Agric.*, **1**: 16, 2014.
17. ZARBIN, A. J. G. "Química de (nano)materiais". *Quim. Nova*, **30** (6): 1469, 2007.
18. ROCO, M. C.; MIRKIN, C. A. & HERSAM, M. C. "Nanotechnology research directions for societal needs in 2020: summary of international study". *Nanopart. Res.*, **13**: 897, 2011.
19. GUZ, A. N. & RUSHCHITSKY, J. J. "Establishing foundations of the mechanics of nanocomposites (review)". *Int. Appl. Mech.*, **47** (1): 2, 2011.
20. ZHANG, L. & WEBSTER, T. J. "Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration". *Nano Today*, **4**: 66, 2009.
21. BINNING, G. & ROHRER, H. "Scanning tunneling microscopy - from birth to adolescence". *Rev. Mod. Phys.*, **59** (3): 615, 1987.

22. AITKEN, R. J.; CHAUDHRY, M. Q.; BOXALL, A. B. & HULL, M. "Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends". *Occup. Med. Lond.*, **56**: 300, 2006.
23. WEISS, J.; TAKHISTOV, P. & MCCLEMENTS, D. J. "Functional materials in food nanotechnology". *J. Food Sci.*, **71** (9): R107, 2006.
24. BORSCHIVER, S.; GUIMARÃES, M. J. O. C.; DOS SANTOS, T. N.; DA SILVA, F. C. & BRUM, P. R. C. "Patenteamento em nanotecnologia: estudo do setor de materiais poliméricos nanoestruturados". *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, **15** (4): 245, 2005.
25. LADJ, R.; BITAR, A.; EISSA, M.; MUGNIER, Y.; LE DANTEC, R.; FESSI, H. & ELAISSARI, A. "Individual inorganic nanoparticles: preparation, functionalization and in vitro biomedical diagnostic applications". *J. Mater. Chem. B*, **1**: 1381, 2013.
26. RAI, M.; YADAV, A. & GADE, A. "Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials". *Biotechnol. Adv.*, **27**: 76, 2009.
27. MARAMBIO-JONES, C. & HOEK, E. M. V. "A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment". *J. Nanopart. Res.*, **12**: 1531, 2010.
28. EGGER, S.; LEHMANN, R. P.; HEIGHT, M. J.; LOESSNER, M. J. & SCHUPPLER, M. "Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material". *Appl. Environ. Microbiol.*, **75** (9): 2973, 2009.
29. PALZA, H. "Antimicrobial polymers with metal nanoparticles". *Int. J. Mol. Sci.*, **16**: 2099, 2015.
30. KHOT, L. R.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; EHSANI, R. & SCHUSTER, E. W. "Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review". *Crop Prot.*, **35**: 64, 2012.
31. SILVER, S. "Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds". *FEMS Microbiol. Rev.*, **27**: 341, 2003.

32. BLASER, S. A.; SCHERINGER, M.; MACLEOD, M. & HUNGERBUHLER, K. "Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles". *Sci. Total Environ.*, **390**: 396, 2008.
33. FABREGA, J.; LUOMA, S. N.; TYLER, C. R.; GALLOWAY, T. S. & LEAD, J. R. "Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment". *Environ. Int.*, **37**: 517, 2011.
34. WALSER, T.; DEMOU, E.; LANG, D. J. & HELLWEG, S. "Prospective environmental life cycle assessment of nanosilver T-shirts". *Environ. Sci. Technol.*, **45**: 4570, 2011.
35. LIAU, S. Y.; READ, D. C.; PUGH, W. J.; FURR, J. R. & RUSSELL, A. D. "Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions". *Lett. Appl. Microbiol.*, **25**: 279, 1997.
36. KLASSEN, H. J. "Historical review of the use in treatment of burns. I. Early uses". *Burns*, **26**: 117, 2000.
37. PRABHU, S. & POULOSE, E. K. "Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects". *Int. Nano Lett.*, **2**: 32, 2012.
38. ALEXANDER, J. W. "Historical of the medical use of silver". *Surg. Infect.*, **10** (3): 289, 2009.
39. EDWARD-JONES, V. "The benefits of silver in hygiene, personal care and healthcare". *Lett. Appl. Microbiol.*, **49**: 147, 2009.
40. MANRING, M. M.; HAWK, A.; CALHOUN, J. H. & ANDERSEN, R. C. "Treatment of war wounds: a historical review". *Clin. Orthop. Relat. Res.*, **467**: 2168, 2009.
41. MATEJCEK, A. & GOLDMAN, R. D. "Treatment and prevention of ophthalmia neonatorum". *Can. Fam. Physician*, **59**: 1187, 2013.
42. WHITE, R. J. "An historical overview of the use of silver in wound management". *Br. J. Community Nurs.*, **6**: 3, 2001.
43. ATIYEH, B. S.; COSTAGLIOLA, M.; HAYEK, S. N. & DIBO, S. A. "Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature". *Burns*, **33**: 139, 2007.

44. CASTELLANO, J. J.; SHAFII, S. M.; KO, F.; DONATE, G.; WRIGHT, T. E.; MANNARI, R. J.; PAYNE, W. G.; SMITH, D. J. & ROBSON, M. C. "Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs". *Int. Wound J.*, **4**: 114, 2007.
45. REIDY, B.; HAASE, A.; LUCH, A.; DAWSON, K. A. & LYNCH, I. "Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications". *Materials*, **6**: 2295, 2013.
46. SAMBERG, M. E.; OLDENBURG, S. J. & MONTEIRO-RIVIERE, N. A. "Evaluation of silver nanoparticle toxicity in skin in vivo and keratinocytes in vitro". *Environ. Health Persp.*, **118** (3): 407, 2010.
47. FOX JR, C. L. & MODRAK, S. M. "Mechanism of silver sulfadiazine action on burn wound infections". *Antimicrob. Agents Ch.*, **5** (6): 582, 1974.
48. MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMIREZ, J. T. & YACAMAN, M. J. "The bactericidal effect of silver nanoparticles". *Nanotechnology*, **16**: 2346, 2005.
49. SONDI, I. & SALOPEK-SONDI, B. "Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria". *J. Colloid Interface Sci.*, **275**: 177, 2004.
50. LARA, H. H.; AYALA-NÚÑEZ, N. V.; IXTEPAN TURRENT, L. D. C. & RODRÍGUEZ PADILLA, C. "Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria". *World J. Microb. Biot.*, **26**: 615, 2009.
51. SHAHVERDI, A. R.; FAKHIMI, A.; SHAHVERDI, H. R. & MINAIAN, S. "Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against Staphylococcus aureus and Escherichia coli". *Nanomedicine*, **3**: 168, 2007.
52. JENJOB, S.; THARAWUT, T. & SUNINTABOON, P. "Facile synthesis of silver immobilized-poly(methyl methacrylate)/polyethyleneimine core-shell particle composites". *Mater. Sci. Eng. C*, **32**: 2068, 2012.

53. NARAYANAN, K. B. & PARK, H. H. "Antifungal activity of silver nanoparticles synthesized using turnip leaf extract (*Brassica rapa* L.) against wood rotting pathogens". *Eur. J. Plant Pathol.*, **140**: 185, 2014.
54. GUGGENBICHLER, J.-P.; BÖSWALD, M.; LUGAUER, S. & KRALL, T. "A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters". *Infection*, **27**: S 16, 1999.
55. KIM, H. J.; LEE, M. H.; MUTIHAC, L.; VICENS, J. & KIM, J. S. "Host-guest sensing by calixarenes on the surfaces". *Chem. Soc. Rev.*, **41**: 1173, 2012.
56. DALMASCHIO, C. J.; RIBEIRO, C. & LEITE, E. R. "Impact of the colloidal state on the oriented attachment growth mechanism". *Nanoscale*, **2**: 2336, 2010.
57. TAO, A. R.; HABAS, S. & YANG, P. "Shape Control of Colloidal Metal Nanocrystals". *Small*, **4** (3): 310, 2008.
58. MARTINS, M. A. & TRINDADE, T. "Os nanomateriais e a descoberta de novos mundos na bancada do químico". *Quim. Nova*, **35** (7): 1434, 2012.
59. ZHANG, R.; KHALIZOV, A.; WANG, L.; HU, M. & XU, W. "Nucleation and growth of nanoparticles in the atmosphere". *Chem. Rev.*, **112**: 1957, 2012.
60. MÜLLER, R.; ZANOTTO, E. D. & FOKIN, V. M. "Surface crystallization of silicate glasses: nucleation sites and kinetics". *J. Non-Cryst. Solids*, **274**: 208, 2000.
61. MANRICH, S.; ZANOTTO, E. D. & HAGE JR, E. "Aplicabilidade da teoria clássica de nucleação modificada (CD-CNT) à cristalização de polímeros". *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, **1**: 15, 1992.
62. CUSHING, B. L.; KOLESNICHENKO, V. L. & O'CONNOR, C. J. "Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles". *Chem. Rev.*, **104**: 3893, 2004.
63. ANISIMOV, M. P. "Nucleation: theory and experiment". *Russ. Chem. Rev.*, **72** (7): 591, 2003.
64. WANG, H.; GOULD, H. & KLEIN, W. "Homogeneous and heterogeneous nucleation of Lennard-Jones liquids". *Phys. Rev. E*, **76**: 031604, 2007.

65. HOWARD, M. P. & MILNER, S. T. "A Simple model for heterogeneous nucleation of isotactic polypropylene". *Macromolecules*, **46**: 6593, 2013.
66. LEITE, E. R. & RIBEIRO, C. *Crystallization and Growth of Colloidal Nanocrystals*. 1a ed. New York, Springer, 2012. p. 101.
67. XU, D. & JOHNSON, W. L. "Geometric model for the critical-value problem of nucleation phenomena containing the size effect of nucleating agent". *Phys. Rev. B*, **72**: 052101, 2005.
68. GRANASY, L.; PODMANICZKY, F.; TOTH, G. I.; TEGZE, G. & PUSZTAI, T. "Heterogeneous nucleation of/on nanoparticles: a density functional study using the phase-field crystal model". *Chem. Soc. Rev.*, **43**: 2159, 2014.
69. PARK, J.; JOO, J.; KWON, S. G.; JANG, Y. & HYEON, T. "Synthesis of monodisperse spherical nanocrystals". *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**: 4630, 2007.
70. JANA, N. R.; GEARHEART, L. & MURPHY, C. J. "Seed-mediated growth approach for shape-controlled synthesis of spheroidal and rod-like gold nanoparticles using a surfactant template". *Adv. Mater.*, **13** (18): 1389, 2001.
71. SHEA, C. M. "Future management research directions in nanotechnology: A case study". *J. Eng. Technol. Manage.*, **22**: 185, 2005.
72. MERKEL, T. J.; HERLIHY, K. P.; NUNES, J.; ORGEL, R. M.; ROLLAND, J. P. & DESIMONE, J. M. "Scalable, shape-specific, top-down fabrication methods for the synthesis of engineered colloidal particles". *Langmuir*, **26** (16): 13086, 2010.
73. BISWAS, A.; BAYER, I. S.; BIRIS, A. S.; WANG, T.; DERVISHI, E. & FAUPEL, F. "Advances in top-down and bottom-up surface nanofabrication: techniques, applications & future prospects". *Adv. Colloid Interface Sci.*, **170**: 2, 2012.
74. SINHA, B.; MULLER, R. H. & MOSCHWITZER, J. P. "Bottom-up approaches for preparing drug nanocrystals: formulations and factors affecting particle size". *Int. J. Pharm.*, **453**: 126, 2013.
75. LU, W. & LIEBER, C. M. "Nanoelectronics from the bottom up". *Nature Mater.*, **6**: 841, 2007.
76. USKOKOVIĆ, V. "Nanotechnologies: What we do not know". *Technol. Soc.*, **29**: 43, 2007.

77. BALZANI, V. "Nanoscience and nanotechnology: a personal view of a chemist". *Small*, **1** (3): 278, 2005.
78. KUEHN, K. D.; EGE, W. & GOPP, U. "Acrylic bone cements: composition and properties". *Orthop. Clin. North Am.*, **36**: 17, 2005.
79. MAGNAN, B.; BONDI, M.; MALUTA, T.; SAMAILA, E.; SCHIRRU, L. & DALL'OCA, C. "Acrylic bone cement: current concept review". *Musculoskelet. Surg.*, **97**: 93, 2013.
80. ALI, U.; KARIM, K. J. B. A. & BUANG, N. A. "A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA)". *Polym. Rev.*, **55** (4): 678, 2015.
81. DORRANIAN, D.; ABEDINI, Z.; HOJABRI, A. & GHORANNEVISS, M. "Structural and optical characterization of PMMA surface treated in low power nitrogen and oxygen RF plasmas". *Journal of Non-Oxide Glasses*, **1** (3): 217, 2009.
82. BETTENCOURT, A. & ALMEIDA, A. J. "Poly(methyl methacrylate) particulate carriers in drug delivery". *J. Microencapsul.*, **29** (4): 353, 2012.
83. CARVALHO COSTA, I. M.; SALARO, C. P. & COSTA, M. C. "Polymethylmethacrylate facial implant: a successful personal experience in Brazil for more than 9 years". *Dermatol. Surg.*, **35**: 1221, 2009.
84. VARGAS, K. F.; BORGHETTI, R. L.; MOURE, S. P.; SALUM, F. G.; CHERUBINI, K. & DE FIGUEIREDO, M. A. "Use of polymethylmethacrylate as permanent filling agent in the jaw, mouth and face regions--implications for dental practice". *Gerodontology*, **29**: e16, 2012.
85. WEBB, J. C. J. & SPENCER, R. F. "The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery". *J. Bone Joint Surg. Br.*, **89-B** (7): 851, 2007.
86. PARK, H.-S.; PARK, H.-S. & GONG, M.-S. "Preparation of silver/poly(methyl methacrylate) nanocomposites by in-situ radical polymerization using silver carbamate complex". *Macromol. Res.*, **18** (9): 897, 2010.
87. VAISHYA, R.; CHAUHAN, M. & VAISH, A. "Bone cement". *J. Clin. Orthop. Trauma*, **4**: 157, 2013.

88. ARORA, M.; CHAN, E. K.; GUPTA, S. & DIWAN, A. D. "Polymethylmethacrylate bone cements and additives: A review of the literature". *World J. Orthop.*, **4** (2): 67, 2013.
89. FRAZER, R. Q.; BYRON, R. T.; OSBORNE, P. B. & WEST, K. P. "PMMA: an essential material in medicine and dentistry". *J. Long-Term Eff. Med.*, **15** (6): 629, 2005.
90. SCHADE, V. L. & ROUKIS, T. S. "The role of polymethylmethacrylate antibiotic-loaded cement in addition to debridement for the treatment of soft tissue and osseous infections of the foot and ankle". *J. Foot Ankle Surg.*, **49**: 55, 2010.
91. CHAPLIN, R. P.; LEE, A. J.; HOOPER, R. M. & CLARKE, M. "The mechanical properties of recovered PMMA bone cement: a preliminary study". *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **17**: 1433, 2006.
92. LEGGAT, P. A. & KEDJARUNE, U. "Toxicity of methyl methacrylate in dentistry". *Internat. Dental. J.*, **53**: 126, 2003.
93. REGO, M. R. M.; KITAHARA, F. M. F. & SANTIAGO, L. C. "Resina acrílica: relação entre tratamento superficial e retenção de placa bacteriana". *Cienc. Odontol. Bras.*, **8** (3): 92, 2005.
94. PAUL, D. R. & ROBESON, L. M. "Polymer nanotechnology: Nanocomposites". *Polymer*, **49**: 3187, 2008.
95. HOPEWELL, J.; DVORAK, R. & KOSIOR, E. "Plastics recycling: challenges and opportunities". *Phil. Trans. R. Soc. B*, **364**: 2115, 2009.
96. DALLAS, P.; SHARMA, V. K. & ZBORIL, R. "Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives". *Adv. Colloid Interface Sci.*, **166**: 119, 2011.
97. LE, M. T. & HUANG, S. C. "Thermal and Mechanical Behavior of Hybrid Polymer Nanocomposite Reinforced with Graphene Nanoplatelets". *Materials*, **8**: 5526, 2015.
98. SENGUPTA, R.; CHAKRABORTY, S.; BANDYOPADHYAY, S.; DASGUPTA, S.; MUKHOPADHYAY, R.; AUDDY, K. & DEURI, A. S. "A short review on

- rubber/clay nanocomposites with emphasis on mechanical properties". *Polym. Eng. Sci.*, **47** (11): 1956, 2007.
99. KAWASUMI, M. "The discovery of polymer-clay hybrids". *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **42**: 819, 2004.
100. TAMURA, K.; UNO, H.; YAMADA, H. & UMEYAMA, K. "Layered silicate-polyamide-6 nanocomposites: Influence of silicate species on morphology and properties". *J. Pol. Sci. Pol. Phys.*, **47**: 583, 2009.
101. ANADÃO, P.; WIEBECK, H. & VALENZUELA-DÍAZ, F. R. "Panorama da pesquisa acadêmica brasileira em nanocompósitos polímero/argila e tendências para o futuro". *Polímeros*, **21** (5): 443, 2011.
102. MARIANO, M.; EL KISSI, N. & DUFRESNE, A. "Cellulose nanocrystals and related nanocomposites: Review of some properties and challenges". *J. Pol. Sci. Pol. Phys.*, **52**: 791, 2014.
103. OLIVEIRA, M.; NOGUEIRA, R. & MACHADO, A. V. "Synthesis of aluminium nanoparticles in a PP matrix during melt processing: Effect of the alkoxide organic chain". *React. Funct. Polym.*, **72**: 703, 2012.
104. SCHUBERT, U.; HUSING, N. & LORENZ, A. "Hybrid inorganic-organic materials by sol-gel processing of organofunctional metal alkoxides". *Chem. Mater.*, **7**: 2010, 1995.
105. CAMARGO, P. H. C.; SATYARANAYANA, K. G. & WYPYCH, F. "Nanocomposites: synthesis, structure, properties and new application opportunities". *Mater. Res.*, **12** (1): 1, 2009.
106. ESTEVES, A. C. C.; BARROS-TIMMONS, A. & TRINDADE, T. "Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de sínteses de materiais híbridos". *Quim. Nova*, **27** (5): 798, 2004.
107. QUEIROZ, J. R.; FISSMER, S. F.; KOGA-ITO, C. Y.; SALVIA, A. C.; MASSI, M.; SOBRINHO, A. S. & JUNIOR, L. N. "Effect of diamond-like carbon thin film coated acrylic resin on candida albicans biofilm formation" *J. Prosthodont.*, **22**: 451, 2013.

108. NGUYEN, T.-P. "Polymer-based nanocomposites for organic optoelectronic devices. A review". *Surf. Coat. Tech.*, **206**: 742, 2011.
109. SUN, P.; ZHANG, H.; LIU, C.; FANG, J.; WANG, M.; CHEN, J.; ZHANG, J.; MAO, C. & XU, S. "Preparation and characterization of Fe₃O₄/CdTe magnetic/fluorescent nanocomposites and their applications in immuno-labeling and fluorescent imaging of cancer cells". *Langmuir*, **26** (2): 1278, 2010.
110. SERTCHOOK, H. & AVNIR, D. "Submicron silica/polystyrene composite particles prepared by a one-step sol-gel process". *Chem. Mater.*, **15**: 1690, 2003.
111. GORUP, L. F.; LONGO, E.; LEITE, E. R. & CAMARGO, E. R. "Moderating effect of ammonia on particle growth and stability of quasi-monodisperse silver nanoparticles synthesized by the Turkevich method". *J. Colloid Interface Sci.*, **360**: 355, 2011.
112. SODAGAR, A.; KASSAEI, M. Z.; AKHAVAN, A.; JAVADI, N.; ARAB, S. & KHARAZIFARD, M. J. "Effect of silver nano particles on flexural strength of acrylic resins". *J. Prosthodont. Res.*, **56**: 120, 2012.
113. MONTEIRO, D. R.; GORUP, L. F.; TAKAMIYA, A. S.; CAMARGO, E. R.; RUVOLLO FILHO, A. C. & BARBOSA, D. B. "Silver distribution and release from an antimicrobial denture base resin containing silver colloidal nanoparticles". *J. Prosthodont.*, **21**: 7, 2012.
114. HOLZWARTE, U. & GIBSON, N. "The Scherrer equation versus the 'Debye-Scherrer equation'". *Nat. Nanotechnol.*, **6**: 534, 2011.
115. CAVALIERE, E.; DE CESARI, S.; LANDINI, G.; RICCOBONO, E.; PALLECCHI, L.; ROSSOLINI, G. M. & GAVIOLI, L. "Highly bactericidal Ag nanoparticle films obtained by cluster beam deposition". *Nanomedicine*, **11**: 1417, 2015.
116. EVANOFF, D. D., JR. & CHUMANOV, G. "Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays". *Chemphyschem*, **6**: 1221, 2005.
117. JIANG, X. C.; CHEN, C. Y.; CHEN, W. M. & YU, A. B. "Role of citric acid in the formation of silver nanoplates through a synergistic reduction approach". *Langmuir*, **26** (6): 4400, 2010.

118. DONG, P. V.; HA, C. H.; BINH, L. T. & KASBOHM, J. "Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles". *Int. Nano Lett.*, **2**: 9, 2012.
119. THANH, N. T.; MACLEAN, N. & MAHIDDINE, S. "Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution". *Chem. Rev.*, **114**: 7610, 2014.
120. POLTE, J.; AHNER, T. T.; DELISSEN, F.; SOKOLOV, S.; EMMERLING, F.; THÜNEMANN, A. F. & KRAEHNERT, R. "Mechanism of gold nanoparticle formation in the classical citrate synthesis method derived from coupled in situ XANES and SAXS evaluation". *J. Am. Chem. Soc.*, **132**: 1296, 2010.
121. AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S. & MUKHERJI, S. "Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy". *RSC Adv.*, **4**: 3974, 2014.
122. HOUK, L. R.; CHALLA, S. R.; GRAYSON, B.; FANSON, P. & DATYE, A. K. "The definition of "critical radius" for a collection of nanoparticles undergoing Ostwald ripening". *Langmuir*, **25** (19): 11225, 2009.
123. GOSH, S. K. & PAL, T. "Interparticle coupling effect on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles: from theory to applications". *Chem. Rev.*, **107**: 4797, 2007.
124. MERGA, G.; WILSON, R.; LYNN, G.; MILOSAVLJEVIC, B. H. & MEISEL, D. "Redox catalysis on "naked" silver nanoparticles". *J. Phys. Chem. C.*, **111**: 12220, 2007.
125. PECORA, R. "Dynamic light scattering measurement of nanometer particles in liquids". *J. Nanopart. Res.*, **2**: 123, 2000.
126. ALVAREZ-PUEBLA, R. A.; ARCEO, E.; GOULET, P. J. G.; GARRIDO, J. J. & AROCA, R. F. "Role of nanoparticle surface charge in surface-enhanced Raman scattering". *J. Phys. Chem. B*, **109**: 3787, 2005.
127. KIM, J. S.; KUK, E.; YU, K. N.; KIM, J. H.; PARK, S. J.; LEE, H. J.; KIM, S. H.; PARK, Y. K.; PARK, Y. H.; HWANG, C. Y.; KIM, Y. K.; LEE, Y. S.; JEONG, D. H. & CHO, M. H. "Antimicrobial effects of silver nanoparticles". *Nanomedicine*, **3**: 95, 2007.

128. SADOWSKI, Z.; MALISZEWSKA, I. H.; GROCHOWALSKA, B.; POLOWCZYK, I. & KOŻLECKI, T. "Synthesis of silver nanoparticles using microorganisms". *Mater. Sci-Poland*, **26** (2): 419, 2008.
129. SALEM, H. F. & MA, S. "Formulation and evaluation of silver nanoparticles as antibacterial and antifungal agents with a minimal cytotoxic effect". *Int. J. Drug Deliv.*, **3**: 293, 2011.
130. PATUNGWASA, W. & HODAK, J. H. "pH tunable morphology of the gold nanoparticles produced by citrate reduction". *Mater. Chem. Phys.*, **108**: 45, 2008.
131. NUYKEN, O. & PASK, S. "Ring-Opening Polymerization—An Introductory Review". *Polymers*, **5**: 361, 2013.
132. CAROTHERS, W. H. "Studies on polymerization and ring formation. I. An introduction to the theory of condensation polymers". *J. Am. Chem. Soc.*, **51** (8): 2548, 1929.
133. ZOLLER, A.; GIGMES, D. & GUILLANEUF, Y. "Simulation of radical polymerization of methyl methacrylate at room temperature using a tertiary amine/BPO initiating system". *Polym. Chem.*, **6**: 5719, 2015.
134. KHANDAKER, M. & MENG, Z. "The Effect of Nanoparticles and Alternative Monomer on the Exothermic Temperature of PMMA Bone Cement". *Procedia Eng.*, **105**: 946, 2015.
135. VELASCO-SANTOS, C.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A. L.; FISHER, F. T.; RUOFF, R. & CASTAÑO, V. M. "Improvement of thermal and mechanical properties of Carbon nanotube composites through chemical functionalization". *Chem. Mater.*, **15**: 4470, 2003.
136. KASSAEE, M. Z.; MOHAMMADKHANI, M.; AKHAVAN, A. & MOHAMMADI, R. "In situ formation of silver nanoparticles in PMMA via reduction of silver ions by butylated hydroxytoluene". *Struc. Chem.*, **22**: 11, 2010.
137. CONTE, P.; SPACCINI, R. & PICCOLO, A. "State of the art of CPMAS ¹³C-NMR spectroscopy applied to natural organic matter". *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.*, **44**: 215, 2004.

138. AVOLIO, R.; GENTILE, G.; AVELLA, M.; CAPITANI, D. & ERRICO, M. E. "Synthesis and characterization of poly(methylmethacrylate)/silica nanocomposites: Study of the interphase by solid-state NMR and structure/properties relationships". *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **48** (23): 5618, 2010.
139. TANG, W.; FENG, L.; JIANG, C.; YAO, G.; ZHAO, J.; CUI, Q. & GUO, X. "Controlling the surface wettability of the polymer dielectric for improved resolution of inkjet-printed electrodes and patterned channel regions in low-voltage solution-processed organic thin film transistors". *J. Mater. Chem. C*, **2**: 5553, 2014.
140. BURKARTER, E.; SAUL, C. K.; THOMAZI, F.; CRUZ, N. C.; ROMAN, L. S. & SCHREINER, W. H. "Superhydrophobic electrosprayed PTFE". *Surf. Coat. Tech.*, **202**: 194, 2007.
141. MIREAULT, N. & ROSS, G. G. "Modification of wetting properties of PMMA by immersion plasma ion implantation". *Surf. Rev. Lett.*, **15** (4): 345, 2008.
142. LIU, Y.; LIU, X.; WANG, X.; YANG, J.; YANG, X.-J. & LU, L. "Gelatin-g-poly(methyl methacrylate)/silver nanoparticle hybrid films and the evaluation of their antibacterial activity". *J. Appl. Polym. Sci.*, **116**: 2617, 2010.
143. XU, J.; ZHANG, C.; SHAO, T.; FANG, Z. & YAN, P. "Formation of hydrophobic coating on PMMA surface using unipolar nanosecond-pulse DBD in atmospheric air". *J. Electrostat.*, **71** (3): 435, 2013.
144. SAMUEL, U. & GUGGENBICHLER, J. P. "Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter". *Int. J. Antimicrob. Ag.*, **23S1**: S75, 2004.
145. DE MENDONÇA, C. M. S.; DE BARROS LIMA, I. P.; ARAGÃO, C. F. S. & GOMES, A. P. B. "Thermal compatibility between hydroquinone and retinoic acid in pharmaceutical formulations". *J. Therm. Anal. Calorim.*, **115** (3): 2277, 2013.
146. HATAKEYAMA, T. & QUINN, F. X. *Thermal Analysis Fundamentals and Applications to Polymer Science*. 2a ed. Chichester, John Wiley & Sons Ltd., 1999. p. 180.

147. FERRIOL, M.; GENTILHOMME, A.; COCHEZ, M.; OGETB, N. & MIELOSZYNSKIB, J. L. "Thermal degradation of poly(methyl methacrylate) (PMMA): modelling of DTG and TG curves". *Polym. Degrad. Stabil.*, **79**: 271, 2003.
148. HU, Y.-H. & CHEN, C.-Y. "The effect of end groups on the thermal degradation of poly(methyl methacrylate)". *Polym. Degrad. Stabil.*, **82**: 81, 2003.
149. KAMINSKY, W. & FRANCK, J. "Monomer recovery by pyrolysis of poly(methyl methacrylate) (PMMA)". *J. Anal. Appl. Pyrol.*, **19**: 311, 1991.
150. SOUZA NETO, F. N.; ARAÚJO, O. A.; GUILHERME, L. R.; GARG, V. K.; OLIVEIRA, A. C.; DE SOUZA, P. E. N. & FRANCO JÚNIOR, A. "Particles that slide over the water surface: Synthesis and characterization of iron oxides particles coated with PDMS, with hydrophobic and magnetic properties". *Mater. Chem. Phys.*, **162**: 100, 2015.
151. PASSOS, A. A.; TAVARES, M. I. B.; MOREIRA, L. A. & FERREIRA, A. G. "Obtenção de nanocompósito de EVA/Sílica e caracterização por Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido". *Polímeros*, **21** (2) 2011.
152. WANG, X.; WU, L. & LI, J. "Preparation of nano poly(phenylsilsesquioxane) spheres and the influence of nano-PPSQ on the thermal stability of poly(methyl methacrylate)". *J. Therm. Anal. Calorim.*, **109**: 323, 2011.
153. MICHELS, J.; WIDMANN, R.; CZADERSKI, C.; ALLAHVIRDIZADEH, R. & MOTAVALLI, M. "Glass transition evaluation of commercially available epoxy resins used for civil engineering applications". *Compos. Part B-Eng.*, **77**: 484, 2015.
154. CANEVAROLO JR., S. V. *Ciência dos Polímeros*. São Paulo, Artliber Editora, 2002. p. 282.
155. SALA, R. L.; ARANTES, T. M.; LONGO, E.; LEITE, E. R.; PARANHOS, C. M. & CAMARGO, E. R. "Evaluation of modified silica nanoparticles in carboxylated nitrile rubber nanocomposites". *Colloids Surface A*, **462**: 45, 2014.

156. GAO, F.; PRICE, D.; MILNES, G. J.; ELING, B.; LINDSAY, C. I. & MCGRAIL, P. T. "Laser pyrolysis of polymer and its relation to polymer fire behavior". *J. Anal. Appl. Pyrol.*, **40** (41): 217, 1997.
157. HUGGETT, R.; BROOKS, S. C.; CAMPBELL, A. M.; SATGURANATHAN, R. & BELL, G. A. "Evaluation of analytical techniques for measurement of denture-base acrylic resin glass-transition temperature". *Dent. Mater.*, **6**: 17, 1990.
158. IONITA, D.; CRISTEA, M. & BANABIC, D. "Viscoelastic behavior of PMMA in relation to deformation mode". *J. Therm. Anal. Calorim.*, **120**: 1775, 2015.
159. KOPESKY, E. T.; HADDAD, T. S.; MCKINLEY, G. H. & COHEN, R. E. "Miscibility and viscoelastic properties of acrylic polyhedral oligomeric silsesquioxane–poly(methyl methacrylate) blends". *Polymer*, **46**: 4743, 2005.
160. SALADINO, M. L.; MOTAUNG, T. E.; LUYT, A. S.; SPINELLA, A.; NASILLO, G. & CAPONETTI, E. "The effect of silica nanoparticles on the morphology, mechanical properties and thermal degradation kinetics of PMMA". *Polym. Degrad. Stabil.*, **97**: 452, 2012.
161. PHOENIX, R. D.; MANSUETO, M. A.; ACKERMAN, N. A. & JONES, R. E. "Evaluation of Mechanical and Thermal Properties of Commonly Used Denture Base Resins". *J. Prosthodont.*, **13** (1): 17, 2004.
162. GOIATO, M. C.; DOS SANTOS, D. M.; ANDREOTTI, A. M.; NOBREGA, A. S.; MORENO, A.; HADDAD, M. F. & PESQUEIRA, A. A. "Effect of beverages and mouthwashes on the hardness of polymers used in intraoral prostheses". *J. Prosthodont.*, **23**: 559, 2014.
163. BARBOSA, D. B.; SOUZA, R. F.; PERO, A. C.; MARRA, J. & COMPAGNONI, M. A. "Flexural strength of acrylic resins polymerized by different cycles ". *J. Appl. Oral Sci.*, **15** (5): 424, 2007.
164. CASEMIRO, L. A.; MARTINS, C. H. G.; PIRES-DE-SOUZA, F. C. P. & PANZERI, H. "Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite - part I". *Gerodontology*, **25**: 187, 2008.
165. WADY, A. F.; MACHADO, A. L.; FOGGI, C. C.; ZAMPERINI, C. A.; ZUCOLOTTO, V.; MOFFA, E. B. & VERGANI, C. E. "Effect of a Silver

- Nanoparticles Solution on Staphylococcus aureus and Candida spp". J. Nanomater., **2014**: 1, 2014.
166. LOK, C. N.; HO, C. M.; CHEN, R.; HE, Q. Y.; YU, W. Y.; SUN, H.; TAM, P. K.; CHIU, J. F. & CHE, C. M. "Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities". J. Biol. Inorg. Chem., **12**: 527, 2007.
167. KASSAEE, M. Z.; AKHAVAN, A.; SHEIKH, N. & SODAGAR, A. "Antibacterial effects of a new dental acrylic resin containing silver nanoparticles". J. Appl. Polym. Sci., **110**: 1699, 2008.
168. FRANCI, G.; FALANGA, A.; GALDIERO, S.; PALOMBA, L.; RAI, M.; MORELLI, G. & GALDIERO, M. "Silver nanoparticles as potential antibacterial agents". Molecules, **20**: 8856, 2015.
169. WADY, A. F.; MACHADO, A. L.; ZUCOLOTTI, V.; ZAMPERINI, C. A.; BERNI, E. & VERGANI, C. E. "Evaluation of Candida albicans adhesion and biofilm formation on a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles". J. Appl. Microbiol., **112**: 1163, 2012.