

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS
CAMPUS POÇOS DE CALDAS**

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – PPG-CEM

PERLA GIOVANNA FERNANDES PACHECO

**SÍNTESE E PROPRIEDADES ÓPTICAS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E
RESINAS COMPOSTAS/AgNPs**

POÇOS DE CALDAS/MG

2023

PERLA GIOVANNA FERNANDES PACHECO

**SÍNTESE E PROPRIEDADES ÓPTICAS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E
RESINAS COMPOSTAS/AgNPs**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia
de Materiais pela Universidade Federal de Alfenas. Área
de concentração: Polímeros e biomateriais.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Gonçalves Vivas

POÇOS DE CALDAS/MG

2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Campus Poços de Caldas

Fernandes Pacheco, Perla Giovanna.

Síntese e propriedades ópticas de nanopartículas de prata e resinas compostas/AgNPs / Perla Giovanna Fernandes Pacheco. - Poços de Caldas, MG, 2023.

82 f. : il. -

Orientador(a): Marcelo Gonçalves Vivas.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) -
Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Microscopia. 2. Fluorescência. 3. Resinas compostas. I. Gonçalves Vivas, Marcelo, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

PERLA GIOVANNA FERNANDES PACHECO

SÍNTESE E PROPRIEDADES ÓPTICAS DE NANOPÁRTÍCULAS DE PRATA E RESINAS COMPOSTAS/AgNPs

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestra em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais

Aprovada em: 28 de julho de 2023.

Prof. Dr. Marcelo Gonçalves Vivas
Presidente da Banca Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Paulo Henrique Dias Ferreira
Instituição: Universidade Federal de São Carlos

Profa. Dra. Sylma Carvalho Maestrelli
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Gonçalves Vivas, Professor do Magistério Superior**, em 20/09/2023, às 13:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1089143** e o código CRC **A98813C7**.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por estar sempre presente na minha vida, me abençoando e protegendo todos os dias;

À instituição Universidade Federal de Alfenas, que me proporcionou bons momentos e ensinamentos e proporcionou meu crescimento profissional no âmbito da pesquisa científica;

Ao PIB-Pós (UNIFAL - MG), à FAPEMIG e à CAPES, que foram as instituições de fomento para a realização dessa pesquisa;

Aos meus pais, pelo amor incondicional e por terem sido o alicerce que sempre precisei ao longo de todos esses anos do curso e por terem me proporcionado toda a assistência necessária para que eu pudesse me tornar mestre;

Aos integrantes do grupo de óptica, pelo conhecimento compartilhado nas reuniões;

Ao técnico Vitor, da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), por ter realizado a análise de microscopia eletrônica de transmissão (MET) para o trabalho;

Agradeço ao meu orientador, Professor Doutor Marcelo Gonçalves Vivas pela paciência, pelos ensinamentos, por todo o conhecimento compartilhado e por todo o apoio durante o desenvolvimento do trabalho;

Ao Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fotônica (LEO&F), por ter proporcionado toda a estrutura necessária para a realização da pesquisa;

E agradeço aos professores Alfeu, Nabil, Sylma, Fábria, Sílvia, Maria Elena, Tânia e Marcelo, pelos ensinamentos apresentados ao longo do curso e pelos conselhos que serviram para o meu aprendizado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) e a utilização de microscopia de fluorescência, microscopia eletrônica de transmissão (MET), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis) na investigação de propriedades ópticas de resinas compostas e resinas compostas dopadas com AgNPs. Para isso, foram sintetizadas soluções de AgNPs em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mM). A partir das caracterizações supracitadas, pôde-se observar que a síntese de AgNPs com o redutor NaBH_4 é um método químico eficaz para sintetizar AgNPs de tamanhos bem pequenos, menores que 10 nm de diâmetro, baixa/moderada polidispersão e baixa anisotropia. A partir das medidas de MET e pela teoria de Mie-Gans, foi observado que o aumento da concentração de precursor e redutor na relação 1:1 teve uma contribuição tanto para o aumento do tamanho médio das partículas quanto para a concentração das soluções (da ordem de nanomolar). Posteriormente, foram confeccionados filmes com a resina composta Charisma Classic (*Heraeus Kulzer®*, Alemanha) A1 (coloração mais clara) e A3 (coloração mais escura). Observou-se com a análise por espectroscopia UV-Vis uma banda característica em 340 nm para ambas as resinas, indicando a presença de dióxido de titânio (TiO_2). Percebeu-se, através de microscopia fluorescente, a presença de substâncias como o Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, TiO_2 e a canforoquinona, que são responsáveis pela sua emissão fluorescente. Além disso, ambas as resinas possuem o mesmo espectro de emissão fluorescente, indicando que o que as difere, é basicamente a concentração das substâncias utilizadas em cada uma. Pelo fato de possuírem a mesma composição, os gráficos de FTIR mostraram as mesmas frequências de vibração para as duas resinas. Feito isso, foram realizados testes de espectroscopia UV-Vis e microscopia de fluorescência. Notou-se, um deslocamento da banda de plásmon das AgNPs de 30 nm ao serem incorporadas à resina. Isso se deve ao fato da mudança do meio (água para resina) e também do método de preparo, que envolve modificação da temperatura. Também foi analisado o efeito das AgNPs sobre a luminescência das resinas e uma grande redução na amplitude de fluorescência foi observada, sem alteração no comprimento de onda dos picos de emissão. Esse fenômeno foi explicado a partir da transferência de energia do tipo Foster. Com esses resultados, conseguiu-se uma contribuição para a área de síntese e caracterização de nanomateriais, e comprovou-se a

eficácia do uso de microscopia fluorescente para a análise de AgNPs em resinas compostas, contribuindo dessa forma, para o desenvolvimento de futuros estudos.

Palavras-chave: microscopia; fluorescência; resinas compostas.

ABSTRACT

The aim of this study was to synthesize silver nanoparticles (AgNPs) and use fluorescence microscopy, transmission electron microscopy (TEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) to investigate the optical properties of composite resins and composite resins doped with AgNPs. To this end, solutions of AgNPs were synthesized at different concentrations (0.5; 1.0; 1.5; 2.0 and 2.5 mM). From the aforementioned characterizations, it could be seen that the synthesis of AgNPs with the NaBH₄ reductant is an effective chemical method for synthesizing AgNPs with very small sizes, less than 10 nm in diameter, low/moderate polydispersity and low anisotropy. Based on MET measurements and the Mie-Gans theory, it was observed that increasing the concentration of precursor and reducer in a 1:1 ratio contributed both to increasing the average particle size and the concentration of the solutions (in the nanomolar range). Films were then made with Charisma Classic composite resin (Heraeus Kulzer®, Germany) A1 (lighter color) and A3 (darker color). UV-Vis spectroscopy showed a characteristic band at 340 nm for both resins, indicating the presence of titanium dioxide (TiO₂). Fluorescent microscopy revealed the presence of substances such as Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, TiO₂ and camphorquinone, which are responsible for their fluorescent emission. In addition, both resins have the same fluorescent emission spectrum, indicating that what makes them different is basically the concentration of the substances used in each one. Because they have the same composition, the FTIR graphs showed the same vibration frequencies for both resins. After this, UV-Vis spectroscopy and fluorescence microscopy tests were carried out. A shift in the plasmon band of AgNPs of 30 nm was noted when they were incorporated into the resin. This is due to the change in medium (water to resin) and also the preparation method, which involves changing the temperature. The effect of the AgNPs on the luminescence of the resins was also analyzed and a large reduction in the fluorescence amplitude was observed, with no change in the wavelength of the emission peaks. This phenomenon was explained by Foster-type energy transfer. With these results, a contribution was made to the field of synthesis and characterization of nanomaterials, and the effectiveness of using fluorescent microscopy for the analysis of AgNPs in composite resins was proven, thus contributing to the development of future studies.

Keywords: microscopy; fluorescence; composite resins.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagens de MET de AgNPs com diferentes formatos: (A) nanoesferas, (B) nanoprismas, (C) nanobarras and (D) nanofios. Imagens de MEV de (E) nanocubos, (F) pirâmides, (G) nano-arroz e (H) nanoflores.....	18
Figura 2 - Plásmons de superfície localizados.....	21
Figura 3 - Banda de plásmon de nanopartículas variando de acordo com diferentes situações. a) Variação da banda de plásmon de acordo com a forma geométrica; b) Variação de acordo com o tipo de nanopartícula e c) Variação de acordo com diferentes concentrações de solvente.....	22
Figura 4 - Vantagens e desvantagens dos métodos de síntese de nanopartículas de prata.....	25
Figura 5 - Cálculo da concentração das nanopartículas de prata.....	27
Figura 6 - Micrografias de nanoprismas de prata triangulares.....	29
Figura 7 - Ao lado esquerdo, pode se observar a diminuição na contagem de <i>E. coli</i> quando expostas à uma solução de AgNPs. Já ao lado direito, notam-se diferenças significativas entre as concentrações de AgNPs e os dois grupos controle, entretanto não houve diferença significativa entre as três concentrações de AgNPs.....	32
Figura 8 - Citotoxicidade das nanopartículas de prata.....	34
Figura 9 - Agregados de soluções de AgNPs.....	39
Figura 10 - Diagrama energético de Jablonski.....	40
Figura 11 - Espectro de emissão de fluorescência da solução aquosa mista de poli(aminoéster) polióis (0,5 mg/ml) e cloreto férrico (0,5 mM) na presença de diferentes concentrações de Lcisteína ($\lambda_{ex} = 370$ nm).....	41
Figura 12 - Espectro de FTIR de diferentes grupos funcionais.....	43
Figura 13 - Diagrama do processo de síntese de nanopartículas de prata.....	45
Figura 14 - Soluções de AgNPs de diferentes concentrações (0,5 mM; 1,0 mM; 1,5 mM; 2,0 mM e 2,5 Mm).....	46
Figura 15 - Agregados de soluções de AgNPs que ocorreram no processo de síntese.....	46
Figura 16 - Filmes de resina composta A1 e A3.....	47
Figura 17 - Resina composta Charisma Classic.....	47

Figura 18 - Aparato experimental para análise das absorções UV-VIS.....	48
Figura 19 - Sistema óptico para a captação dos espectros de fluorescência.....	49
Figura 20 - Imagem fluorescente bidimensional para Ag.....	50
Figura 21 - Filme de resina composta A1 + resina composta A1/AgNPs.....	51
Figura 22 – (a) Espectros de extinção para as cinco amostras de AgNPs sintetizadas utilizando diferentes concentrações de precursor e agente redutor. (b) Máximo da banda LSPR (ALSPR) e máximo da transição intrabanda (Aintra) em função da concentração de AgNO ₃	53
Figura 23 A e B – Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de AgNPs de concentração 0,5 mM; C e D – Imagens de MET em alta resolução; E e F – Gráficos de semi-eixo maior (b) e menor (a) com valores de tamanho médio, desvio padrão e índice de polidispersão (PDI).....	54
Figura 24 A e B - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de AgNPs de concentração 1,5 mM; C e D – Imagens de TEM em alta resolução; E e F – Gráficos de semi-eixo maior (b) e menor (a) com valores de tamanho médio, desvio padrão e índice de polidispersão (PDI).....	56
Figura 25 A e B - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de AgNPs de concentração 2,5 mM; C e D – Imagens de MET em alta resolução; E e F – Gráficos de semi-eixo maior (b) e menor (a) com valores de tamanho médio, desvio padrão e índice de polidispersão (PDI).....	57
Figura 26 - Análise EDS das amostras 2,5 mM (A), 1,5 mM (B) e 0,5 mM (C).....	60
Figura 27 - Ajuste teórico das curvas de extinção para as diferentes concentrações de AgNPs sintetizadas. As curvas em vermelho são os dados experimentais e a curva sólida em preto é o modelo teórico baseado na teoria de Gans.....	60
Figura 28 - Tamanho (A) e Concentração (B) das AgNPs em função da concentração de AgNO ₃	62
Figura 29 - Absortividade molar em função do raio esférico equivalente das nanopartículas.....	63
Figura 30 - Sobreposição dos espectros de absorção UV-Vis das resinas A1 e A3.....	64

Figura 31 - Espectros de fluorescência das resinas A1 (a) e A3 (b) em diferentes regiões do material.....	65
Figura 32 - Sobreposição dos espectros de fluorescência das resinas A1 e A3.....	66
Figura 33 - Imagens de microscopia fluorescente nas regiões de absorção de 482, 508 e 552 nm.....	67
Figura 34 - Sobreposição dos espectros de FTIR das resinas A1 e A3.....	68
Figura 35 - Gráfico de sobreposição dos espectros de absorção UV-Vis da resina A1 isoladamente e de nanopartículas de prata (AgNPs) incorporadas à resina composta A1, onde é possível observar a banda de plásmon das AgNPs em aproximadamente 430 nm.....	69
Figura 36 - Sobreposição dos gráficos de intensidade de fluorescência em função do comprimento de onda (nm) da resina isolada e resina dopada com AgNPs, com os picos dos mapas fluorescentes indicados com uma seta na cor preta.....	71
Figura 37 - Mapas fluorescentes mostrando os picos de fluorescência apresentados pelo material.....	72
Figura 38 - Figura ilustrativa da sobreposição espectral do espectro de absorção da resina contendo AgNPs e a emissão da resina composta.....	73
Figura 39 - Mapa de cor enfatizando a eficiência de transferência de energia da resina composta para as AgNPs em porcentagem.....	74

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Sumário dos dados simulados para λ_{\max} e coeficiente de extinção de vários tamanhos de AgNPs revestidas com citrato.....27
- Tabela 2 - Valores de semi-eixo menor (a), semi-eixo maior (b), R_{eq} (raio equivalente), β (grau de anisotropia) e PDI (Índice de polidispersão) para as amostras de AgNPs de 0,5 (I), 1,5 (II) e 2,5 (III) mM.....58
- Tabela 3 - Parâmetros obtidos a partir do nosso modelo computacional para as amostras de AgNPs sintetizadas (I-V): semi-eixos menor e maior (a_{MG} e b_{MG}), taxa aspecto (β), FWHM (largura a meia altura, calculada a partir dos espectros de extinção experimentais), raio esférico equivalente (R_{eq}), concentração de partículas (C) e densidade (ρ).....59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL - Microlitro

A - Absorbância

AETP - Extrato aquoso de pó de açafraão

AFM - Microscopia de força atômica

Ag – Elemento químico prata

AgNO_3 – Nitrato de prata

AgNPs – Nanopartículas de prata

Au – Elemento químico ouro

BHT - (2,6-diterc-butil-p-creso)

Bis-GMA - Bisfenol-A glicidil metacrilato

C - Concentração molar do soluto

cm - Centímetro

CQ - Canforoquinona

DIC - Contraste de interferência diferencial

DLS - Dispersão dinâmica da luz

DNA - Ácido desoxirribonucléico

EDX ou EDS - Espectroscopia de raios X por energia dispersiva

FFF - Fracionamento de campo de fluxo

FTIR – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

FWHM - Largura a meia altura

g - Grama

I - Intensidade da luz que passa pela amostra

I_0 - Intensidade da luz incidente sobre a amostra

IV – Infravermelha/infravermelho

L – Comprimento da amostra em cm

LCE – Laboratório de caracterização estrutural

LEO&F - Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fotônica

M – Molar

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MET – Microscopia eletrônica de transmissão

mg - Miligrama

mL – Mililitro
mM - Milimolar
mol - Massa molecular de uma substância, medida em gramas
NA – Abertura numérica
NaBH₄ – Borohidreto de sódio
NACP - Nanopartículas de fosfato de cálcio amorfo
NADPH reductase - Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato Reductase
NAg – Nanopartículas de prata
Nm - Nanômetro
NNI - *National Nanotechnology Initiative*
NPs - Nanopartículas
pH – Potencial hidrogeniônico
PVP - Polivinilpirrolidona
QADM - Dimetacrilato de amônio quaternário
R_{eq} - Raio esférico equivalente
ROS – Espécies reativas de oxigênio
S₀ – Estado fundamental
S₁ ou S₂ – Estados de energia eletrônica superiores
SDF - Diamino fluoreto de prata
SPR - Ressonância de plásmon de superfície
TEGDMA - Dimetacrilato de trietilenoglicol
TiO₂ – Dióxido de titânio
UDMA - Uretano dimetacrilato
UV - Ultravioleta
UV-Vis – Ultravioleta visível
XPS - Espectroscopia fotoelétrica de raios X
XRD – Difração de raios X
Zt - *Ziziphora tenuior*
ε - Absortividade molar
λ_{ex} – Comprimento de onda de excitação de fluorescência
λ_{max} – Comprimento de onda máximo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVOS.....	20
2.1 OBJETIVO GERAL.....	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
3.1 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS.....	21
3.1.1 Características.....	21
3.2 MECANISMO DE AÇÃO	24
3.3 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA: VANTAGENS E DESADVANTAGENS.....	25
3.3.1 Síntese química.....	25
3.3.2 Síntese física.....	30
3.3.3 Síntese biológica ou síntese verde.....	30
3.3.4 Limitações – citotoxicidade.....	33
3.3.5 Nanopartículas de prata na odontologia.....	34
4 FUNDAMENTOS.....	37
4.1 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE NANOMATERIAIS.....	37
4.1.1 Espectroscopia UV-VIS.....	37
4.1.2 Espectroscopia de fluorescência.....	39
4.1.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	42
4.1.4 Microscopia eletrônica de transmissão.....	43
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
5.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES.....	45
5.2 FABRICAÇÃO DOS FILMES DE RESINA COMPOSTA.....	46
5.3 ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	47
5.4 FTIR.....	48
5.5 MICROSCOPIA FLUORESCENTE.....	48
5.6 INCORPORAÇÃO DE AgNPs ÀS RESINAS COMPOSTAS.....	50
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	52
6.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NPS DE PRATA.....	52
6.1.1 Espectros de absorção UV-VIS e análise do tamanho de	

partículas.....	52
6. 2 PROPRIEDADES ÓPTICAS DAS RESINAS COMPOSTAS.....	63
6.2.1 Espectros de absorção UV-VIS.....	63
6.2.2 Espectros de fluorescência.....	65
6.2.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	67
6.3 INCORPORAÇÃO DAS AgNPs ÀS RESINAS COMPOSTAS.....	69
6.3.1 Espectros de absorção UV-VIS.....	69
6.3.2 Espectros de fluorescência.....	70
7 CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS.....	76

1 INTRODUÇÃO

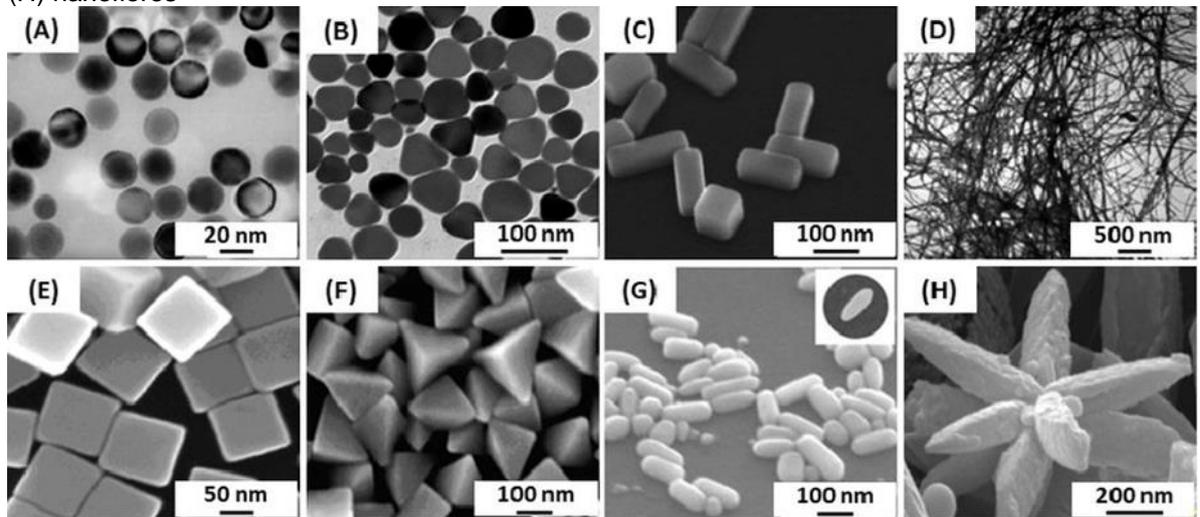
A *National Nanotechnology Initiative* (NNI) dos Estados Unidos define a nanotecnologia como um ramo da ciência, engenharia e tecnologia onde os materiais são utilizados em escala nano (1-100 nm), aplicando fenômenos especiais em uma variedade de campos biológicos, físicos, químicos, médicos, eletrônicos e de engenharia. O tamanho dessas nanopartículas (NPs), que pode alterar as propriedades físico-químicas e ópticas de uma substância, é uma de suas características mais cruciais (MEENA *et al.*, 2021).

Nanopartículas são usadas por uma variedade de razões, incluindo o fornecimento de medicamentos, imagens biomédicas, utensílios médicos como biossensores e dispositivos optoeletrônicos. O uso generalizado da nanotecnologia é demonstrado pelo vasto número de publicações e patentes (FIRDHOUSE; LALITHA, 2016).

Devido a sua maior relação área superficial/volume, os nanomateriais são mais eficazes e reativos do que os materiais *bulk* (volumétricos, 3D). Em comparação com outros materiais, eles também oferecem potencial na química de superfícies porque podem ser funcionalizados para atacar um determinado problema. Além disso, o desempenho dos materiais pode ser diretamente afetado pelas propriedades físicas dos nanomateriais como forma, tamanho, composição química e porosidade. É possível determinar as características das nanopartículas medindo seu tamanho e propriedades ópticas, estabilidade coloidal na água, capacidade de infiltração de tecidos vivos e eficácia antibacteriana (FAHMY *et al.*, 2019).

Os nanomateriais surgiram como os materiais mais versáteis devido à sua variedade de formas e estruturas, incluindo *nanorods*, nanoesferas, nanocubos, nanobipirâmides, *nanobranches*, nanoflores, nanofios e *nanocages*, como pode ser observado na figura 1. Além disso, os nanomateriais têm propriedades elétricas e ópticas distintas, podem ser produzidos de diversas formas a baixo custo e têm várias aplicações em diversos campos científicos interdisciplinares, como já comentado (MEENA *et al.*, 2021).

Figura 1 – Imagens de MET de AgNPs com diferentes formatos: (A) nanoesferas, (B) nanoprismas, (C) nanobarras and (D) nanofios. Imagens de MEV de (E) nanocubos, (F) pirâmides, (G) nano-arroz e (H) nanoflores



Fonte: LOISEAU *et al.* (2019, p. 06)

As nanopartículas de metal nobre como prata (Ag) e de ouro (Au), em particular, atraíram o interesse de uma variedade de campos científicos, incluindo a biologia, a engenharia e a tecnologia de alimentos, bem como de vários setores comerciais, incluindo cosméticos, eletrônica e construção civil. As características únicas dos materiais em nanoescala, tais como viabilidade celular, atividade anticancerígena e o uso de nanopartículas de prata em andaimes, membranas e curativos de hidrogel, por exemplo, estão entre os fatores que geram esse crescente interesse.

O tamanho e a distribuição das nanopartículas de prata (AgNPs) são fatores cruciais a serem considerados para sua aplicação, pois afetam diretamente a atividade bactericida, enquanto a concentração, dispersão e forma têm um impacto sobre a toxicidade. O gerenciamento e a avaliação do tamanho da AgNP são, portanto, fundamentais (RODRIGUES *et al.*, 2020).

Estudos anteriores demonstraram que o tamanho, distribuição, morfologia e propriedades de superfície das AgNPs – todos os quais podem ser alterados por uma diversidade de técnicas sintéticas, agentes redutores e estabilizadores – têm um impacto significativo em suas capacidades físicas, ópticas e catalíticas (ATWATER; POLMAN, 2010; EL-NOUR *et al.*, 2010). As AgNPs podem variar de tamanho dependendo da aplicação; por exemplo, as AgNPs projetadas para o

fornecimento de medicamentos são tipicamente maiores que 100 nm para acomodar a quantidade de medicamentos a ser fornecida (LEE; JUN, 2019).

As AgNPs foram exaustivamente testadas quanto à atividade antimicrobiana contra uma grande variedade de micro-organismos, incluindo bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fungos, leveduras e biofilmes microbianos (SINGH *et al.*, 2015). A alta toxicidade da prata contra uma vasta gama de micro-organismos é bem conhecida, e as nanopartículas de prata têm se mostrado recentemente como um promissor material antimicrobiano. Foi descoberto que as nanopartículas de prata têm atividade anti-inflamatória, antiviral, de anti-angiogênese (reduz a formação e proliferação de novos vasos sanguíneos), antiplaquetária e citotoxicidade contra as células cancerígenas, tornando-as importantes para essas funções (ZAYED; EISA; SHABAKA, 2012).

Neste contexto, este trabalho focou esforços na síntese e caracterização de AgNPs e de resinas compostas dopadas com AgNPs, a fim de avaliar suas propriedades ópticas.

Para isso, esse estudo foi dividido nas seguintes etapas: síntese de AgNPs, caracterização de AgNPs, fabricação dos filmes de resina composta, caracterização dos filmes de resina composta, incorporação das NPs aos filmes de resina composta e análise dos resultados obtidos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e investigar as propriedades ópticas de NPs de prata e resinas compostas contendo AgNPs.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Sintetizar AgNPs de diferentes tamanhos;
- b) Caracterizar a concentração e o tamanho das NPs usando espectroscopia UV-Vis e MET;
- c) Estabelecer uma relação analítica entre o tamanho das AgNPs e sua absorvidade molar;
- d) Caracterizar as propriedades ópticas das resinas compostas Charisma Classic A1 e A3 (*Heraeus Kulzer*®, Alemanha);
- e) Determinar o *band gap* e discriminar os materiais responsáveis pelas propriedades fotoluminescentes dos filmes obtidos a partir das resinas compostas;
- f) Fazer a incorporação das AgNPs às resinas compostas e avaliar suas propriedades ópticas.

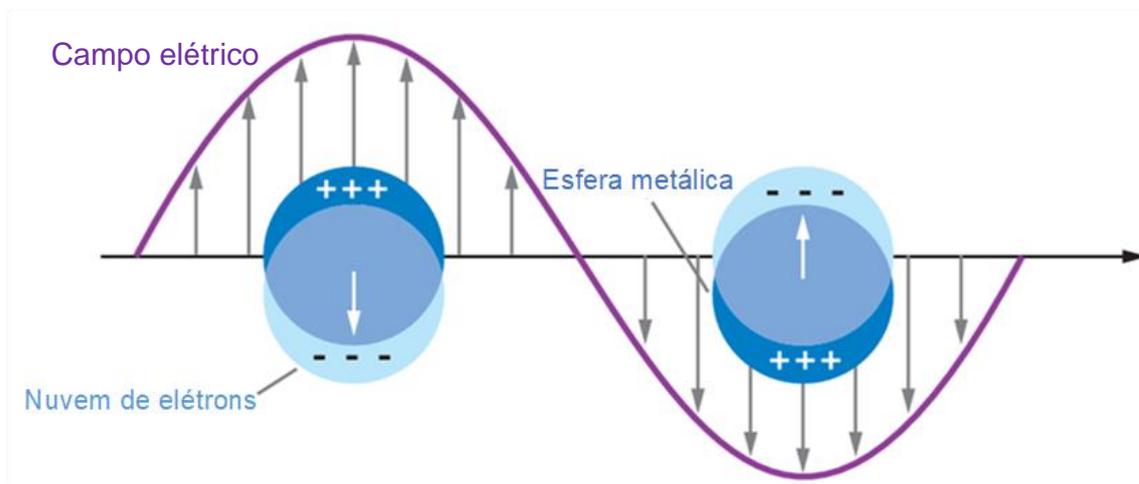
3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

3.1.1 Características

As nanopartículas metálicas podem ser utilizadas em diversos campos de pesquisa, pois manifestam diferentes propriedades dependendo do seu tamanho e forma. Quando a radiação eletromagnética atinge uma nanopartícula de metal, os elétrons livres começam a oscilar induzindo uma separação de carga, como mostrado na Figura 2. A frequência dessa oscilação depende do tamanho, da forma e do material que compõe a nanopartícula, de modo que diferentes frequências podem ser excitadas (UNSER *et al.*, 2015). A estas oscilações síncronas se dá o nome de plásmons de superfície localizados.

Figura 2 – Plásmons de superfície localizados



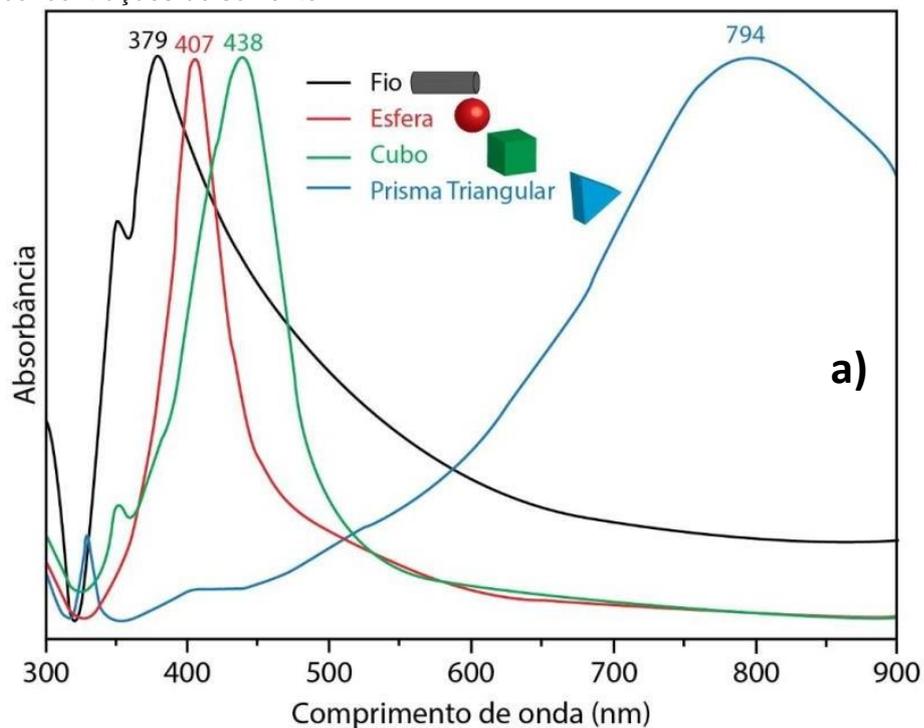
Fonte: Adaptado de UNSER *et al.* (2015, p. 03)

Esses plásmons localizados têm diversas aplicações, como detecção de compostos químicos (FILIPPO; SERRA; MANNO, 2009), esterilização de superfícies (DOU *et al.*, 2012) e utilização em experimentos na área de fotônica, onde os plásmons são usados para excitar outros materiais (SHEN *et al.*, 2018). Outra característica interessante é que as NPs metálicas possuem uma banda de plásmons bem definida, com absorção nas regiões do visível e infravermelho

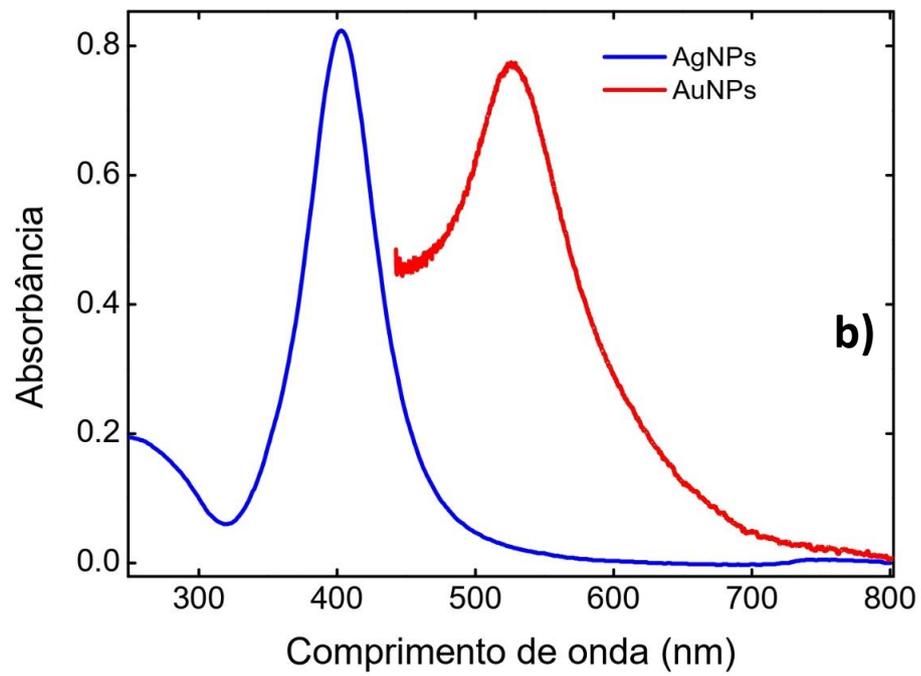
próximo (JANA; GANGULY; PAL, 2016). Essas bandas de plásmons podem ser afetadas basicamente por três fatores distintos:

- A forma geométrica, como pode ser observado na Figura 3a, em um gráfico de absorvância em função do comprimento de onda, no qual se nota o efeito dos formatos de fio, esfera, cubo e prisma triangular sobre a banda de plásmon de nanopartículas;
- O tipo de material, como indicado na Figura 3b, a qual mostra diferentes posições da banda de plásmon para nanopartículas de prata e de ouro;
- E a vizinhança – solvente, material ao redor – se está imersa em água, em clorofórmio, se está dentro de um polímero ou está dentro de um outro semicondutor, por exemplo. Na Figura 3c, pode-se observar diferentes bandas de plásmon de AuNPs em diferentes porcentagens de volume de etanol para água.

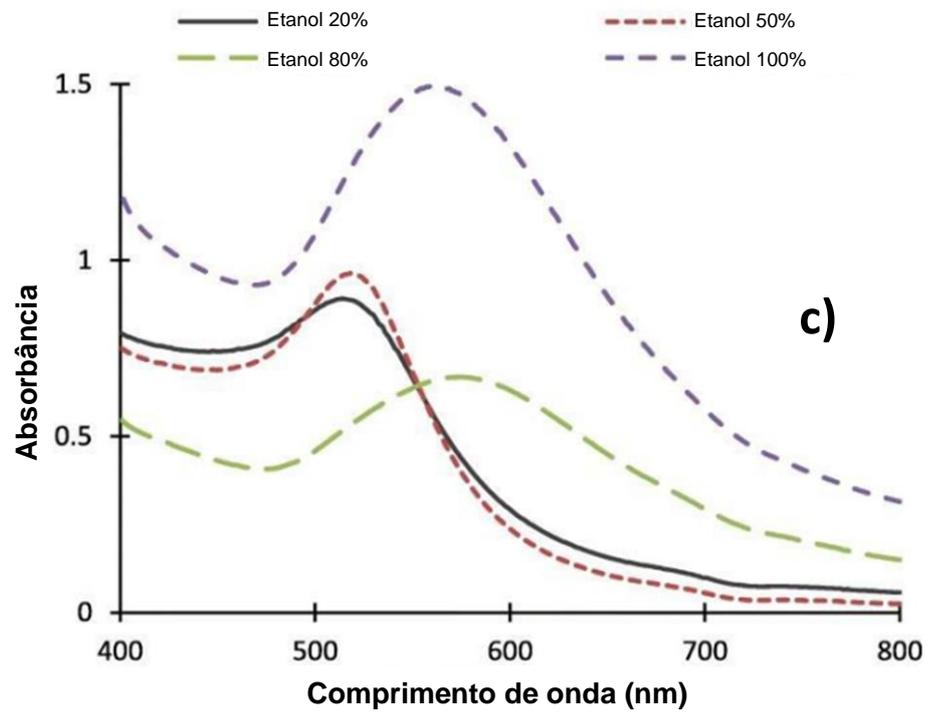
Figura 3 – Banda de plásmon de nanopartículas variando de acordo com diferentes situações. a) Variação da banda de plásmon de acordo com a forma geométrica; b) Variação de acordo com o tipo de nanopartícula e c) Variação de acordo com diferentes concentrações de solvente



Fonte: SILVA *et al.* (2015, p. 03)



Fonte: Próprio autor.



Fonte: Adaptado de HUSSAIN *et al.* (2020, p. 04)

3.2 MECANISMO DE AÇÃO

As propriedades únicas das AgNPs fazem delas uma excelente escolha para uma ampla gama de aplicações; propriedades essas que incluem fácil redução do sal de Ag^{1+} para Ag^0 zero valente, inércia química, condutividade elétrica, poder catalisador, o fato de serem biossensores e também de serem agentes antimicrobianos. As ações antibacterianas das AgNPs estão ligadas à (i) adesão à parede celular, (ii) penetração e dano de organelas citoplasmáticas, (iii) indução de estresse oxidativo através da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), e (iv) modulação das vias de transdução de sinal (via de resposta ao estresse) (BERNARDO *et al.*, 2021).

As doenças infecciosas continuam a ser um grande desafio no campo médico-dentário devido ao surgimento de resistência microbiana às drogas. Este fato incentiva o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento de doenças, tais como o uso de nanopartículas para combater mutantes multirresistentes a drogas e biofilme microbiano (BERNARDO *et al.*, 2021). Por exemplo, a capacidade das minúsculas partículas de penetrar as células em nanomedicina resulta em uma interação entre as nanopartículas e os compartimentos celulares. O tamanho das partículas, a dose de exposição, os materiais de revestimento, a agregação de nanopartículas e o organismo ou tipo de células a serem examinadas são apenas algumas das variáveis que afetam a ação potencial e a citotoxicidade das AgNPs (FAHMY *et al.*, 2019).

A prata tem sido escolhida para o desenvolvimento de novos materiais desde o advento da nanotecnologia. Foi incorporada a vários materiais odontológicos em escala nanométrica e sua eficácia como agente antimicrobiano foi demonstrada (NORONHA *et al.*, 2017). As nanopartículas de prata (AgNPs) têm uma relação superfície área/massa mais elevada do que as partículas elementares de prata, facilitando o controle de sua cinética de liberação e, como resultado, mantendo seu efeito antimicrobiano por um período de tempo mais longo. Esta fração atômica superficial aumentada também permite maior contato com as membranas e proteínas das células bacterianas, aumentando a permeabilização e influenciando a replicabilidade do DNA (MENDES-GOUVÊA *et al.*, 2022).

3.3 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA: VANTAGENS E DESVANTAGENS

As nanopartículas metálicas podem ser geradas de diversas maneiras, utilizando uma ampla gama de reagentes como polímeros e surfactantes como agentes redutores e estabilizantes (RODRIGUEZ-TORRES *et al.*, 2020). Na Figura 4, é possível observar as vantagens e desvantagens de diferentes métodos de síntese de nanopartículas de prata, os quais serão explicados mais adiante.

Figura 4 – Vantagens e desvantagens dos métodos de síntese de nanopartículas de prata



Fonte: Adaptado de VILLAMIZAR (2016, p. 140)

3.3.1 Síntese química

Redução química, processos eletroquímicos, processos químicos assistidos por irradiação e pirólise são as quatro principais categorias de procedimentos químicos para a síntese de nanoestruturas de prata. Um dos métodos mais simples de sintetizar NPs metálicas envolve a redução química de precursores, como o borohidreto de sódio, citrato de sódio, ácido ascórbico, álcool e compostos de hidrazina. Além disso, agentes estabilizadores/capeadores também são utilizados na produção de nanoestruturas de prata em solução (WEI *et al.*, 2015).

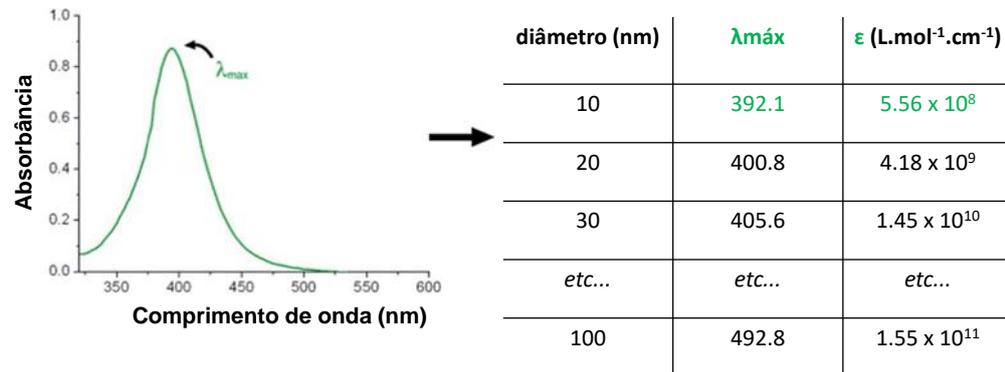
O equipamento necessário para os métodos químicos é mais prático e simples do que para as abordagens biológicas, o que os torna vantajosos (BERNARDO *et al.*, 2021).

A agregação das AgNPs é um problema comum nos métodos químicos de síntese; assim, estabilizadores como polivinilpirrolidona (PVP), amônia, citrato, gelatina, celulose e amido são adicionados externamente (SINGH *et al.*, 2015).

A agregação das AgNPs pode ser causada por vários fatores. Um deles é a temperatura. Isso é visto no estudo de Piñero, Camero e Blanco (2017), onde foi observado que quanto maior a temperatura do banho de gelo, menor era a intensidade do pico de absorção da solução, e que ocorria, também, um pequeno deslocamento para maiores comprimentos de onda. Portanto, conclui-se que a mudança para maiores comprimentos de onda e a redução na intensidade do pico podem estar relacionadas a uma diminuição no número de partículas ou a um incremento no tamanho das mesmas. A cinética de reação, o movimento dos átomos na solução (conhecido como movimento Browniano) e o mecanismo de agregação das nanopartículas podem ser intensificados com o aumento da temperatura.

Além disso, foi observado no estudo de Fernando e Zhou (2019), que as AgNPs foram predominantemente afetadas pelo pH sob os fenômenos de agregação e dissolução. Em pH ácido e neutro, as partículas foram reestabilizadas devido à presença de íons hidroxila, o que resultou em suspensões mais estáveis.

Um dos grandes desafios para sintetizar AgNPs é obter precisamente o tamanho, a forma e a concentração de NPs na síntese final. Neste contexto, podemos destacar o estudo de Paramelle *et al.* (2014), em que foi demonstrado um novo método de cálculo de coeficientes de extinção de nanopartículas esféricas de prata e tamanho a partir de medidas de absorção UV-Vis. Este trabalho fornece informações extremamente úteis na utilização de soluções coloidais de nanopartículas de prata esféricas com tamanhos entre 8 e 100 nm. Foi utilizado o citrato de sódio para redução dessas nanopartículas. Os coeficientes de extinção obtidos para as nanopartículas de prata foram comparados com a teoria de Mie e um excelente acordo foi obtido. Como resultado da investigação, foi criada uma tabela abrangente de Coeficiente de extinção vs. Dimensão da nanopartícula vs. Comprimento de onda λ_{\max} teórico das nanopartículas (ver Figura 5).

Figura 5 – Cálculo da concentração das nanopartículas de prata

Fonte: Adaptado de PARAMELLE *et al.* (2014, p. 4856)

É importante notar que esta tabela fornece um método simples para calcular as concentrações de nanopartículas de prata de vários tamanhos, com base no seu coeficiente de extinção. Isto aplica-se também à medição da concentração de nanopartículas de prata durante a montagem e funcionalização de novas camadas de revestimento, quer diretamente através da medição do conteúdo de prata, quer indiretamente através da medição das características de absorção das nanopartículas e da sua calibração as do material de base.

Com os dados da tabela da Figura 5 e o diâmetro das nanopartículas estimado por $\lambda_{\text{máx}}$ ou por TEM, é possível calcular o coeficiente de extinção de nanopartículas revestidas com citrato.

Um sumário dos dados simulados para $\lambda_{\text{máx}}$ e coeficiente de extinção de vários tamanhos de AgNPs revestidas com citrato pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 – Sumário dos dados simulados para $\lambda_{\text{máx}}$ e coeficiente de extinção de vários tamanhos de AgNPs revestidas com citrato

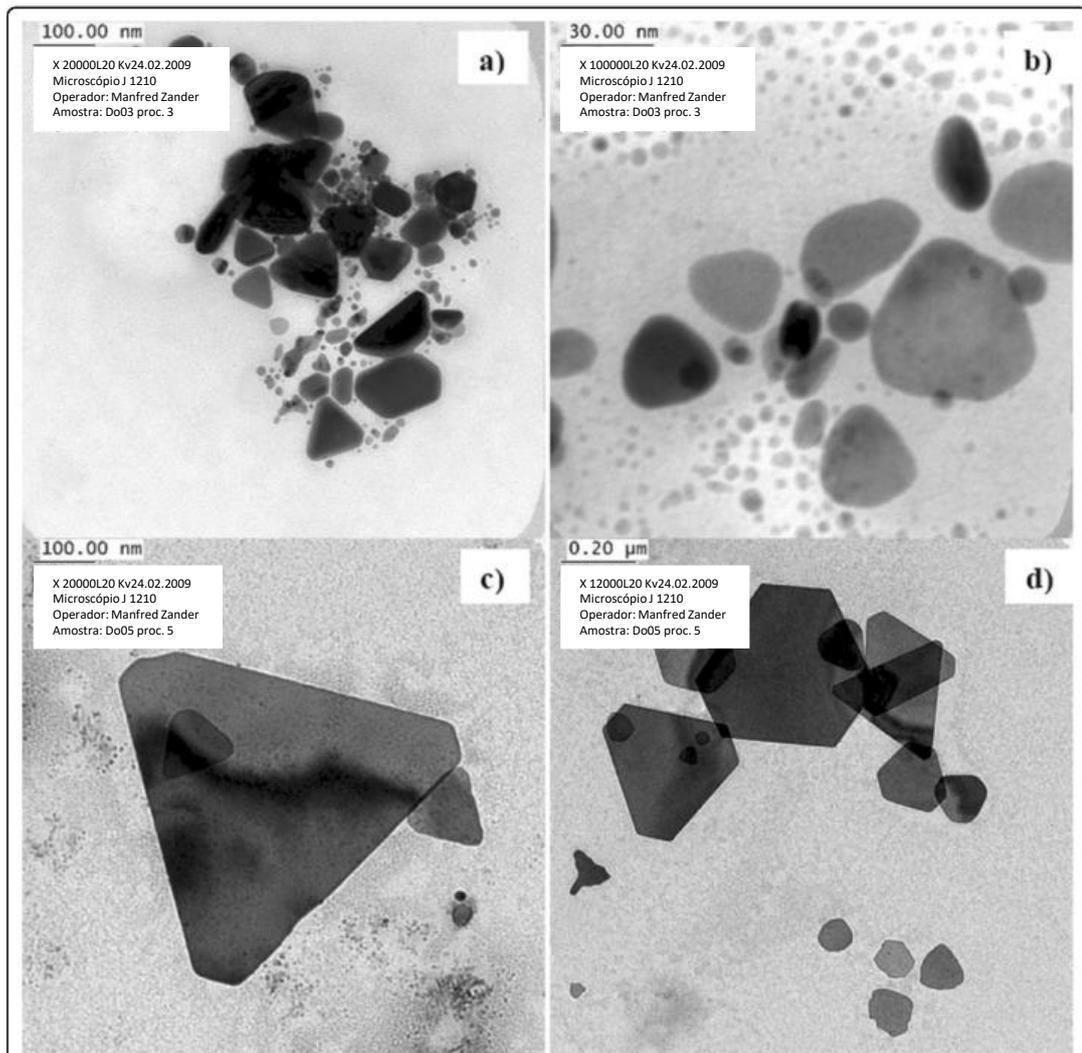
d/nm	$\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$	$\epsilon/\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \times 10^8$
10	392.1	5.56
20	400.8	41.8
30	405.6	145
40	412.3	336
50	420.9	537
60	431.5	739
70	443.8	941
80	458.3	1142
90	474.6	1344
100	492.8	1546

Fonte: PARAMELLE *et al.* (2014, p. 4860)

De acordo com os resultados de um estudo de Mavani e Shah (2013), as nanopartículas de prata podem agora ser sintetizadas usando o borohidreto de sódio (NaBH_4) como agente redutor e o nitrato de prata (AgNO_3) como fonte de íons de prata. Assim, devido à absorção do comprimento de onda a 386 nm, a solução de Ag tem uma coloração amarelada. Como as nanopartículas de prata são muito sensíveis à absorção da luz, elas interagem com a luz devido à sua constante dielétrica extremamente elevada, fazendo com que a resposta da luz ocorra na região visível. Dessa forma, as propriedades de absorção e espalhamento das nanopartículas de prata podem ser sintonizadas através da variação do tamanho e forma das partículas e do índice de refração local próximo da superfície da partícula.

Para a preparação de várias soluções de nanopartículas de prata, no estudo de Van Dong *et al.* (2012) foram investigados vários métodos de síntese química. Em cada caso, foi dada especial atenção à alteração do tamanho médio das nanopartículas, bem como à sua distribuição de forma. Espectroscopia UV-Vis, MET, espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDX ou EDS), e difração de raios X (DRX) foram utilizadas para caracterizar estas propriedades. Foram sintetizadas diferentes nanopartículas de prata esféricas com tamanhos de 4, 21 e 40 nm, respectivamente. Em contraste, foram preparados em água, prismas triangulares (ver Figura 6) de tamanho nanométrico com bordas e vértices afiados, à temperatura ambiente na presença de peróxido de hidrogênio, com tamanhos que variavam entre 25 e 400 nm. O espectro UV-Vis tem formas não esféricas com diferentes frequências de ressonância a 340 e 710 nm, enquanto as nanopartículas esféricas de prata têm banda de plásmon de superfície a cerca de 420 nm.

Figura 6 – Micrografias de nanoprismas de prata triangulares



Fonte: Adaptado de VAN DONG *et al.* (2012, p. 06)

Devido às suas estruturas geométricas e planos cristalinos $\{111\}$, os nanoprismas triangulares de prata têm maior atividade antibacteriana do que as nanopartículas esféricas de prata num teste de inibição de zona, e as partículas de pequeno tamanho também conferem maiores propriedades antibacterianas. Quando comparados com as nanopartículas esféricas de prata, os nanoprismas triangulares com bordas e vértices afiados demonstraram propriedades antibacterianas muito elevadas. Como resultado, concluiu-se que a síntese e caracterização de nanoestruturas de prata de morfologia nova são de grande interesse na fabricação de materiais antibacterianos (VAN DONG *et al.*, 2012).

3.3.2 Síntese física

Os métodos físicos não utilizam produtos químicos tóxicos e normalmente têm um tempo de processamento curto. A condensação física do vapor, a descarga do arco, a moagem da esfera de energia e a pulverização magnética de corrente direta são exemplos de tais métodos. Outra vantagem dos métodos físicos é que as AgNPs formadas têm uma distribuição de tamanho estreito; entretanto, seu alto consumo de energia é uma grande desvantagem (WEI *et al.*, 2015).

3.3.3 Síntese biológica ou síntese verde

As sínteses físicas e químicas consomem muita energia e frequentemente envolvem o uso de substâncias tóxicas, enquanto os métodos biológicos são mais rentáveis, limpos, não tóxicos e ecológicos (BERNARDO *et al.*, 2021).

Foram propostos caminhos de síntese biológica utilizando extratos vegetais, enzimas e/ou micro-organismos como alternativas ecologicamente corretas a outros métodos (SARAVANAKUMAR *et al.*, 2016; SHARMA *et al.*, 2017). Seguindo a tendência global, a geração de NPs ecológicas e verdes, conhecida como síntese verde, emprega extratos de plantas e tem vantagens sobre outros tipos de síntese. As plantas são amplamente distribuídas, facilmente acessíveis, seguras de manusear, têm um baixo custo de produção e são fonte de uma variedade de metabólitos (elementos fitoquímicos bioativos) (BERNARDO *et al.*, 2021).

O método de síntese verde é popular porque é ecologicamente correto e menos caro do que outros métodos. Este método emprega proteínas ou um metabólito secundário como um agente importante na reação de redução do metal (KEMALA *et al.*, 2022).

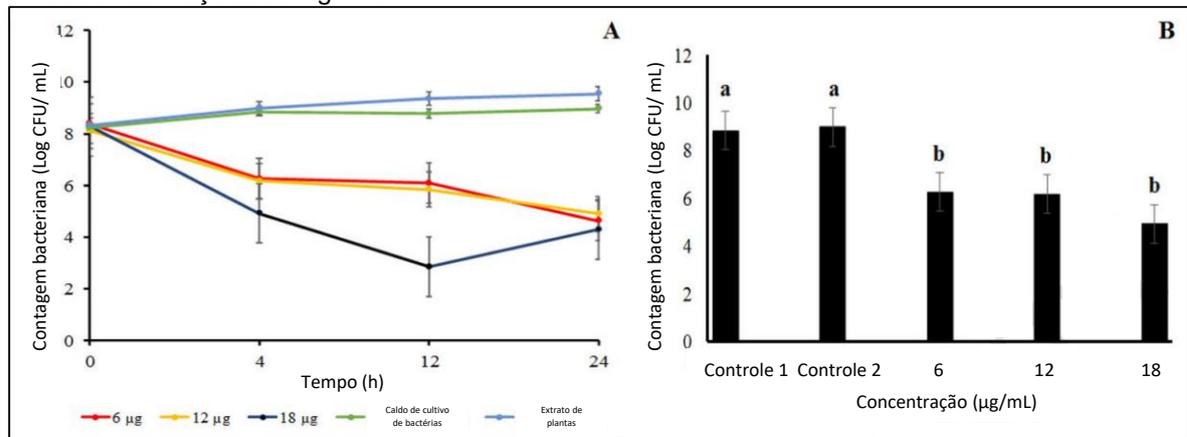
Os agentes redutores e estabilizadores tóxicos são substituídos por moléculas não tóxicas (proteínas, carboidratos, antioxidantes etc.) produzidas por organismos vivos como bactérias, fungos, leveduras e plantas durante a síntese biológica das AgNPs. Os métodos biológicos baseados em microrganismos como bactérias, fungos e leveduras têm recebido muita atenção. Para a síntese de AgNPs, foram investigados sistemas vegetais menos caros como capim-limão, *Aloe vera*, alga marinha, alfafa, chá, neem, mostarda, safeda, lótus e tulsí. A redução enzimática

(por exemplo, NADPH reductase) e não enzimática são dois possíveis mecanismos de síntese biológica. Em geral, o método mais ecológico de produção de AgNPs é através da utilização de extratos de plantas (WEI *et al.*, 2015).

Em geral, os métodos físicos e químicos convencionais parecem ser proibitivamente caros e perigosos; enquanto as AgNPs biologicamente preparadas têm um alto rendimento, solubilidade e estabilidade. Os métodos biológicos parecem ser simples, rápidos, não tóxicos, confiáveis e ecológicos para produzir tamanho e morfologia bem definidos sob condições otimizadas para a pesquisa translacional. Finalmente, uma abordagem química verde para a síntese de AgNPs mostra grande promessa (ZHANG *et al.*, 2016).

Em um estudo de Alsammarraie *et al.* (2018) foi desenvolvido um método de baixo custo, simples e ambientalmente favorável para sintetizar AgNPs utilizando componentes orgânicos de extrato aquoso de pó de açafrão (AETP) como agentes redutores e estabilizantes, evitando ao mesmo tempo a utilização de quaisquer materiais perigosos ou tóxicos. A confirmação visual da síntese de AgNPs foi obtida através da observação da mudança de cor da solução. De acordo com a análise EDS, as nanopartículas exibiam fortes sinais de prata. Os espectros de FTIR revelaram a presença de constituintes orgânicos no coloide de AgNPs, indicando o envolvimento de componentes orgânicos de AETP como agentes redutores e limitadores no processo de síntese das AgNPs. A atividade antibacteriana das AgNPs contra *E. coli* O157:H7 e *L. monocytogenes* foi excelente. Após 24 horas de incubação com AgNPs, a contagem de células bacterianas foi reduzida em 4 UFC/ml de log em comparação com os grupos de controle (ver Figura 7). As imagens de MET e microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostram que a exposição às AgNPs causou graves danos e perturbações na permeabilidade da membrana celular de ambas as cepas bacterianas, confirmando que as AgNPs têm efeitos bacteriolíticos e bactericidas. O estudo comenta a necessidade de mais investigação para determinar a toxicidade das AgNPs biosintetizadas em outras cepas bacterianas ou células de mamíferos.

Figura 7 – Ao lado esquerdo, pode se observar a diminuição na contagem de *E. coli* quando expostas à uma solução de AgNPs. Já ao lado direito, notam-se diferenças significativas entre as concentrações de AgNPs e os dois grupos controle, entretanto não houve diferença significativa entre as três concentrações de AgNPs



Fonte: Adaptado de ALSAMMARRAIE *et al.* (2018, p. 25)

Em um estudo de Sadeghi e Gholamhoseinpoor (2015), a síntese baseada em extrato de plantas foi utilizada para produzir nanopartículas com tamanho e morfologia controlados. Foi utilizado *Z. tenuior* (Zt) para demonstrar uma abordagem química ecológica rápida e ambientalmente favorável para a síntese de AgNPs, o que proporciona uma forma simples, rentável e eficiente para a síntese de AgNPs. O DRX é utilizado para examinar as propriedades estruturais das nanopartículas de prata sintetizadas. Para AgNPs, o tamanho médio do cristal calculado utilizando a equação de Scherrer é de 38 nm.

O tamanho médio das nanopartículas é de 20 nm nas imagens de MET e MEV. A medida FTIR revelou que as proteínas formam uma camada sobre as nanopartículas de prata para estabilizar e prevenir a aglomeração de partículas. As caracterizações espectroscópicas do potencial UV-Vis e zeta apoiam a formação e estabilidade das AgNPs biosintetizadas. Além disso, o método ecológico será uma alternativa competitiva aos métodos existentes para a produção de materiais inorgânicos em nanopartículas. O presente estudo mostrou uma forma inovadora de sintetizar AgNPs antimicrobianas utilizando produtos naturais que podem ser utilizados em várias aplicações biomédicas.

Muitos pesquisadores estão interessados no uso de nanopartículas metálicas como nanomateriais na terapia biomédica. Esse interesse se deve, em parte, às propriedades antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas, antioxidantes e antivirais das nanopartículas de prata sintetizadas a partir de plantas. Devido à sua

alta condutividade térmica e elétrica, assim como seus baixos pontos de ebulição e fusão, as nanopartículas de prata (AgNPs) são o foco principal das nanopartículas metálicas (KEMALA *et al.*, 2022).

O amplo efeito antimicrobiano da prata é bem conhecido, e tem sido utilizado em vários campos da medicina durante anos, na cicatrização de feridas e em biomateriais. O efeito antimicrobiano da prata depende do contato superficial, uma vez que a prata pode inibir os sistemas enzimáticos da cadeia respiratória e alterar a síntese do DNA. As nanopartículas têm uma área de contato maior do que outros sais e mesmo partículas de prata devido ao seu pequeno tamanho, permitindo um melhor contato com microrganismos, ligando-se à membrana celular e penetrando no seu interior (SALOMONI *et al.*, 2017).

Tamanho, forma, carga superficial, funcionalização e estrutura central são todos fatores importantes na determinação dos efeitos biológicos das nanopartículas, tais como a captação, ativação e distribuição celular (HEMLINGER *et al.*, 2016).

As nanopartículas de prata são utilizadas na odontologia para criar materiais antibacterianos que melhoram a qualidade do aparelho dentário para um melhor resultado do tratamento. Podem ser adicionadas a resinas acrílicas para a fabricação de próteses removíveis no tratamento protético, resinas compostas para a restauração direta no tratamento restaurador, solução irrigante endodôntica e material de obturação, materiais adesivos ortodônticos, membranas periodontais para regeneração guiada de tecidos, e revestimento de titânio no tratamento de implantes dentários (YIN *et al.*, 2020).

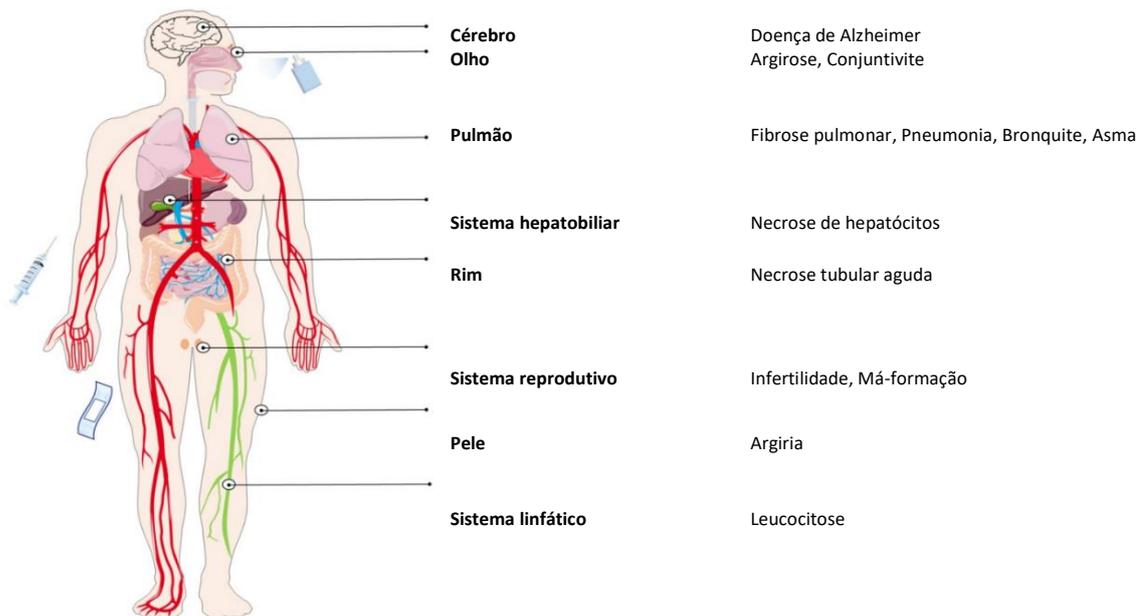
3.3.4 Limitações - citotoxicidade

O perigo potencial dos nanomateriais para os órgãos e sistemas do corpo tem sido gradualmente notado, o que pode ter um impacto sobre as aplicações biomédicas dos nanomateriais. Como resultado, a dinâmica das AgNPs deve ser revista. As AgNPs podem ser administradas a vários órgãos através de várias vias, incluindo inalação, ingestão, contato com a pele e injeção subcutânea ou intravenosa. As AgNPs absorvidas são distribuídas em muitos sistemas, incluindo a derme, sistema respiratório, baço, sistema digestivo, sistema urinário, sistema nervoso, sistema imunológico e sistema reprodutivo, e são distribuídas

principalmente no baço, fígado, rim e pulmão, com pouca deposição de AgNPs nos dentes e ossos (XU *et al.*, 2020).

Na Figura 8 pode-se observar a potencial citotoxicidade das nanopartículas de prata em diferentes órgãos e sistemas do corpo humano.

Figura 8 – Citotoxicidade das AgNPs em diferentes órgãos e sistemas do corpo humano



Fonte: Adaptado de XU *et al.* (2020, p. 9017)

3.3.5 Nanopartículas de prata na odontologia

A cárie é uma doença multifatorial resultante da interação de diversos fatores, incluindo uma dieta rica em açúcares fermentáveis, a presença de microrganismos cariogênicos e fatores do hospedeiro. A presença de cárie no esmalte é determinada pela falta de equilíbrio dinâmico entre os processos de remineralização e desmineralização da superfície do esmalte. Na ausência de flúor, a saliva, rica em íons como cálcio e fosfato, tem papel importante nesse processo, determinando que o valor do pH no qual ocorre a desmineralização seja 5,5. Abaixo desse valor de referência, os ácidos produzidos pelos biofilmes (placa bacteriana) podem afetar a estrutura do esmalte, causando perda excessiva de minerais e cavitação. Historicamente, tem-se buscado agentes antimicrobianos que atuem contra o biofilme, com ênfase nos compostos contendo prata (MENDES-GOUVÊA *et al.*, 2022).

Os possíveis mecanismos de ação para parar a cárie, que estão associados ao nitrato de prata para efeito antibacteriano, estão inibindo a desmineralização e promovendo a remineralização. Em um estudo de Favaro *et al.* (2022), foi observado que o diamino fluoreto de prata (SDF), por outro lado, escureceu as áreas afetadas pelo processo cariioso. Isto se deve ao processo de redução do íon prata contido em sua formulação, o que torna este material antiestético. Então, apesar de sua alta taxa de sucesso, este efeito de escurecimento limita seu uso. Entretanto, as nanopartículas de prata são agentes antimicrobianos extremamente eficazes que superam a prata iônica.

Nanopartículas têm uma maior superfície disponível para interagir com o microrganismo, e sua atividade antibacteriana é inversamente proporcional ao tamanho das partículas; ou seja, seu efeito antimicrobiano aumenta conforme o tamanho das partículas diminui. O mecanismo antimicrobiano das nanopartículas de prata baseia-se em sua capacidade de penetrar na parede celular bacteriana, causando danos através da peroxidação lipídica direta e indireta, interferindo assim nos processos celulares, como a replicação de DNA e a respiração celular. O desenvolvimento de novos agentes anticariogênicos contendo nanopartículas de prata poderia eliminar os danos estéticos causados pela pigmentação da superfície dental quando o SDF é utilizado. Além disso, as propriedades antibacterianas e remineralizantes podem ser obtidas com pouca ou nenhuma citotoxicidade (FAVARO *et al.*, 2022).

Os antibióticos tópicos têm sido amplamente utilizados para o tratamento de infecções em pessoas. Entretanto, devido ao amplo uso de antibióticos tópicos, a resistência dos microrganismos a vários agentes antimicrobianos tem aumentado de forma constante. Esta ameaça constante aumentou a demanda por novas substâncias antimicrobianas. Diante deste problema, e devido à doença infecciosa persistente causada por várias bactérias patogênicas, assim como a resistência aos antibióticos, é necessário procurar novos agentes antimicrobianos. Materiais antibacterianos contendo substâncias naturais e inorgânicas têm sido amplamente pesquisados. As nanopartículas metálicas têm propriedades físicas e químicas distintas, incluindo uma superfície de alto contato, atividade antimicrobiana e antioxidante, eficácia e baixa toxicidade em baixas concentrações. Estas nanopartículas têm propriedades antibacterianas, antivirais e antifúngicas. Devido a seu excelente efeito catalítico, boa condutividade elétrica e estabilidade química, a

prata é um dos metais mais comumente usados na forma de nanopartículas; sendo este um metal que tem sido utilizado em uma variedade de campos, incluindo medicina, agricultura e tratamento de água. A prata, em suas formas iônica, metálica e nanoparticuladas, tem sido usada como agente antibacteriano (NARCISO *et al.*, 2021).

O uso de compostos de prata tem a consequência não intencional de manchar as lesões cariosas de preto. Portanto, mesmo após serem informados sobre este resultado, os pacientes podem ficar insatisfeitos com os resultados estéticos do tratamento (YIN *et al.*, 2020).

Em contraste com as soluções de íons de prata, que tendem a formar camadas de óxido de prata de cor preta intensa, as propriedades optoeletrônicas intrínsecas das AgNPs resultam em uma descoloração significativamente menor dos dentes (YIN *et al.*, 2020).

4 FUNDAMENTOS

4.1 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE NANOMATERIAIS

Muitas técnicas, incluindo espectroscopia visível ultravioleta (espectroscopia UV-Vis), difração de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia fotoelétrica de raios X (XPS), dispersão dinâmica da luz (DLS), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscopia de força atômica (MFA), e outras, podem ser utilizadas para avaliar os nanomateriais sintetizados (ZHANG *et al.*, 2016).

Além das já citadas, outras como a ultracentrifugação analítica (UCA) e o fracionamento de campo de fluxo (FFF), podem ser usadas para caracterizar o tamanho das partículas. Entretanto, a maioria destes métodos requer um cuidadoso preparo da amostra (MET, MEV e MFA), são caros, como o MFA, e têm o potencial de apresentar artefatos (MFA, UCA e FFF) (RODRIGUES *et al.*, 2020).

4.1.1 Espectroscopia UV-VIS

A espectroscopia UV-Vis é uma técnica física de espectroscopia óptica que utiliza a luz nas faixas visível, ultravioleta e infravermelha próxima. Ela se baseia na lei Beer-Lambert, que afirma que a absorção de uma solução é diretamente proporcional à concentração da espécie absorvente na solução e ao comprimento do trajeto. Essa lei afirma que quando um feixe de luz monocromática passa por uma solução absorvente, a taxa de diminuição da intensidade da radiação com a espessura da solução absorvente é proporcional à radiação incidente, assim como a concentração da solução (CHIRAYIL *et al.*, 2017).

A lei Beer-Lambert é expressa da seguinte forma:

$$A = \log (I_0/I) = \epsilon CL, \quad (1)$$

em que A é a absorbância, I_0 é a intensidade da luz incidente sobre a amostra, I é a intensidade da luz que passa pela amostra, C (Mol/L) é a concentração molar do

soluto, L é o comprimento da amostra em cm, e ϵ é a absorvidade molar em $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Combinando a Lei de Beer com a espectroscopia UV-Vis, é possível obter informações sobre o tamanho, forma e concentração de NPs metálicas. Sabendo que o espectro de ressonância de plásmons de superfície das nanopartículas é influenciado pelo tamanho, forma, interações entre partículas, densidade de elétrons livres e meio circundante, pode-se indicar que é uma ferramenta eficaz para monitorar a injeção de elétrons e a agregação de NPs (DESAI *et al.*, 2012).

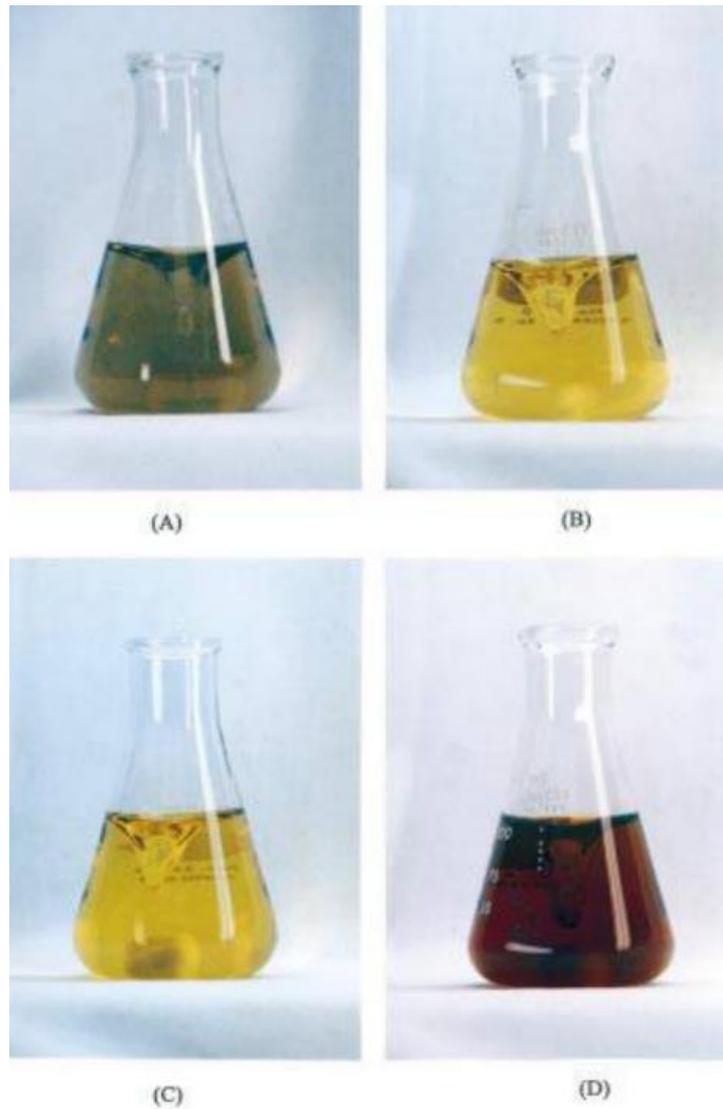
Como as nanopartículas de prata apresentam um intenso pico de absorção devido aos plásmons de superfície (descrevendo a excitação coletiva de elétrons de condução em um metal), os espectros de absorção UV-Vis demonstraram ser bastante sensíveis à formação de coloides de prata.

Foi relatado que as nanopartículas de prata apresentam um intenso pico de absorção na região UV-Vis a 350-450 nm (DUTTA *et al.*, 2022).

De acordo com Chirayil *et al.* (2017), o espectro UV-visível é usado para determinar o tamanho e a concentração de nanopartículas. Ele é usado para avaliar o grau de agregação dessas partículas e pode ser usado para monitorar a estabilidade das soluções de nanopartículas de forma simples e confiável. Conforme as partículas se desestabilizam, a intensidade do pico de extinção original diminui (devido ao esgotamento de NPs estáveis), e o pico muitas vezes se amplia ou se forma um pico secundário em comprimentos de onda mais longos (devido à formação de agregados), como pode ser observado na Figura 9.

A Figura 9A, tirada 1 s após o início do processo, revela que a solução tem uma cor amarela-esverdeada mais profunda devido a partículas com uma absorção considerável de comprimento de onda longo. A Figura 9B e 9C mostram a segunda fase, em que a cor da solução muda de um amarelo-esverdeado mais escuro para uma tonalidade amarela brilhante que se mantém durante muito tempo. Esta cor amarela é causada por partículas minúsculas (5-10 nm) na solução que apenas absorvem em comprimentos de onda curtos (400 nm). Finalmente, a Figura 9D mostra a fase 3, em que a solução adquire uma cor substancialmente mais escura no final da reação devido a um aumento do tamanho das partículas, resultando na absorção de comprimentos de onda longos (500-800 nm) (VAN HYNING; ZUKOSKI, 1998).

Figura 9 – Agregados de soluções de AgNPs



Fonte: VAN HYNING *et al.* (1998, p. 7035)

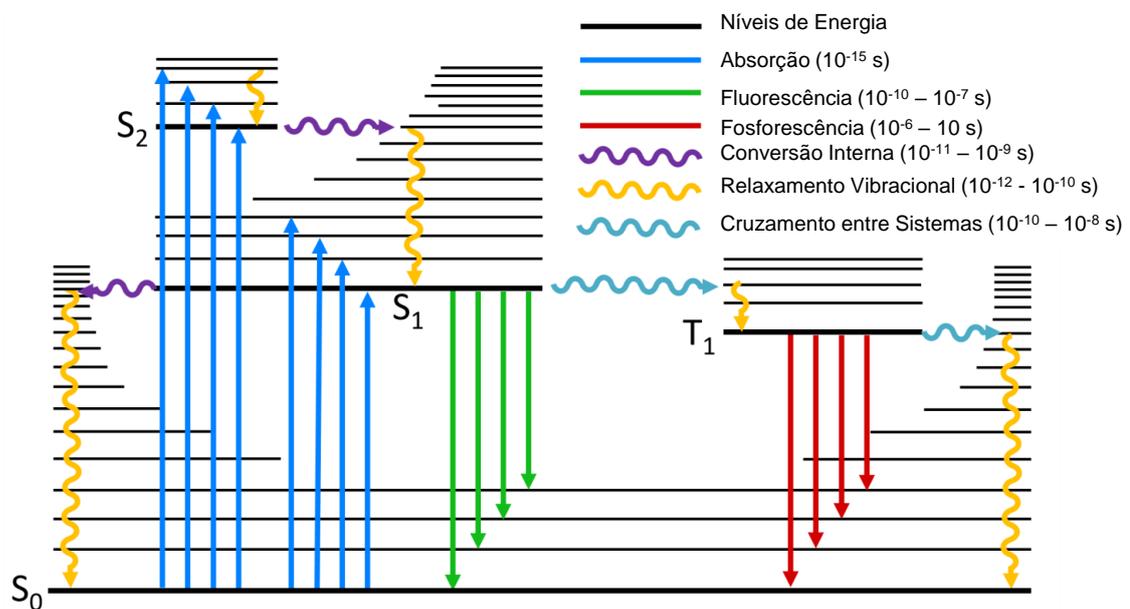
Ademais, foi demonstrado que o potencial eletroquímico é negativo durante a fase intermediária, mas torna-se mais positivo mais tarde na reação; e as partículas aglomeram-se à medida que o potencial da solução aumenta. Quando as espécies de borohidreto são consumidas, as espécies de borato adsorvem-se às superfícies das partículas, resultando numa carga de partículas mais baixa e na agregação (VAN HYNING *et al.*, 1998).

4.1.2 Espectroscopia de fluorescência

A fotoluminescência é a capacidade das moléculas fluorescentes (fluoróforos ou fluorocromos) de absorver e emitir luz (fótons). O diagrama energético de

Jablonski (Figura 10) retrata a relação entre a absorção da luz e a emissão de um fluoróforo. Um fluoróforo é excitado do seu estado fundamental (S_0) para estados de energia eletrônica superiores (por exemplo, S_1 ou S_2). Os elétrons no estado excitado sofrem um relaxamento vibracional não radiativo (ou seja, dentro de um estado de energia eletrônica) e conversão interna (ou seja, entre estados de energia eletrônica vizinhos).

Figura 10 – Diagrama energético de Jablonski



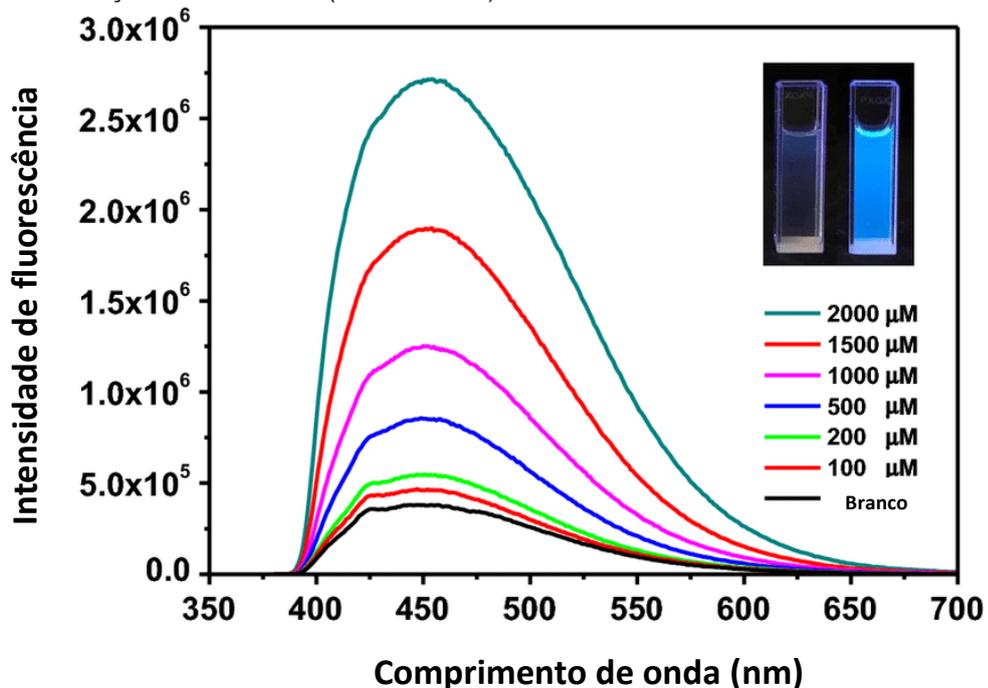
Fonte: Adaptado de EDINBURGH INSTRUMENTS (2023)

Os elétrons, ao retornarem ao seu estado fundamental, emitem luz de menor energia que os excitou. A emissão de luz é chamada de fotoluminescência, que se divide em dois fenômenos: fluorescência e fosforescência. Basicamente, a diferença entre os dois fenômenos está no tempo de vida e na energia da emissão de luz. Enquanto na fluorescência a emissão é praticamente instantânea (10^{-9} s), na fosforescência é bem lenta e pode chegar na escala de tempo de segundos. Além disso, na fosforescência, a emissão é sempre de menor energia que na fluorescência, porque envolve um estado eletrônico proibido chamado estado tripleto.

Na Figura 11, é possível observar um espectro de emissão de fluorescência para uma solução aquosa mista de poli(aminoéster) polióis (0,5 mg/ml) e cloreto

férrico (0,5 mM) na presença de diferentes concentrações de Lcisteína ($\lambda_{ex} = 370$ nm).

Figura 11 – Espectro de emissão de fluorescência da solução aquosa mista de poli(aminoéster) polióis (0,5 mg/ml) e cloreto férrico (0,5 mM) na presença de diferentes concentrações de Lcisteína ($\lambda_{ex} = 370$ nm)



Fonte: Adaptado de CHEN *et al.* (2018, p. 15723)

Através da fluorescência é possível fazer imagens de microscopia, a qual é reconhecida como uma das melhores e mais apropriadas técnicas numa vasta gama de campos de investigação, incluindo a detecção de uma única molécula, diagnóstico precoce do câncer etc. A técnica é conhecida pela sua elevada sensibilidade e seletividade, bem como pela sua baixa invasividade e resistência a sinais elétricos ou magnéticos (HOSSAIN; MUKHAIMER; AL-JABARI, 2021).

Frederik William Herschel descobriu em 1845 que uma solução de quinina, apesar de ser incolor e transparente por si só, exibe uma “cor azul celeste viva e bela” quando iluminada e observada sob certas incidências da luz solar. Esta é a primeira vez que se observa uma fluorescência. A luz ultravioleta do sol excita o quinino numa solução quinina, como a água tônica, fazendo com que emita luz azul, que é mais visível quando observada num ângulo reto em relação à luz solar incidente. George Stokes expandiu-se na observação de fluorescência feita por Herschel em 1852. Desde que Ernst Abbe demonstrou as limitações da microscopia

utilizando luz transmitida, as expectativas para a incorporação da fluorescência na microscopia foram elevadas (RENZ, 2013).

A microscopia tem desempenhado um papel importante na determinação da atividade celular, desde a apreciação precoce de Van Leeuwenhoek das cápsulas animais vivas com um microscópio simples até aos detalhes de eventos celulares com uma variedade de sistemas modernos e sofisticados de imagem. A tendência atual é a de observar eventos vivos com resolução espacial e temporal crescente. Numerosas abordagens de microscopia de luz transmitida, tais como contraste de fase, contraste de interferência diferencial (DIC), e microscopia polarizada, melhoram o contraste inerente dos espécimes vivos, tornando-os mais visíveis. No entanto, a introdução da microscopia de fluorescência, que utiliza uma variedade de indicadores fluorescentes que podem ser adaptados em termos de especificidade para alvos como proteínas, lipídios, ou íons, foi provavelmente o passo mais significativo para nos permitir observar a fisiologia celular (SANDERSON *et al.*, 2014).

4.1.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

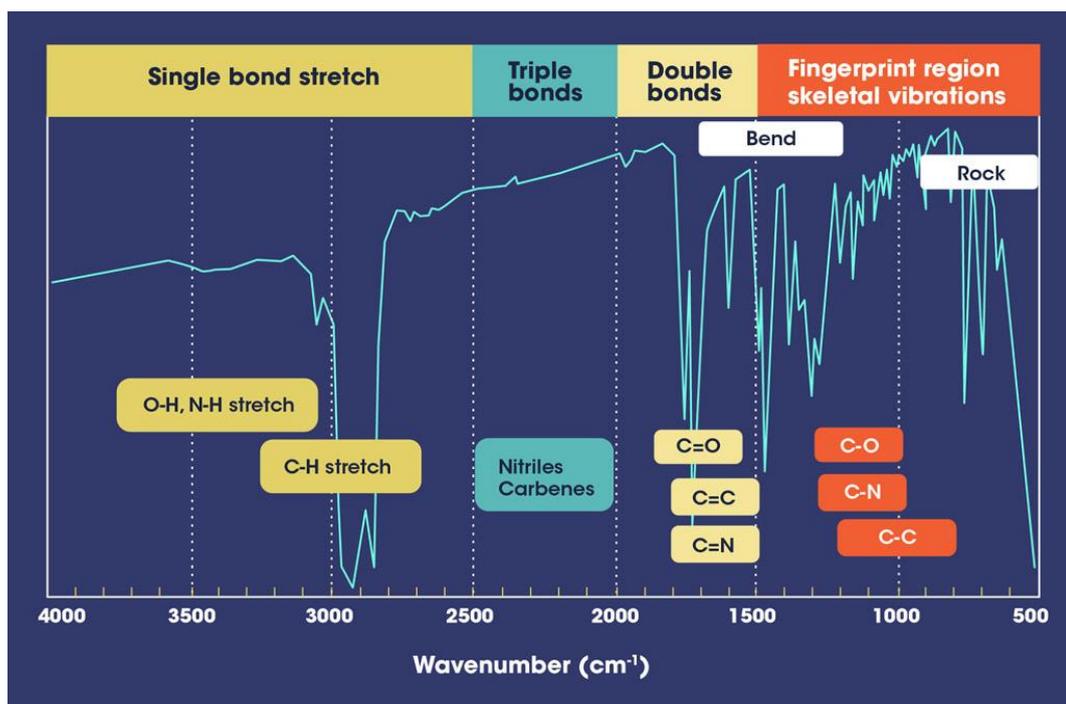
FTIR (Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier) é uma técnica analítica molecular bem conhecida. Para o infravermelho distante e o infravermelho próximo, a fonte de radiação pode ser uma lâmpada de mercúrio ou um incandescente de infravermelho. A espectroscopia FTIR é considerada como uma ferramenta eficaz para definir e caracterizar com precisão e sensibilidade as estruturas químicas (FARID *et al.*, 2021).

A utilização da técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) para a análise não-destrutiva de amostras biológicas é uma área de investigação em rápida expansão, com grande ênfase na sua utilidade no diagnóstico citológico e histológico através da geração de imagem espectral. As moléculas ativas no infravermelho têm um momento dipolo elétrico que pode mudar devido ao deslocamento atômico causado por vibrações naturais. A espectroscopia no infravermelho pode quantificar estes modos vibracionais, fornecendo uma ferramenta única e sem a necessidade do uso de agentes químicos para o estudo da composição e dinâmica molecular sem perturbar a amostra (BAKER *et al.*, 2014).

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica popular para identificar grupos funcionais (ver Figura 12) em materiais (gás, líquido e sólido) utilizando um feixe de radiação infravermelha.

A espectroscopia no infravermelho mede a absorção da radiação IV (infravermelha) por cada ligação na molécula e produz um espectro conhecido como % de transmitância versus número de onda (cm^{-1}). Uma vasta gama de materiais com ligações covalentes absorve a radiação eletromagnética na região do infravermelho. A região IV tem menos energia e um comprimento de onda mais longo do que a luz UV-visível, mas mais energia e um comprimento de onda mais curto do que a radiação de microondas. A molécula deve ser ativa por infravermelho para que possam ser determinados grupos funcionais na mesma (KHAN *et al.*, 2018).

Figura 12 – Espectro de FTIR de diferentes grupos funcionais



Fonte: Adaptado de LAKSHMI; RAJENDRAN; SATHIYABAMA (2016, p. 183)

4.1.4 Microscopia eletrônica de transmissão

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a microscopia eletrônica de transmissão (MET) são os métodos padrão para imagens diretas e medições dimensionais de micro e nanoestruturas devido à sua alta resolução e velocidade de

imagem. Enquanto os METs têm resolução lateral mais alta que os MEVs devido às energias eletrônicas bem acima de 100 keV, seus custos de aquisição e operação são várias vezes mais altos. Energias eletrônicas moderadas de cerca de 10 keV, como encontradas nos MEVs, fornecem resolução nanométrica e são suficientes para transmitir partículas na faixa de tamanho nanométrico (BUHR *et al.*, 2009).

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) tem sido uma ferramenta vital na biologia celular desde sua introdução no início da década de 1940. A aplicação mais comum de MET na biologia celular envolve a coloração de imagens de seções finas de células incorporadas em plástico, passando um feixe de elétrons através da amostra e absorvendo e espalhando o feixe, resultando em contraste e uma imagem. Devido ao curto comprimento de onda do feixe de elétrons (100.000 vezes menor que os fótons à luz visível), o MET pode alcançar uma resolução de subnanômetro – bem abaixo até mesmo dos microscópios de luz de maior resolução, que têm uma resolução de 20 nm. O citoesqueleto, os sistemas de membrana, organelas e cílios, bem como estruturas especializadas em células diferenciadas, tais como microvilli e o complexo sinaptonemal, foram todos beneficiados pela análise de MET. Sem o MET, simplesmente não há como visualizar a complexidade das células e ver as estruturas celulares. Apesar de sua eficácia, o MET tem limitações (WINEY *et al.*, 2014).

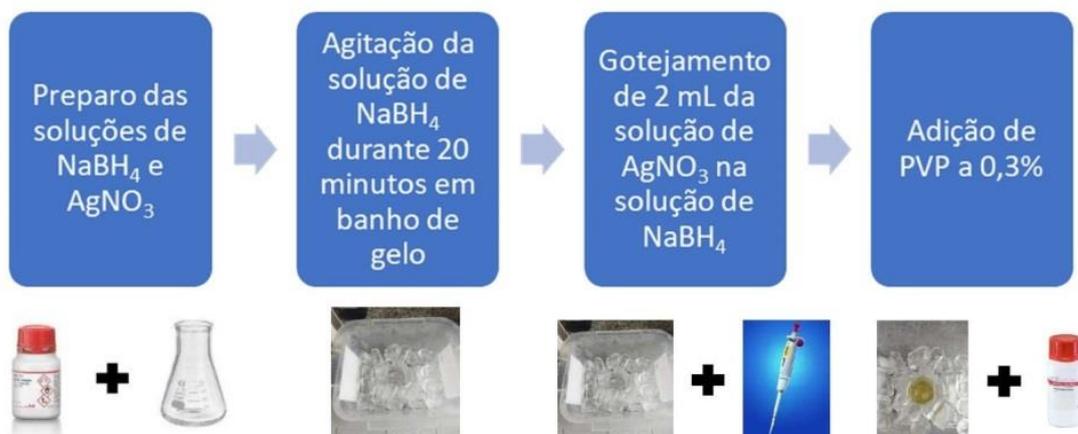
5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 SÍNTESE DE AgNPS

Todos os reagentes utilizados neste trabalho são da marca *Sigma Aldrich* (*Missouri, United States*).

A síntese de AgNPs foi realizada de acordo com a Figura 13. Inicialmente foram preparados 50 ml de uma solução de borohidreto de sódio (NaBH_4) (grau de pureza $\geq 98\%$) a 2 mM em água Milli-Q em um frasco de Erlenmeyer; e então, foram sintetizadas concentrações de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 $\times 10^{-3}$ M, que foram utilizadas proporcionalmente às soluções de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; e 2,5 mM de AgNO_3 (grau de pureza $\geq 99\%$), respectivamente. Em seguida esta solução foi colocada em um banho de gelo e em um sistema de agitação magnética. O banho de gelo é usado para retardar a reação e dar melhor controle sobre o tamanho/forma da partícula final. A agitação foi realizada por cerca de 20 minutos. Foram então preparadas soluções de nitrato de prata em água Milli-Q com concentrações variando entre 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mM. Estas soluções foram então gotejadas (volume total de 2 ml) na solução de NaBH_4 . Finalmente, adicionou-se 200 μl de PVP em água Milli-Q a 0,3% em massa para prevenir a agregação das AgNPs. O polímero PVP utilizado possui peso molecular médio de 40.000 g/mol. O método utilizado pode ser observado no estudo de Mavani e Shah (2013).

Figura 13 – Diagrama do processo de síntese de nanopartículas de prata



Fonte: Próprio autor

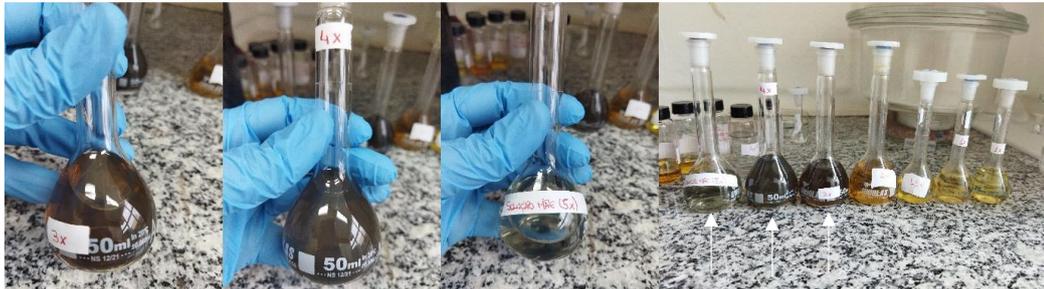
A Figura 14 mostra as soluções de diferentes concentrações de nitrato de prata utilizadas na síntese (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mM). Na Figura 15 estão os agregados de nanopartículas que ocorreram durante a síntese de determinadas soluções com concentrações de nitrato de prata maiores que 2,5 mM.

Figura 14 – Soluções de AgNPs de diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mM)



Fonte: Próprio autor

Figura 15 – Agregados de soluções de AgNPs que ocorreram no processo de síntese



Fonte: Próprio autor

5.2 FABRICAÇÃO DOS FILMES DE RESINA COMPOSTA

Para a confecção dos filmes de resina composta (Figura 16), foram utilizadas pequenas quantidades da resina Charisma Classic (*Heraeus Kulzer®*, Alemanha) (Figura 17), que foram posicionadas em cima de uma placa de vidro (Golgran®, São Caetano do Sul, São Paulo – SP) com uma espátula metálica (Golgran®, São Caetano do Sul, São Paulo – SP), e pressionadas com uma lamínula de vidro em formato circular até que fossem obtidos filmes de espessura bem fina.

A resina Charisma Classic é composta pelos materiais vidro de fluorsilicato de bário, alumínio e boro, Bis-GMA (bisfenol-A glicidil metacrilato), tectossilicato, TEGDMA (dimetacrilato de trietilenoglicol), UDMA (uretano dimetacrilato), ácido

silícico, polímero, dióxido de titânio, pigmentos fluorescentes, pigmentos de óxido metálico, pigmentos orgânicos, éster de ácido aminobenzoico, BHT (butil-hidroxi-tolueno) e canforoquinona. Além disso, a resina Charisma Classic contém aproximadamente 61% de carga por volume (com 60% de carga inorgânica por volume), com tamanho de partícula de carga de 0,005 a 10 μm .

Figura 16 – Filmes de resina composta A1 e A3



Fonte: Próprio autor

Figura 17 – Resina composta Charisma Classic



Fonte: Google imagens

5.3 ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Todos os reagentes utilizados neste trabalho são da marca *Sigma Aldrich* (*Missouri, United States*). As soluções de nanopartículas de prata (AgNPs) foram preparadas nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5X. Uma alíquota de 3,2 ml foi colocada em uma cubeta de vidro com 1 cm de espessura e com tampa, evitando a evaporação do solvente e, conseqüentemente, a mudança de concentração.

A caracterização das soluções de AgNPs foi realizada por meio de medidas de espectroscopia de absorção do ultravioleta-visível (UV-VIS), com um

espectrofotômetro UV-VIS Kasvi (São José dos Pinhais, Paraná – PR, Figura 18) que funciona em um intervalo de 190-1100 nm. Com o uso do programa UV Professional foi possível realizar a análise dos gráficos de absorbância em função do comprimento de onda em tempo real. Uma fonte de luz com comprimento de onda entre 200-800 nm foi utilizada como uma sonda para monitorar a absorção da amostra. No interior do equipamento, há um porta amostra para abrigar a cubeta de vidro de 1 cm de caminho óptico.

Figura 18 – Aparato experimental para análise das absorções UV-VIS



Fonte: Próprio autor

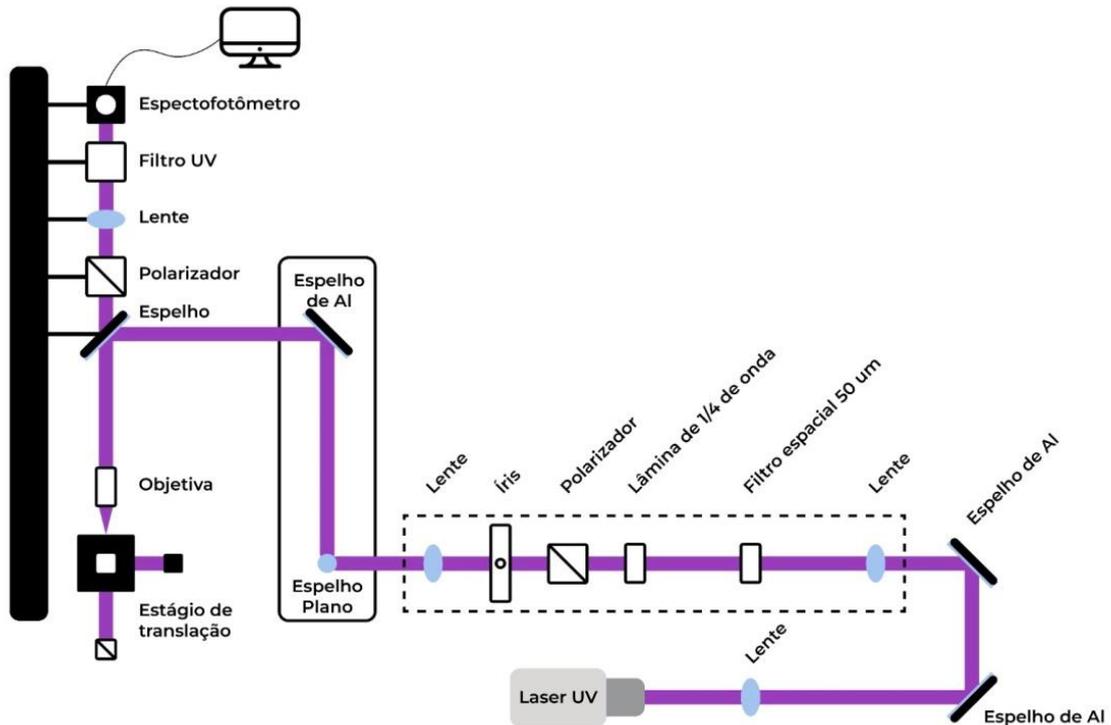
5.4 FTIR

As análises das soluções de AgNPs foram realizadas no espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier, da marca *Agilent Technologies (California, United States)*, modelo *Cary 630*. O intervalo de varredura foi de 4000 a 600 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} . Não houve necessidade de preparo prévio das amostras.

5.5 MICROSCOPIA FLUORESCENTE

Esta pesquisa e todos os ensaios de espectroscopia UV-Vis, FTIR e microscopia fluorescente foram realizados no Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fotônica (LEO&F) da Universidade Federal de Alfenas, campus Poços de Caldas. O sistema óptico é mostrado na Figura 19.

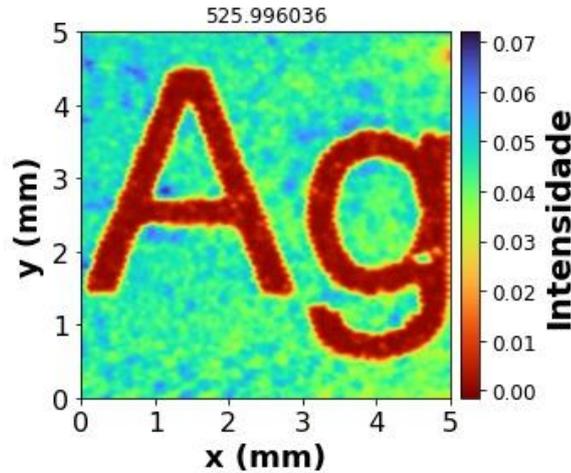
Figura 19 – Sistema óptico para a captação dos espectros de fluorescência



Fonte: Souza e Vivas (2023)

Basicamente, o sistema consiste em um microscópio óptico *home-made*, tendo como fonte de excitação um laser de 405 nm. O laser é focalizado na amostra através de uma objetiva de microscópio (100x, NA=0,65), e a fluorescência emitida pela amostra é capturada pela mesma objetiva. Assim, o sinal da fluorescência é direcionado através de uma lente para uma fibra óptica acoplada a um espectrômetro portátil. Um filtro UV é colocado antes da fibra óptica para remover o sinal do laser de excitação. Todo o sistema é controlado por computador. Uma imagem de microscopia de uma folha de papel com uma letra Ag pode ser visualizada na Figura 20.

Figura 20 – Imagem fluorescente bidimensional para Ag



Fonte: Souza e Vivas (2023)

5.6 INCORPORAÇÃO DE AgNPs ÀS RESINAS COMPOSTAS

A incorporação das nanopartículas de prata (AgNPs) à resina composta foi realizada comprimindo-se manualmente 10,2 mg da resina composta entre duas lâminas de vidro, formando um filme, o qual foi posicionado sobre um agitador magnético com aquecimento (CIENLAB EQUIPAMENTOS CIENTÍFICOS LTDA), em uma temperatura de aproximadamente 40 °C. A solução de nanopartículas de prata foi gotejada no filme de resina e, após a secagem da solução, a resina foi homogeneizada com uma espátula de metal (Golgran®, São Caetano do Sul, São Paulo – SP). Esse procedimento foi repetido até que fossem incorporados 100 µl da solução.

Na Figura 21 pode-se observar o filme de resina composta A1 (parte clara) + resina composta A1/AgNPs (parte escura), fabricado a partir do método descrito no parágrafo anterior, porém com aproximadamente 7 mg de resina para cada amostra e 1200 µl de solução de AgNPs para a amostra dopada.

Figura 21 – Filme de resina composta A1 + resina composta A1/AgNPs



Fonte: Próprio autor

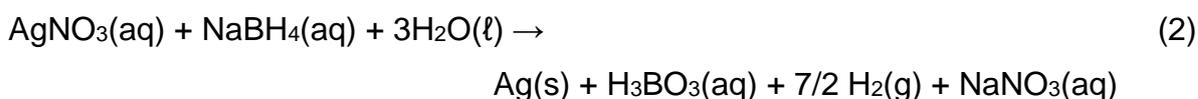
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NPS DE PRATA

6.1.1 Espectros de absorção UV-VIS e análise do tamanho de partículas

A redução de íons de prata em solução aquosa resulta em nanopartículas de prata coloidal com tamanhos de partículas de alguns nanômetros até centenas de nanômetros. Quando as partículas coloidais são da ordem de nanômetros, a cor das nanopartículas coloidais possui uma tonalidade castanha amarelada com uma faixa de comprimentos de onda entre 380-450 nm. Esta banda é causada pela excitação coletiva de elétrons (banda de plásmons) (SODHA *et al.*, 2015).

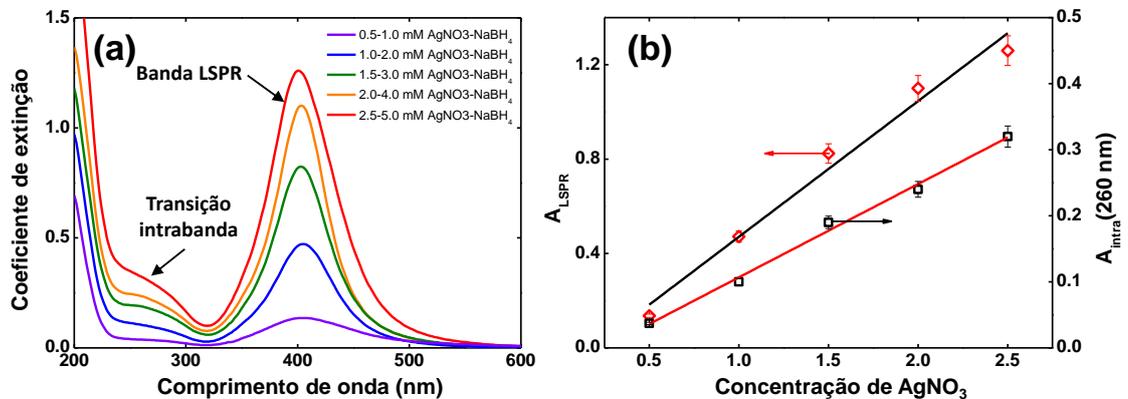
A reação química é a redução do borohidreto de sódio do nitrato de prata e pode ser descrita da seguinte forma (VU *et al.*, 2018):



Neste caso, após a geração dos átomos de prata ocorre a nucleação dos primeiros “clusters” e em seguida o crescimento das nanopartículas. Na Figura 22 (a) é mostrado os espectros de extinção para as cinco amostras de AgNPs sintetizadas utilizando diferentes concentrações de precursor e agente redutor. Quanto maior a concentração de AgNO₃ e NaBH₄, mais escuras visualmente as soluções são, como previamente mostrado na Figura 14. Este efeito pode ser devido ao aumento da concentração de NPs e também pelo aumento do tamanho das NPs, devido ao aumento na quantidade de precursor e redutor.

O máximo da banda LSPR (A_{LSPR}) e máximo da transição intrabanda (A_{intra}) em função da concentração de AgNO₃ das amostras sintetizadas pode ser observado na Figura 22 (b). Nota-se que a absorção aumenta quase que linearmente com o aumento da concentração de AgNO₃. Todas as soluções exibiram características de ressonância de plásmon de superfície (SPR) de AgNPs, tipicamente localizadas entre 393 e 403 nm, características de nanopartículas de prata.

Figura 22 – (a) Espectros de extinção para as cinco amostras de AgNPs sintetizadas utilizando diferentes concentrações de precursor e agente redutor. (b) Máximo da banda LSPR (A_{LSPR}) e máximo da transição intrabanda (A_{intra}) em função da concentração de $AgNO_3$



Fonte: Próprio autor

As concentrações de nitrato de prata foram de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mM e os picos de absorção das amostras sintetizadas por essas soluções foram de 406, 406, 404, 404 e 401 nm, respectivamente. Isso significa que os tamanhos das nanopartículas são bem próximos. Contudo, o aumento da absorção da banda de plásmon indica que a concentração de NPs de prata gerada é bem diferente. Neste sentido, utilizou-se o modelo teórico de Mie-Gans, como no estudo de Pereira e Vivas (2022), para determinar o tamanho e a concentração das AgNPs. Basicamente, o modelo é usado para ajustar a curva de absorção das AgNPs usando a constante dielétrica das nanopartículas de prata e o índice de refração do meio hospedeiro, que no caso foi a água.

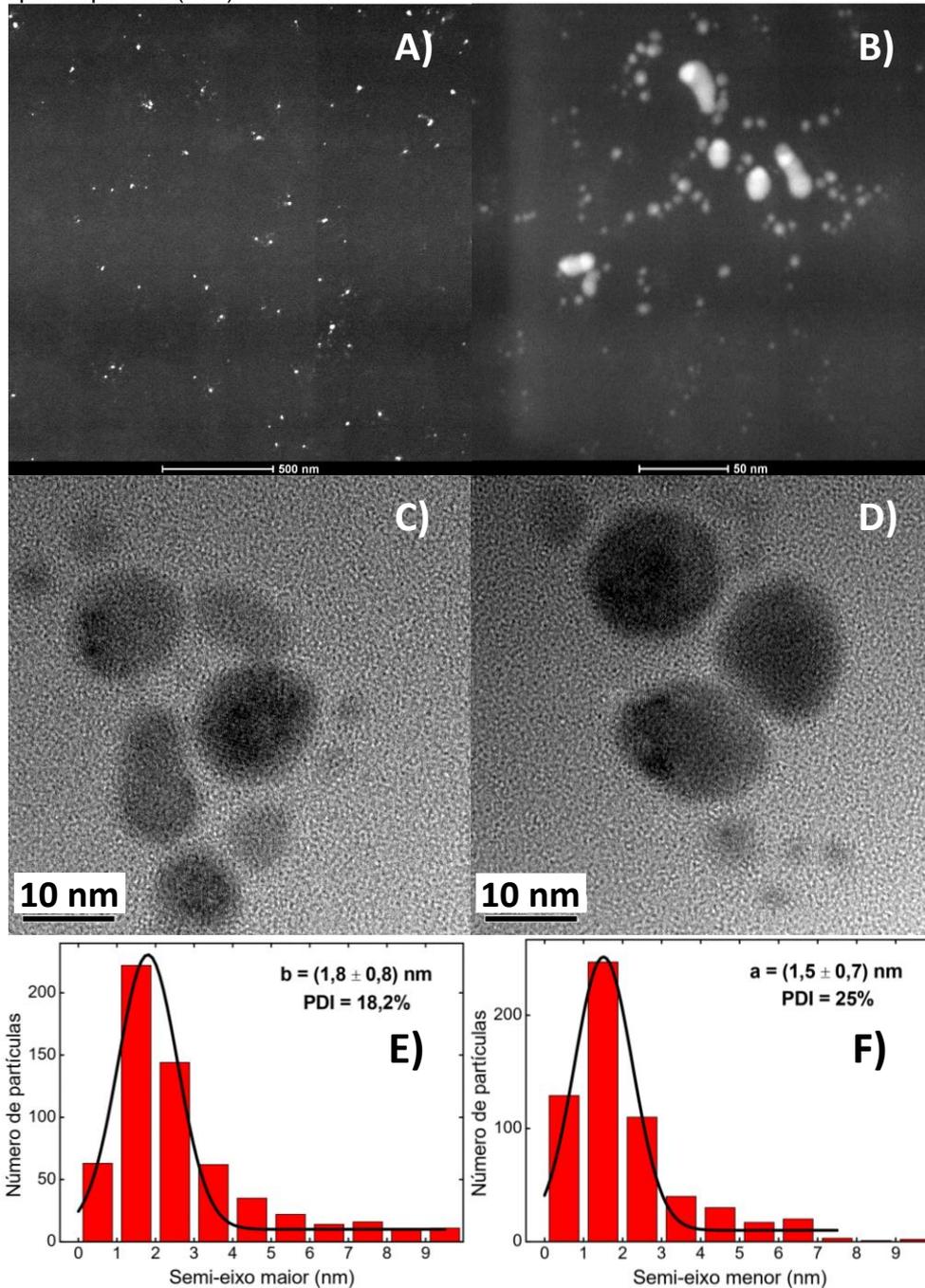
Antes de determinar a concentração e o tamanho das AgNPs foi necessário estimar o tamanho e a forma das nanopartículas. Neste contexto, medidas de microscopia eletrônica de transmissão foram realizadas no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar – São Paulo).

Nas Figuras 23, 24 e 25 A e B, pode-se observar imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de nanopartículas de prata nas concentrações de 0,5 mM (Fig. 23), 1,5 mM (Fig. 24) e 2,5 mM (Fig. 25).

Nas Figuras 23, 24 e 25 C e D, pode-se observar imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) em alta resolução de nanopartículas de prata nas concentrações de 0,5 mM (Fig. 23), 1,5 mM (Fig. 24) e 2,5 mM (Fig. 25). A partir dessas imagens foram construídos, com o auxílio do software ImageJ, os

histogramas mostrados nas Figuras 23, 24 e 25 E e F, referentes às nanopartículas de prata nas concentrações de 0,5 mM (Fig. 23), 1,5 mM (Fig. 24) e 2,5 mM (Fig. 25).

Figura 23 A e B – Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de AgNPs de concentração 0,5 mM; **C e D** – Imagens de MET em alta resolução; **E e F** – Gráficos de semi-eixo maior (b) e menor (a) com valores de tamanho médio, desvio padrão e índice de polidispersão (PDI)

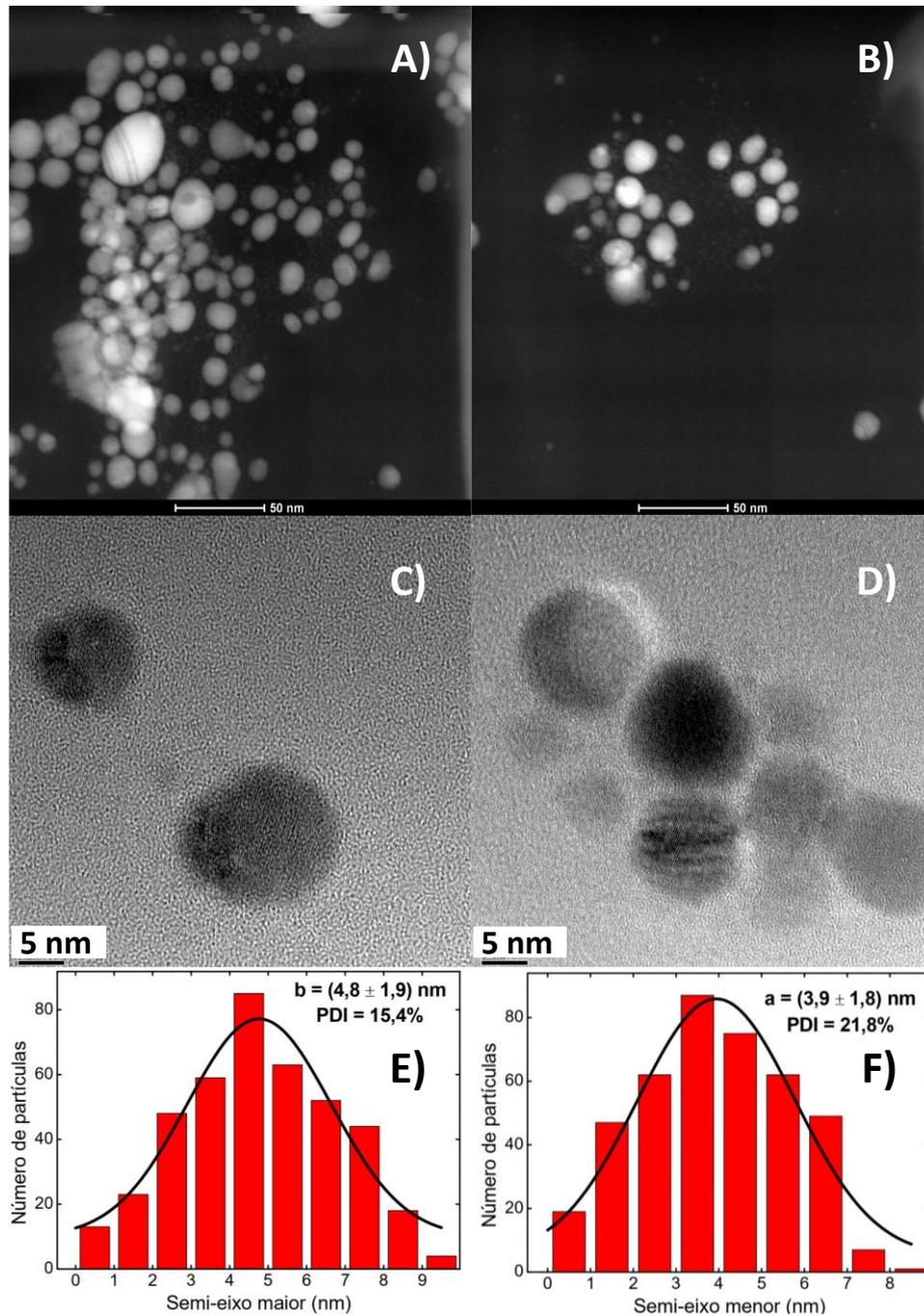


Fonte: Próprio autor

Como pode ser observado, as NPs apresentam um formato aproximadamente esférico. Na verdade, são esferoides com semi-eixo maior (b) e menor (a) e tamanhos inferiores a 10 nm de diâmetro.

Os resultados mostram uma distribuição de tamanho com a igual a $(1,5 \pm 0,7)$ nm e b igual a $(1,8 \pm 0,8)$ nm e um PDI de 25% e 18,2% para a e b, respectivamente, para as AgNPs na concentração de 0,5 mM; A distribuição é monomodal indicando que há uma predominância de partículas em torno de 2 nm.

Figura 24 A e B - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de AgNPs de concentração 1,5 mM; **C e D** - Imagens de MET em alta resolução; **E e F** - Gráficos de semi-eixo maior (b) e menor (a) com valores de tamanho médio, desvio padrão e índice de polidispersão (PDI).

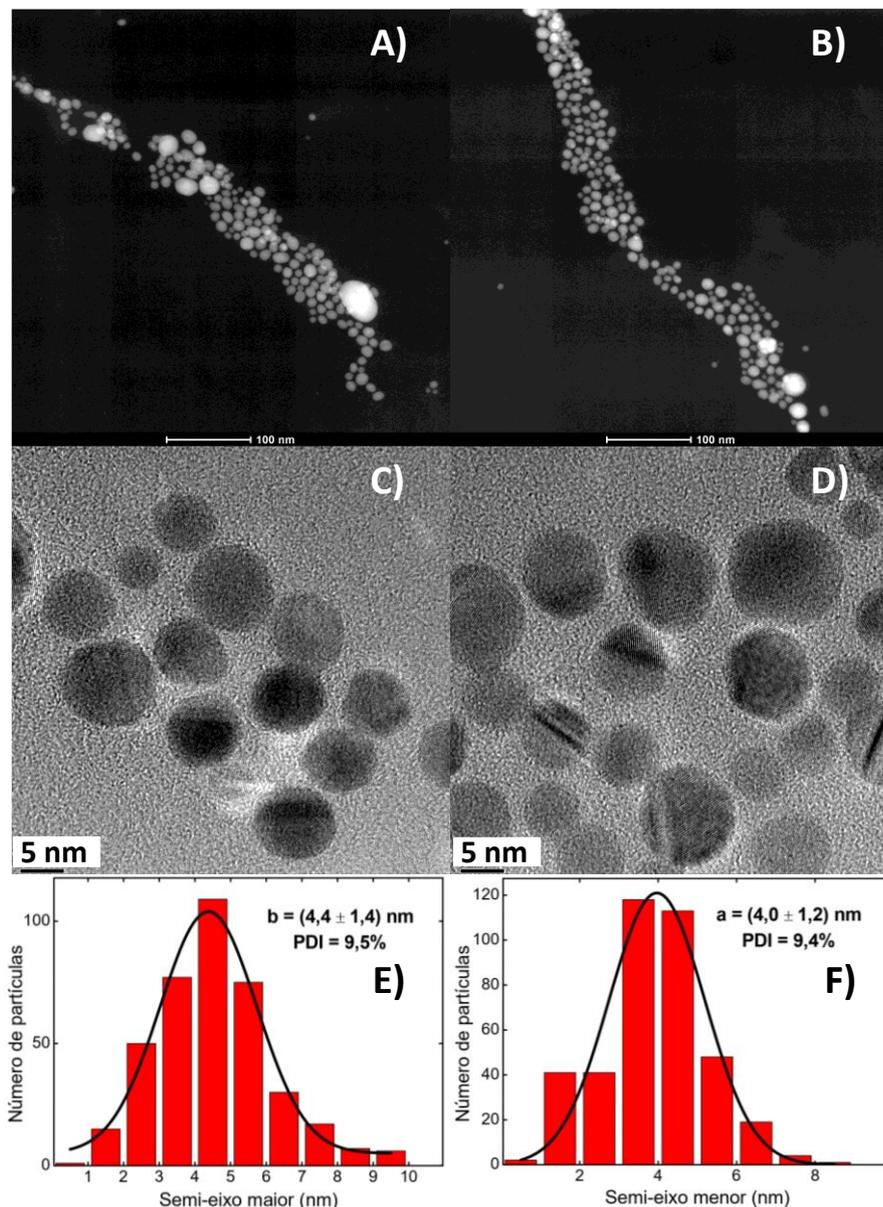


Fonte: Próprio autor

Os resultados mostram uma distribuição de tamanho com a igual a $(3,9 \pm 1,8) \text{ nm}$ e $b = (4,8 \pm 1,9) \text{ nm}$ e PDI de 21,8% (a) e 15,4% (b), para as AgNPs na concentração de 1,5 mM. A distribuição obtida também foi monomodal; entretanto, diferentemente do que ocorreu na concentração de 0,5 mM, a distribuição obtida é

menos estreita e com tamanho médio de partículas superior àquele encontrado para a concentração de 0,5 mM.

Figura 25 A e B - Imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de AgNPs de concentração 2,5 mM; **C e D** – Imagens de MET em alta resolução; **E e F** – Gráficos de semi-eixo maior (b) e menor (a) com valores de tamanho médio, desvio padrão e índice de polidispersão (PDI).



Fonte: Próprio autor

Para a concentração de 2,5 mM, os valores obtidos para a foram iguais a $(4,0 \pm 1,2) \text{ nm}$ e para b iguais a $(4,4 \pm 1,4) \text{ nm}$ e PDI de 9,4 e 9,5 %, para a e b, respectivamente. A distribuição manteve-se monomodal e mais estreita e também

com tamanho médio de partículas superior àquele encontrado para a concentração de 0,5 mM e próximo àquele encontrado para a concentração de 1,5 mM

A partir destes resultados foi calculado o grau de anisotropia ou taxa aspecto ($\beta=b/a$) para as AgNPs sintetizadas. Estes dados estão resumidos na Tabela 2 juntamente com os índices de polidispersão ($PDI(a) = \sigma^2/a^2$ e $PDI(b) = \sigma^2/b^2$, em que σ é o desvio padrão da medida) e o raio esférico equivalente é dado por $R_{eq} = (ab^2)^{1/3}$. Também foi calculada a largura a meia altura (FWHM) a partir dos espectros de extinção experimentais (ver Tabela 3). Este parâmetro é normalmente utilizado para inferir a dispersão de tamanhos: quanto mais baixo for o valor da FWHM, mais estreita é a dispersão de tamanhos. Como observado, existe uma correlação interessante entre a variável descritiva do procedimento de síntese (concentração de precursor e redutor) e as propriedades intrínsecas das AgNPs sintetizadas (tamanho, taxa aspecto, concentração de AgNPs e FWHM). De fato, o uso combinado de concentrações molares mais elevadas de $AgNO_3-NaBH_4$ tende a favorecer a formação de AgNPs coloidais maiores com valores mais baixos de dispersão de tamanho, concentração de partículas e anisotropia de forma.

Tabela 2 – Valores de semi-eixo menor (a), semi-eixo maior (b), R_{eq} (raio equivalente), β (grau de anisotropia) e PDI (Índice de polidispersão) para as amostras de AgNPs de 0,5 (I), 1,5 (II) e 2,5 (III) mM

Amostras	$a_{MET}(nm)$	$b_{MET}(nm)$	β	$R_{eq}^{MET}(nm)$	PDI (a)	PDI(b)
I	1.5	1.8	1.20	1.69 ± 0.7	18.2	25.0
III	3.9	4.8	1.23	4.48 ± 1.8	15.4	21.8
V	4.00	4.40	1.10	4.26 ± 1.2	9.5	9.4

Fonte: Próprio autor

Tabela 3 - Parâmetros obtidos a partir do nosso modelo computacional para as amostras de AgNPs sintetizadas (I-V): semi-eixos menor e maior (a_{MG} e b_{MG}), taxa aspecto (β), FWHM (largura a meia altura, calculada a partir dos espectros de extinção experimentais), raio esférico equivalente (R_{eq}^{GM}), concentração de partículas (C) e densidade (ρ)

Amostras	$a_{MG}(nm)$	$b_{MG}(nm)$	β	FWHM (eV)	R_{eq}^{GM} (nm)	C (nM)	$\rho(g.cm^{-3})$
I	1.35	1.7	1.25	0.71	1.58	22.8	9.6 ± 0.5
II	2.66	2.88	1.09	0.51	2.80	7.86	9.6 ± 0.5
III	3.77	4.06	1.08	0.48	3.96	4.15	9.9 ± 0.5
IV	4.35	4.5	1.05	0.45	4.45	3.60	9.9 ± 0.5
V	4.2	4.88	1.16	0.54	4.64	4.04	9.5 ± 0.5

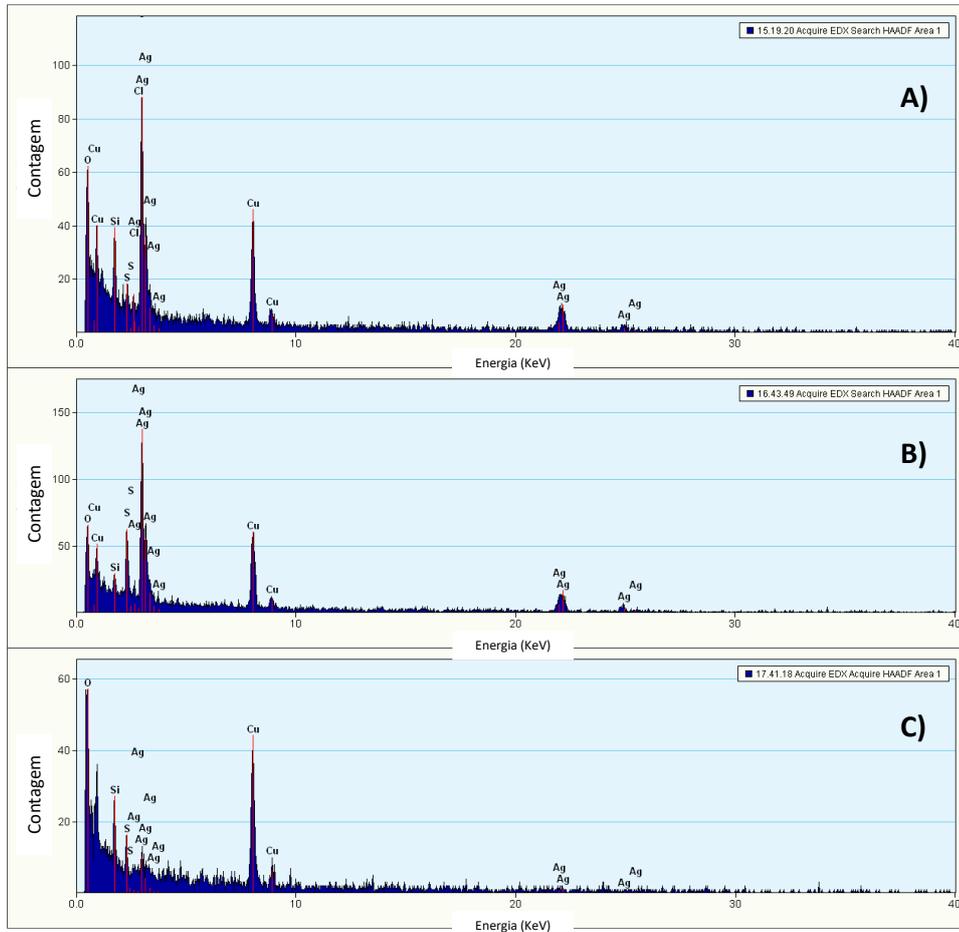
Fonte: Próprio autor

De fato, as AgNPs possuem um baixo grau de anisotropia ($\beta < 1,2$), indicando partículas bem esféricas e um baixo índice de polidispersão para a concentração de 2,5 mM do precursor e intermediário para as concentrações de 0,5 e 1,5 mM.

Também foram realizadas análises por EDS (Espectroscopia de energia dispersiva de raios X) das amostras de concentração 0,5 mM, 1,5 mM e 2,5 mM, nas quais foi possível observar a presença de prata (Ag) das soluções sintetizadas, cobre (Cu) presente na grade utilizada para fazer a análise e pequenas quantidades de silício (Si), enxofre (S) e oxigênio (O), o que pode ser observado na Figura 26. A presença destes últimos deve ter acontecido devido a alguma contaminação (poeira) ou mesmo a algum produto das reações que ocorreram no processo de síntese.

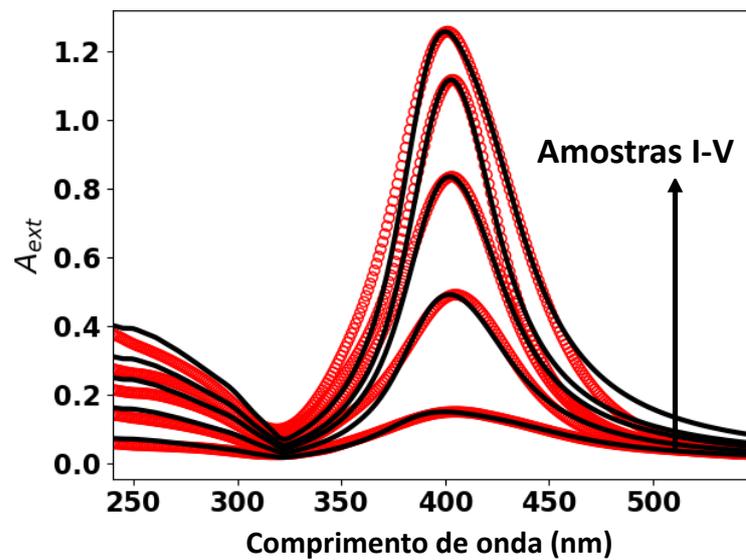
A partir dos dados mostrados nas Figuras 23, 24 e 25, foi possível ajustar as curvas de absorção para as AgNPs sintetizadas e estimar o tamanho para as demais nanopartículas e também a concentração. A Figura 27 mostra o ajuste teórico usando a teoria de Mie-Gans (curva sólida em preto) para cada amostra de AgNPs sintetizada. Como pode ser observado, um bom ajuste de curva é obtido. A partir desse ajuste foi possível obter o tamanho e a concentração das NPs.

Figura 26 – Análise EDS das amostras 2,5 mM (A), 1,5 mM (B) e 0,5 mM (C)



Fonte: Próprio autor

Figura 27 – Ajuste teórico das curvas de extinção para as diferentes concentrações de AgNPs sintetizadas. As curvas em vermelho são os dados experimentais e a curva sólida em preto é o modelo teórico baseado na teoria de Gans

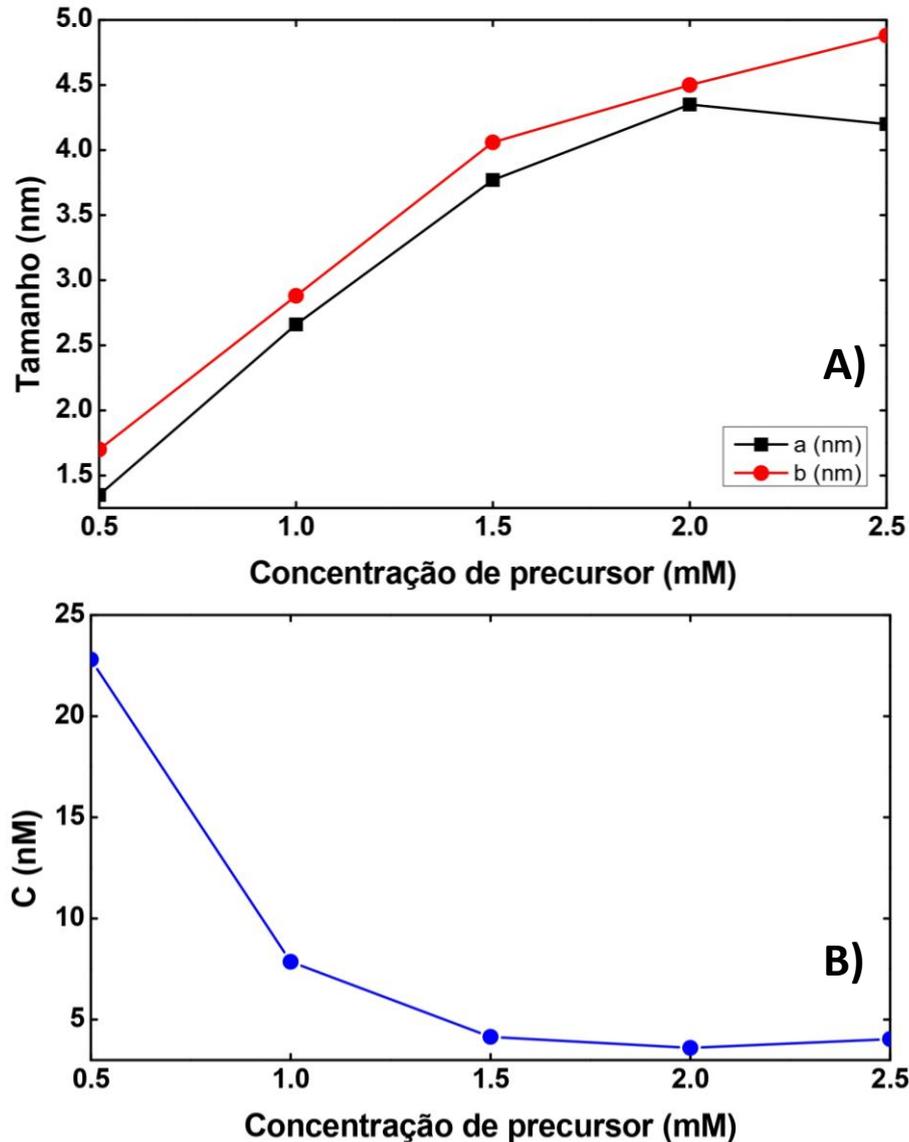


Fonte: Próprio autor

A Figura 28A mostra o tamanho das NPs de prata utilizando o modelo teórico em função da concentração de AgNO_3 . Como observado, há um aumento no tamanho das NPs de prata à medida em que as concentrações do precursor AgNO_3 e do agente redutor (NaBH_4) aumentam até 2,0 mM; logo em seguida há uma pequena diminuição do tamanho. De fato, há um deslocamento da banda de plásmon para a região do azul, indicando esta diminuição de tamanho. Este efeito deve estar associado com a diferença de pH da solução para as AgNPs com maiores concentrações de precursor (0,5 mM - pH de 7,61; 1,0 mM - pH de 8,07; 1,5 mM - pH de 8,83; 2,0 mM - pH de 8,4; 2,5 mM - pH de 9,07).

A partir do ajuste de curva dos espectros de absorção baseado no modelo de Mie-Gans, também é possível obter informação a respeito da concentração das AgNPs usando a equação de Lambert-Beer ($C = A/\epsilon L$), em que A é obtido do espectro de absorção experimental e ϵ pelo modelo de Gans-Mie. A Figura 28B mostra os resultados obtidos para a concentração de AgNPs em função da concentração de AgNO_3 . Observa-se que há uma tendência na diminuição da concentração de NPs de prata com o aumento das concentrações de precursor e redutor até 1,5 mM e um aumento da concentração de AgNPs para as concentrações de 2,0 e 2,5 mM.

Figura 28 – Tamanho (A) e Concentração (B) das AgNPs em função da concentração de AgNO_3

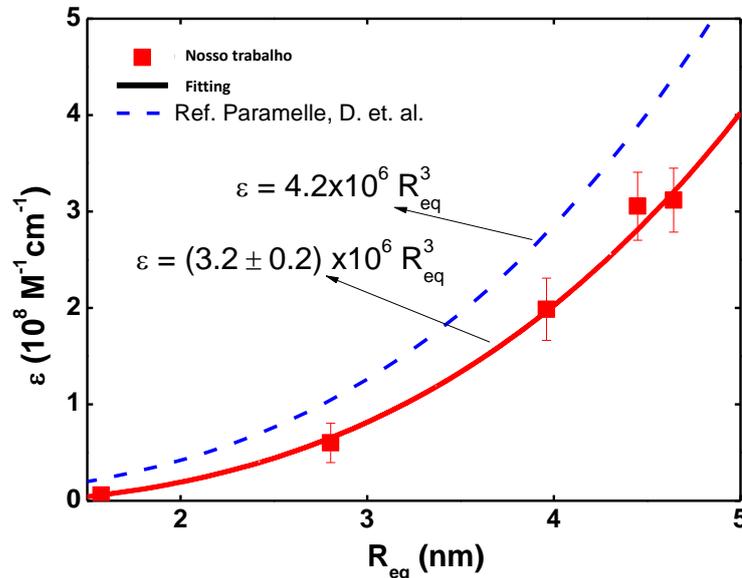


Fonte: Próprio autor

Com esses dados, é possível estimar a relação empírica entre a absorvidade molar e o tamanho das AgNPs dada por $\epsilon(\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}) = 3,5 \times 10^6 R_{\text{eq}}^3(\text{nm})$; ou seja, há uma relação linear entre a absorvidade molar e o volume das AgNPs. De acordo com Paramelle *et al.* (2014), a absorvidade molar para uma AgNP com um diâmetro de 10 nm (menor valor de tamanho do trabalho) é em torno de $5,6 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. O resultado observado na Figura 29 mostra um valor de $\epsilon = 4,4 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ para uma partícula com raio equivalente de 5 nm (diâmetro de 10 nm). É importante enfatizar que o trabalho de referência na área, Paramelle *et al.* (2014), não possui análise para AgNPs tão pequenas como as sintetizadas neste trabalho devido à dificuldade

experimental. Dessa forma, acredita-se que estes resultados possuem potencial para cobrir um “gap” da área.

Figura 29 – Absortividade molar em função do raio esférico equivalente das nanopartículas



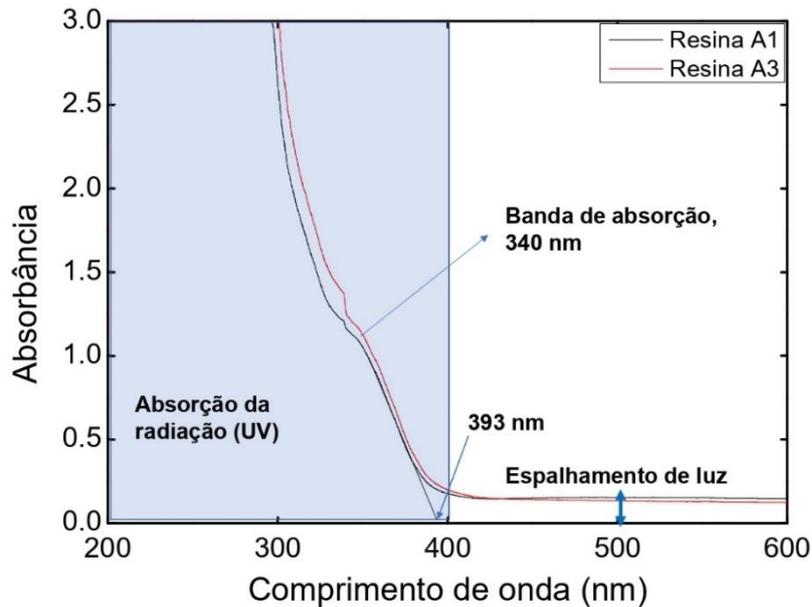
Fonte: Próprio autor

6. 2 PROPRIEDADES ÓPTICAS DAS RESINAS COMPOSTAS

6.2.1 Espectros de absorção UV-VIS

Na Figura 30 pode-se observar que as resinas compostas Charisma Classic (*Heraeus Kulzer*®, Alemanha) A1 e A3, apresentam as mesmas bandas de absorção, em torno de 340 nm. Essa banda de absorção é indicativa da substância dióxido de titânio, presente em sua composição, a qual apresenta um pico de absorção em torno de 350 nm, de acordo com o estudo de Atif *et al.* (2015). Outros dos principais materiais que compõem as resinas compostas, como os monômeros Bis-GMA, que possui um pico de absorção em torno de 195 nm, o UDMA, em cerca de 205 nm, e o TEGDMA, em torno de 202 nm, também estão presentes no espectro de absorção UV-Vis das resinas, como pode ser verificado no estudo de ŁAGOCKA *et al.* (2018).

Figura 30 – Sobreposição dos espectros de absorção UV-Vis das resinas A1 e A3



Fonte: Próprio autor

A substância BHT (2,6-diterc-butil-p-creso), um antioxidante, cujo pico gira em torno de 277 nm, também está incluída no espectro de absorção observado, podendo ser certificado no estudo de Özgür, Kalaycıoğlu e Dülger (2017). Todos esses compostos são responsáveis pela grande absorção (3.0) das resinas compostas abaixo de 300 nm. Também é observado um espalhamento de luz entre 400-600 nm devido à presença de partículas de dimensões micrométricas presentes nas resinas.

Além disso, pode-se perceber que a resina A3 possui uma absorção deslocada para a região do vermelho (maiores comprimentos de onda) em comparação à resina A1. Isso é responsável pela coloração da resina A3 ser diferente da resina A1. Baseado na composição da resina, a diferença deve ser basicamente a concentração dos materiais usados na resina A3 ser maior que na resina A1, o que confere maior absorção à mesma.

Além disso, a partir desse gráfico foi possível determinar o *band gap* das resinas compostas, que foi em torno de 3,15 eV, o que está de acordo com o artigo de Rasul, Saber e Aziz (2022); para isso foi utilizado o método de Tauc Plot, que é um método para a determinação do *band gap* em semicondutores, dado pela seguinte equação:

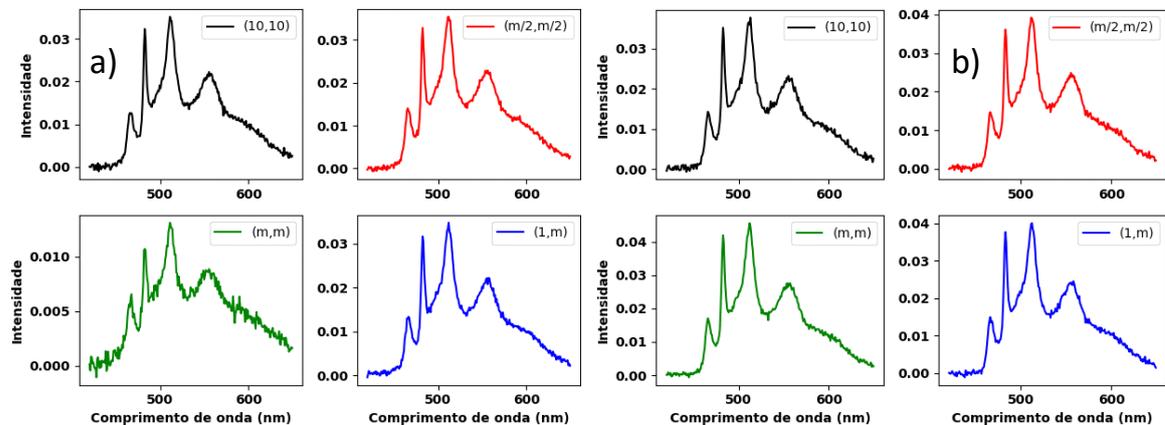
$$E(eV) = \frac{1240}{\lambda^*(nm)}, \quad (3)$$

em que λ^* é o comprimento de onda do *onset* da banda de absorção, como mostrado na Figura 31.

6.2.2 Espectros de fluorescência

Pode-se observar na Figura 31 os espectros de fluorescência que foram capturados com o sistema óptico da Figura 19. Cada espectro nas letras (a) e (b) corresponde a uma determinada região do filme das resinas compostas. Como pode ser observado na Figura 31, as resinas apresentam uma fluorescência com várias bandas de emissão devido aos vários compostos fluorescentes presentes nessas resinas, como o dióxido de titânio.

Figura 31 – Espectros de fluorescência das resinas A1 (a) e A3 (b) em diferentes regiões do material



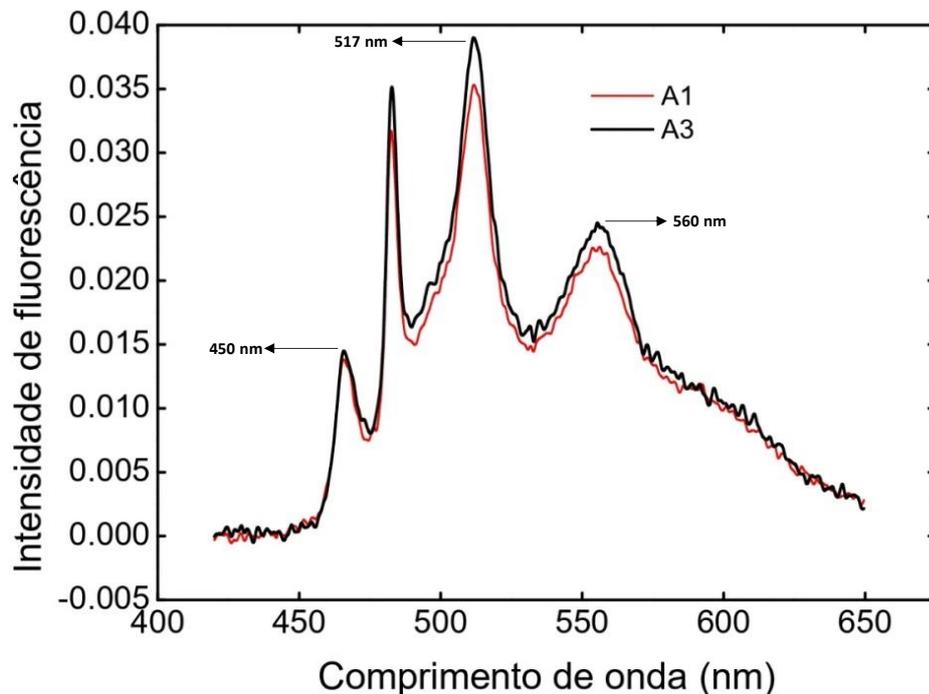
Fonte: Próprio autor

Os espectros são iguais independentes da região de excitação na amostra, indicando uma boa uniformidade dos filmes.

Para uma melhor análise dos espectros de emissão das resinas, na Figura 32 mostra-se a sobreposição dos espectros de fluorescência das resinas A1 e A3. Os resultados mostram que as emissões fluorescentes das resinas são iguais. Portanto, as resinas são produzidas basicamente pelos mesmos materiais e sua coloração deve ser devido apenas à concentração dos materiais utilizados. Pode-se notar, mesmo que de forma sutil, uma maior intensidade de fluorescência na resina A3; o

que pode ser justificado pela sua coloração mais escura (maior absorção) em relação à resina A1. Os principais materiais que contribuem para a fluorescência das resinas são os monômeros, fotoiniciadores e TiO_2 . Os principais monômeros em todas as resinas compostas, Bis-GMA e TEGDMA, têm um fraco pico de emissão próximo a 560 nm. O principal fotoiniciador, a canforoquinona (CQ), tem um pico de emissão próximo de 517 nm. O TiO_2 emite luz com um pico de emissão fraco próximo dos 450 nm, estando em concordância com o estudo de JEONG *et al.*, (2018).

Figura 32 – Sobreposição dos espectros de fluorescência das resinas A1 e A3

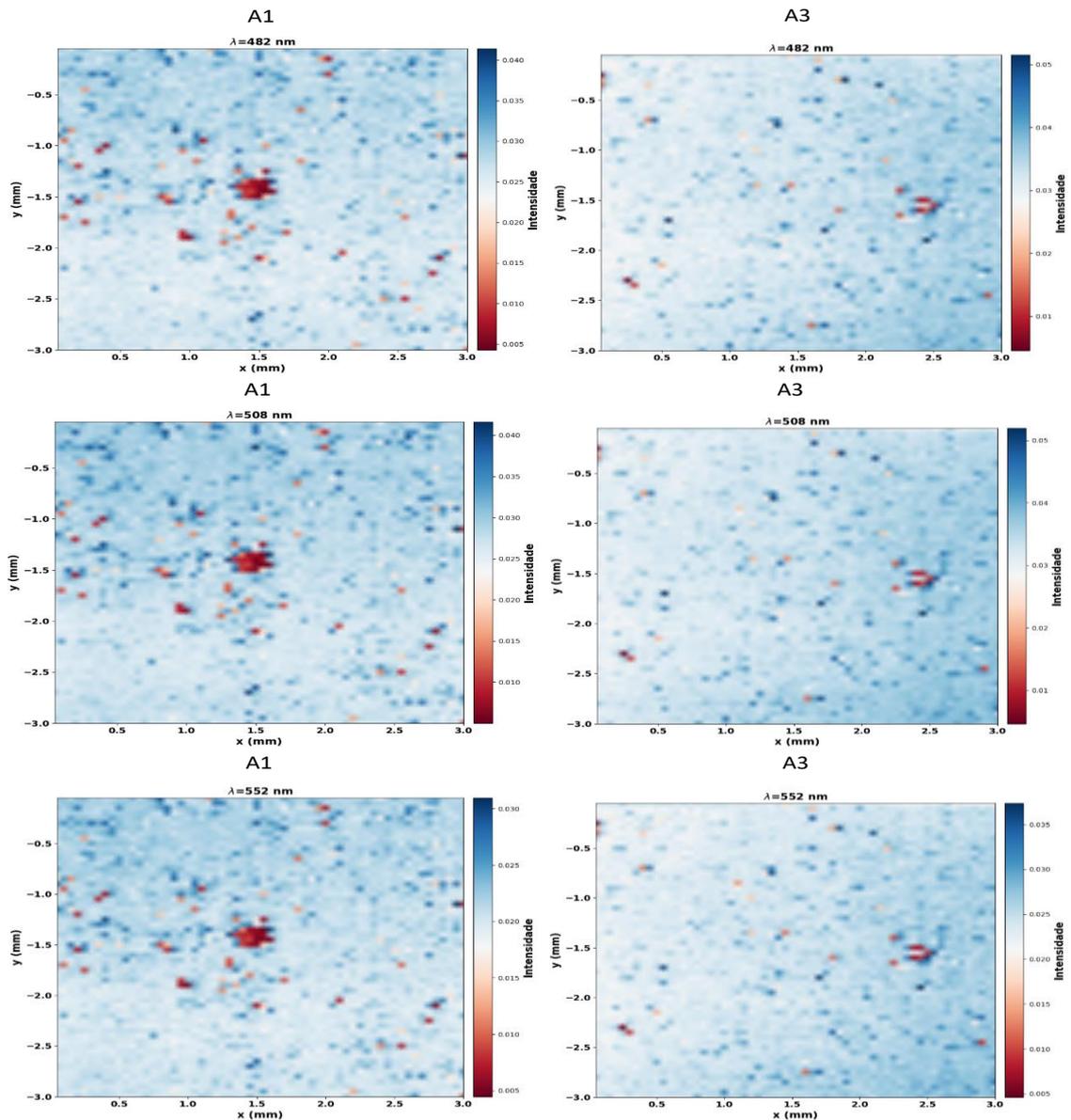


Fonte: Próprio autor

Um dos objetivos deste trabalho consistiu em usar a técnica de microscopia fluorescente para avaliar o efeito das AgNPs nas propriedades ópticas das resinas compostas. Neste sentido, foram realizados alguns testes iniciais para fazer um mapeamento da fluorescência dos filmes de resinas compostas A1 e A3. Na Figura 33 são mostrados mapas fluorescentes das resinas compostas A1 e A3, mapeados em uma área de 3 x 3 mm. Para cada imagem, uma média de 5 espectros foi realizada em cada ponto da resina e o passo de varredura foi de 50 μm . Observa-se nos espectros de comparação entre as resinas (Figura 33), a intensidade de fluorescência em determinados pontos; onde as regiões das cores branca, azul clara

e azul escura apresentaram uma maior intensidade de fluorescência e as regiões de coloração alaranjada ou vermelha (ausência de material) apresentaram menor intensidade de fluorescência.

Figura 33 – Imagens de microscopia fluorescente nas regiões de absorção de 482, 508 e 552 nm



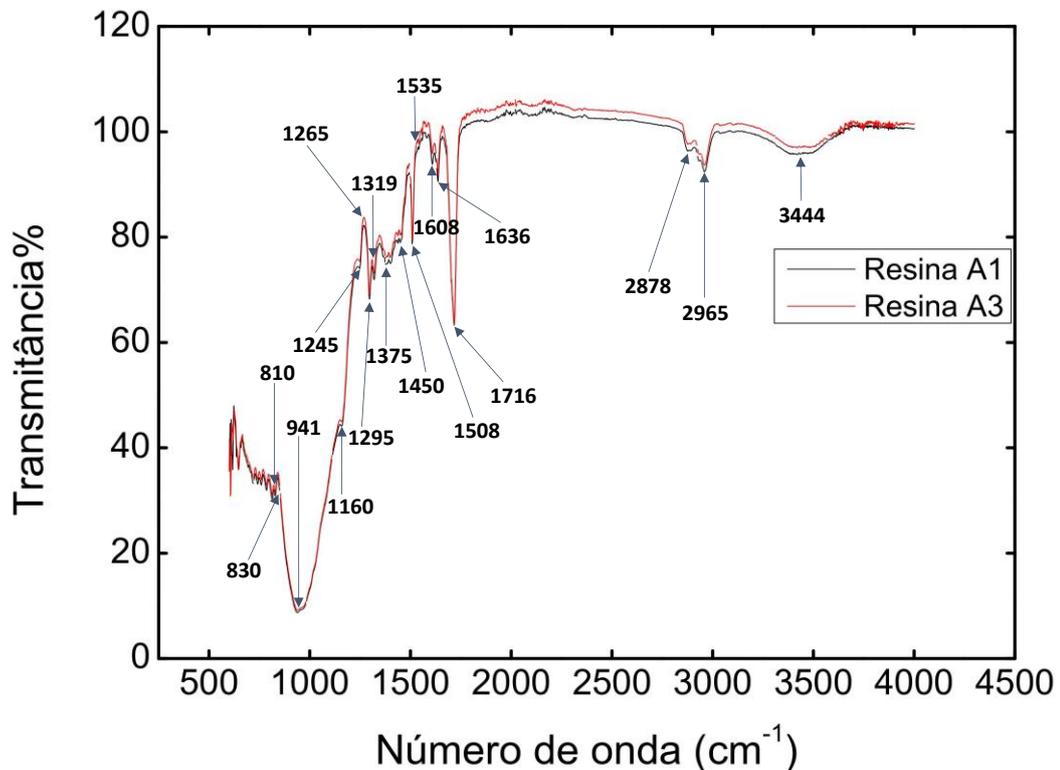
Fonte: Próprio autor

6.2.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 34 mostra os espectros de FTIR para as resinas compostas A1 e A3. Assim como para as outras técnicas de caracterização óptica, os espectros de FTIR são praticamente idênticos. Os picos mostrados nos espectros de FTIR podem ser

atribuídos ao composto aromático bisfenol A-glicidil metacrilato (Bis-GMA) e alifático trietileno glicol dimetacrilato (TEGDMA), que mostraram picos intensos a 3444 cm^{-1} devido ao alongamento O-H; em $2965\text{-}2878\text{ cm}^{-1}$ devido ao alongamento C-H de CH_2 ; em 1608 e $830\text{-}810\text{ cm}^{-1}$ devido ao alongamento C=C; em 1508 cm^{-1} devido ao alongamento C-C; em $1245\text{-}1160\text{ cm}^{-1}$ devido ao alongamento C-O-C, e em 1450 cm^{-1} devido ao alongamento C=O. Além disso, os espectros IV do Bis-GMA apresentaram picos em $1600\text{-}1625\text{ cm}^{-1}$ devido ao alongamento do anel de benzeno, estando em concordância com o estudo de El-Safty e Kenawy (2019).

Figura 34 – Sobreposição dos espectros de FTIR das resinas A1 e A3



Fonte: Próprio autor

No caso do uretano dimetacrilato (UDMA), o FTIR mostra bandas de absorção específicas atribuídas ao NH uretano ($3500\text{-}3320\text{ cm}^{-1}$); vibrações do grupo CH_2 ($2870\text{-}2965\text{ cm}^{-1}$) e unidade carbonila (CO) do uretano, bem como ésteres (1716 cm^{-1}). Faixas de absorção de carbono-carbono de dupla ligação na função metacrilato podem ser detectadas a 1608 e 810 cm^{-1} ; vibração C-C a $1535\text{-}1508\text{ cm}^{-1}$; unidade C-O-C a $1160\text{-}1245\text{ cm}^{-1}$; alongamento C-H em CH_3 a 1375 cm^{-1} ,

e alongamento C=O a 1450 cm^{-1} , o que pode ser validado no estudo de El-Safty e Kenawy (2019).

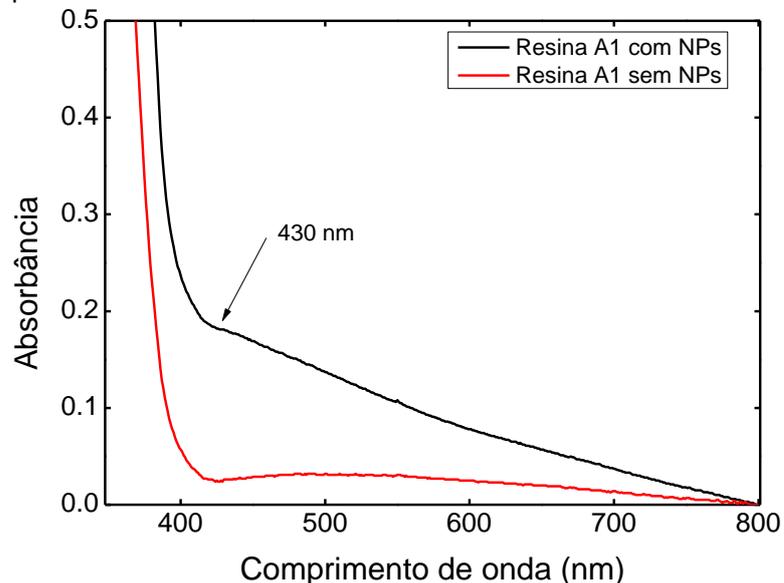
Outras substâncias como o dióxido de titânio, a canforoquinona e o BHT não possuem picos característicos de FTIR, pois não absorvem esse tipo de radiação.

6.3 INCORPORAÇÃO DAS AgNPs ÀS RESINAS COMPOSTAS

6.3.1 Espectros de absorção UV-VIS

Com o intuito de caracterizar a incorporação das AgNPs na resina composta, foram realizadas inicialmente medidas de espectroscopia UV-Vis nos filmes descritos na seção 5.6. A Figura 35 mostra uma comparação entre os espectros de absorção da resina e da resina contendo NPs de prata com a concentração de 2,5 mM.

Figura 35 – Gráfico de sobreposição dos espectros de absorção UV-Vis da resina A1 isoladamente e de nanopartículas de prata (AgNPs) incorporadas à resina composta A1, onde é possível observar a banda de plásmon das AgNPs em aproximadamente 430 nm



Fonte: Próprio autor

Nestes espectros foram removidos os efeitos de espalhamento da luz a fim de se obter uma melhor comparação entre os resultados. Como pode ser observado, entre 400-500 nm surge uma banda para a resina contendo AgNPs, a qual está relacionada à banda de plásmon das AgNPs. Contudo, essa banda está deslocada para maiores comprimentos de onda (amplitude máxima em torno de 430 nm) em

relação à banda de plásmon em solução (400 nm). Este efeito pode ocorrer por dois motivos, sendo eles: (i) a banda de plásmon depende do meio hospedeiro. Como em solução temos água e no filme ela está na resina, que possui um maior índice de refração, é esperado um deslocamento para o vermelho, como observado; (ii) durante o método de incorporação das AgNPs à resina pode ter havido um aumento no diâmetro das nanopartículas devido ao processo de agregação induzido pelo aumento da temperatura.

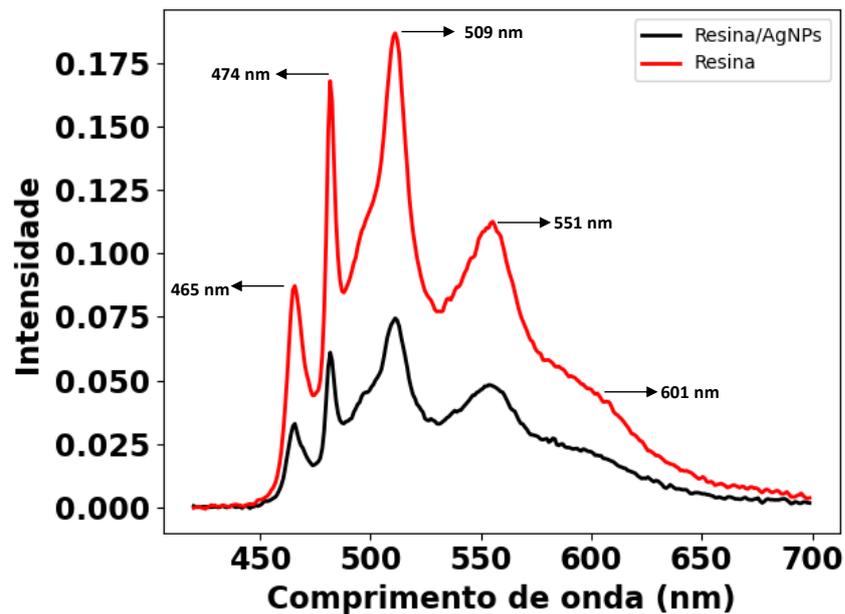
6.3.2 Espectros de fluorescência

A figura 36 mostra a sobreposição dos espectros de intensidade de fluorescência em função do comprimento de onda da resina composta Charisma Classic A1 (*Heraeus Kulzer®*, Alemanha) e resina composta dopada com nanopartículas de prata. Como pode ser observado, há uma grande redução na amplitude da fluorescência quando as AgNPs são adicionadas à matriz da resina. Contudo, não há alteração nos picos de emissão fluorescente. A redução da fluorescência pode ser explicada devido à transferência de energia da resina para as NPs de prata que não fluorescem. Esse fenômeno é bem estabelecido na literatura e em geral se dá através do mecanismo de transferência de energia do tipo Foster (WU; CHEN; CHANG, 2018; ELHALEEM *et al.*, 2023). Neste caso, a eficiência de transferência de energia (ϕ) pode ser aproximadamente descrita por:

$$\phi = 1 - \frac{F_{\text{int}}^{\text{RC/NPs}}}{F_{\text{int}}^{\text{RC}}} = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r}, \quad (4)$$

em que $F_{\text{int}}^{\text{RC}}$ e $F_{\text{int}}^{\text{RC/NPs}}$ são o espectro de fluorescência integrado para a resina composta e para a resina composta contendo AgNPs, respectivamente. R_0 é a distância de transferência de energia crítica que depende da sobreposição entre os espectros de absorção da resina contendo AgNPs e de fluorescência da resina e da distância entre os cromóforos fluorescentes presentes na resina e as nanopartículas de prata (r).

Figura 36 – Sobreposição dos gráficos de intensidade de fluorescência em função do comprimento de onda (nm) da resina isolada e resina dopada com AgNPs, com os picos dos mapas fluorescentes indicados com uma seta na cor preta

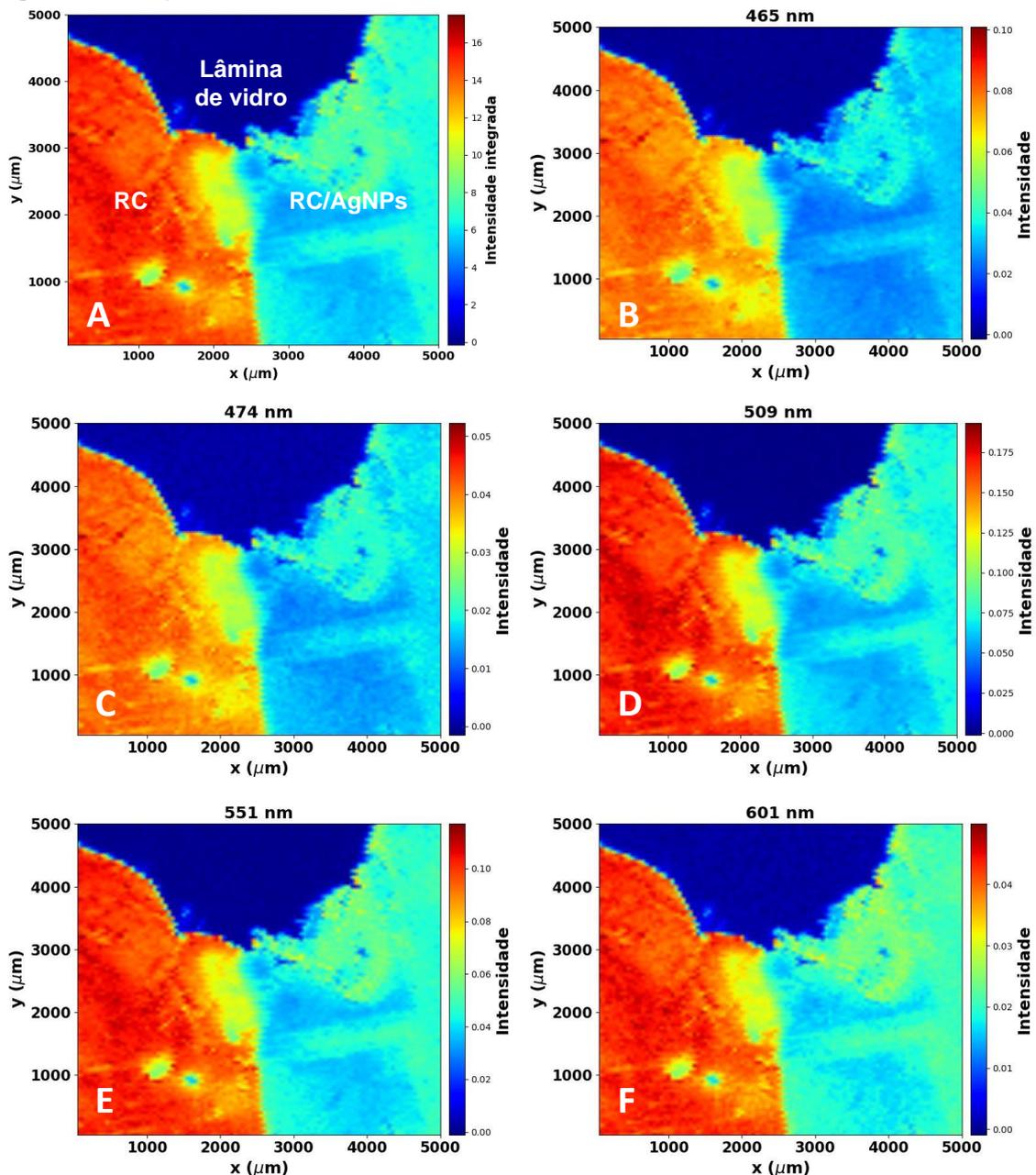


Fonte: Próprio autor

A fim de realizar uma melhor comparação entre as propriedades luminescentes da resina contendo AgNPs, foram realizadas medidas de microscopia fluorescente hiperespectral. As amostras são aquelas apresentadas na seção 5.6. A área mapeada foi de 5x5 mm, com passos de 50 μm . Para cada passo, foi coletado todo o espectro de emissão, de forma a observar o efeito das AgNPs de prata sobre a emissão de comprimento de onda por comprimento de onda da emissão luminescente, o qual caracteriza a técnica hiperespectral. Os mapas podem ser observados na Figura 37.

Na figura 37A, observa-se o sinal integrado de fluorescência, que é a área abaixo da curva de fluorescência, isto é, a contribuição de todos os comprimentos de onda da emissão. As figuras 37B a 37F são os mapas fluorescentes obtidos a partir de comprimentos de onda relacionados aos cinco picos de emissão da resina. Como pode ser observado na Figura 37A, através desta técnica é facilmente observada a região contendo AgNPs no filme, mostrando a capacidade da técnica, que pode ser utilizada para inferir regiões onde as NPs estão presentes.

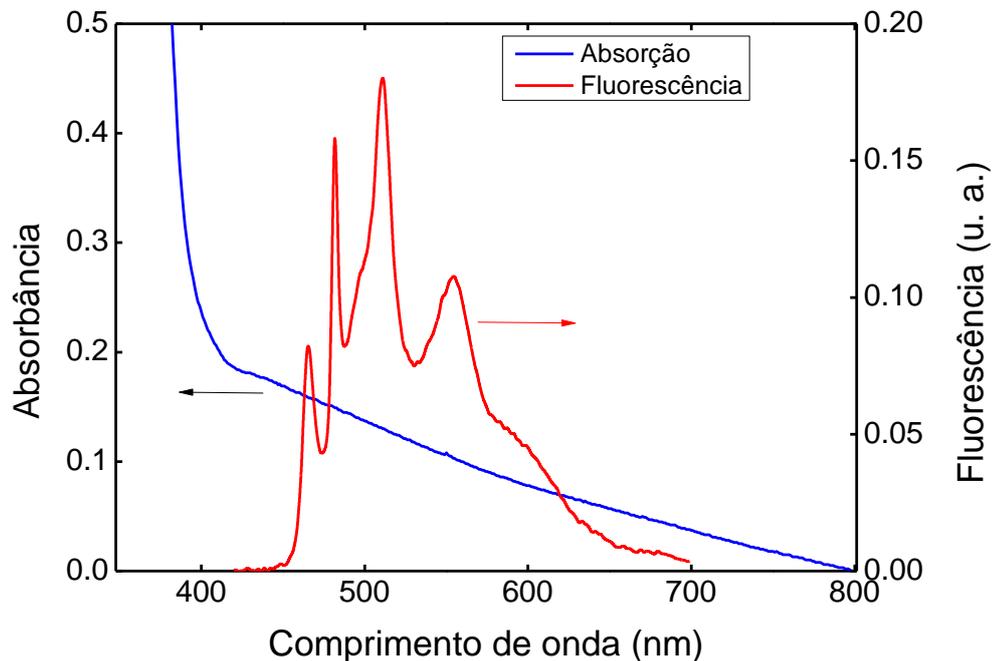
Figura 37 – Mapas fluorescentes mostrando os picos de fluorescência apresentados pelo material



Fonte: Próprio autor

Outro aspecto interessante ocorre quando se discrimina o comprimento de onda. Observa-se que para comprimentos de onda mais para o azul (465 nm e 474 nm), a região contendo AgNPs possui uma intensidade de fluorescência menor comparada à região sem NPs que os mapas de comprimentos de ondas maiores (509 nm, 551 nm e 601 nm). Isso se deve ao fato de que a sobreposição espectral entre a absorção e a emissão é mais forte para menores comprimentos de onda, o que enfatiza o efeito de transferência de energia, como observado na Figura 38.

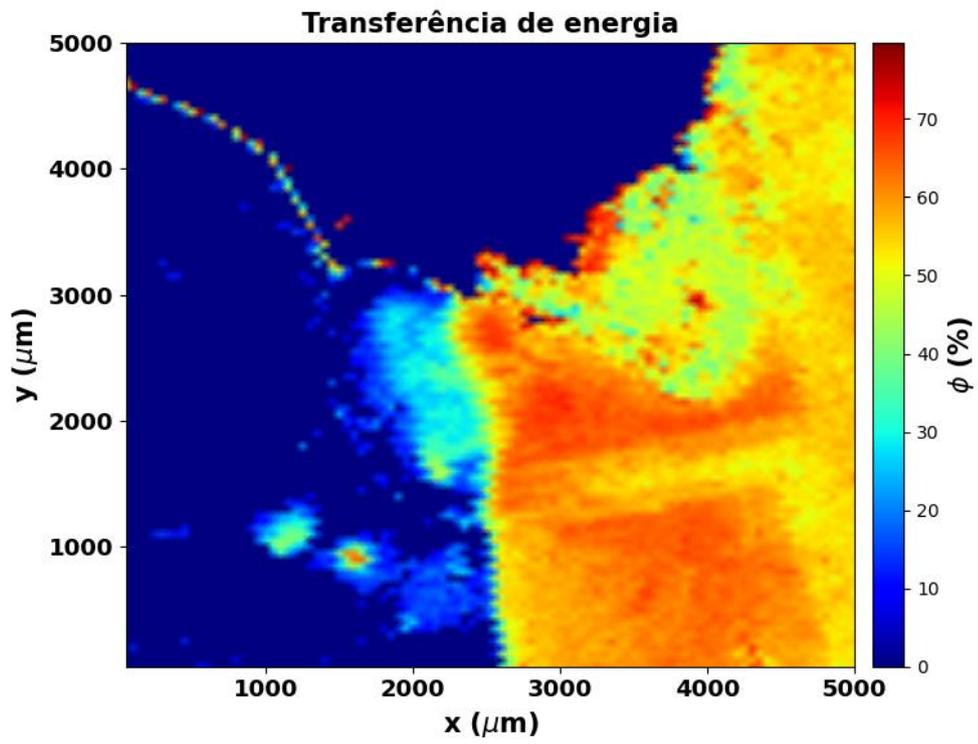
Figura 38 – Figura ilustrativa da sobreposição espectral do espectro de absorção da resina contendo AgNPs e a emissão da resina composta



Fonte: Próprio autor

Finalmente, pode-se usar a equação (4) para estimar a transferência de energia em porcentagem para a região dos mapas que contenham RC/AgNPs. A Figura 39 mostra o mapa de cor da eficiência de transferência de energia (ϕ) para cada posição da amostra. Na região do vidro e da resina não há AgNPs e, portanto, não há transferência de energia. Pode-se destacar que a eficiência de transferência de energia da fotoluminescência da resina para as NPs é elevada (acima de 50%) em todas as regiões; com algumas regiões em torno de 70%. É difícil saber se essa diferença na eficiência de transferência de energia é devido a algum fenômeno físico-químico ou apenas uma pequena modificação devido às irregularidades dos filmes.

Figura 39 – Mapa de cor enfatizando a eficiência de transferência de energia da resina composta para as AgNPs em porcentagem



Fonte: Próprio autor

7 CONCLUSÕES

Essa dissertação possui duas importantes contribuições na área de síntese e caracterização de nanomateriais. A primeira versa sobre a síntese de nanopartículas de prata com tamanhos inferiores a 10 nm de diâmetro, baixo a moderado índice de polidispersão, baixa anisotropia e concentrações da ordem de nanomolar. Estes resultados foram obtidos combinando técnicas de espectroscopia UV-vis, MET e um modelo computacional baseado na Teoria de Mie-Gans. Além disso, permitiu estabelecer uma relação analítica para a absorvidade molar e o tamanho das AgNPs para uma região de tamanho pouco explorada na literatura ($\epsilon(M^{-1}cm^{-1}) = 3,5 \times 10^6 R_{eq}^3 (nm)$). A segunda contribuição foi na análise das propriedades luminescentes de resinas compostas contendo AgNPs. Os resultados mostram que a incorporação das AgNPs modifica drasticamente a luminescência desses materiais devido à transferência de energia do tipo Foster. Por meio de medidas de microespectroscopia fluorescente foi calculado a eficiência de transferência de energia superior a 60 % da resina composta para as AgNPs ($R_{eq} = 4.3 \text{ nm}$). Além disso, observou-se que o tamanho das AgNPs aumenta quando ela é incorporada à matriz da resina devido, provavelmente, ao processo de agregação e da mudança de meio.

Finalmente, o presente trabalho mostrou que as técnicas de espectroscopia UV-vis e microscopia fluorescente são poderosas ferramentas para avaliar as propriedades ópticas de AgNPs e resinas compostas dopadas com AgNPs, devido à sua alta sensibilidade e resposta espectral.

O presente estudo foi submetido à revista *Analyst*, Qualis CAPES A1, com o título: “*Physicochemical Properties of Ultrasmall Colloidal Silver Nanoparticles: An Experimental and Computational Approach*”, em formato de *paper*, no dia 01 de agosto de 2023; sendo aceita no dia 02 de setembro de 2023, e sua primeira versão publicada no dia 04 de setembro de 2023. A versão completa do artigo pode ser visualizada em <https://doi.org/10.1039/D3AN01319G>.

REFERÊNCIAS

- ALSAMMARRAIE, F. K. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.l.], v. 171, p. 398-405, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.059>.
- ATIF, M. *et al.* Photovoltaic and Impedance Spectroscopy Study of Screen-Printed TiO₂ Based CdS Quantum Dot Sensitized Solar Cells. **Materials**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 355-367, 19 jan. 2015. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ma8010355>.
- ATWATER, H. A.; POLMAN, A. Plasmonics for improved photovoltaic devices. **Nature Materials**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 205-213, 19 fev. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nmat2629>.
- BAKER, M. J. *et al.* Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. **Nature Protocols**, [S.l.], v. 9, n. 8, p. 1771-1791, 3 jul. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2014.110>.
- BERNARDO, W. L. de C. *et al.* Antimicrobial effects of silver nanoparticles and extracts of Syzygium cumini flowers and seeds: periodontal, cariogenic and opportunistic pathogens. **Archives of Oral Biology**, Oxford, v. 125, p. 1-12, maio 2021. Mensal. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105101>.
- BUHR, E. *et al.* Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy in transmission mode. **Measurement Science and Technology**, [S.l.], v. 20, n. 8, p. 084025, 30 jun. 2009. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/0957-0233/20/8/084025>.
- CHEN, H. *et al.* Construction of unconventional fluorescent poly(amino ester) polyols as sensing platform for label-free detection of Fe³⁺ ions and l-cysteine. **Journal of Materials Science**, [S.l.], v. 53, n. 22, p. 15717-15725, 23 jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10853-018-2716-3>.
- CHENG, L. *et al.* One-year water-ageing of calcium phosphate composite containing nano-silver and quaternary ammonium to inhibit biofilms. **International Journal of Oral Science**, Bangalore, v. 8, n. 3, p. 172-181, 3 jun. 2016. Trimestral. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/ijos.2016.13>.
- CHIRAYIL, C. J. *et al.* Instrumental Techniques for the Characterization of Nanoparticles. **Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization**, [S.l.], p. 1-36, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-46139-9.00001-3>.
- DESAI, R. *et al.* Size Distribution of Silver Nanoparticles: uv-visible spectroscopic assessment. **Nanoscience and Nanotechnology Letters**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 30-34, 1 jan. 2012. American Scientific Publishers. <http://dx.doi.org/10.1166/nnl.2012.1278>.

DOU, X. *et al.* Surface plasmon resonance-enabled antibacterial digital versatile discs. **Applied Physics Letters**, [S.I.], v. 100, n. 6, p. 063702, 6 fev. 2012. AIP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3685460>.

DUTTA, S. J. *et al.* Development of a predictive model for determination of urea in milk using silver nanoparticles and UV–Vis spectroscopy. **Lwt**, [S.I.], v. 168, p. 113893, out. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113893>.

EDINBURGH INSTRUMENTS (United Kingdom) (org.). **What is a Jablonski Diagram (Perrin-Jablonski Diagram)?** Disponível em: <https://www.edinst.com/de/blog/jablonski-diagram/>. Acesso em: 10 abr. 2023.

ELHALEEM, S. M. A. *et al.* Investigating the Effect of Silver Nanoparticles on the Fluorescence Intensity of Bambuterol and its Active Metabolite Terbutaline Using FRET. **Journal of Fluorescence**, Amsterdam, p. 1-9, 24 fev. 2023. Trimestral. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10895-023-03182-7>.

EL-NOUR, K. M. M. A. *et al.* Synthesis and applications of silver nanoparticles. **Arabian Journal of Chemistry**, [S.I.], v. 3, n. 3, p. 135-140, jul. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.04.008>.

EL-SAFETY, S.; KENAWY, E. Effect of Synthesized Bis-GMA and UDMA Nanofibers on Cuspal Flexure, Microhardness, Wear, Surface Roughness and Color Stability of Experimental Resin-Composites. **Egyptian Dental Journal**, [S.I.], v. 65, n. 4, p. 3883-3898, 1 out. 2019. Egypts Presidential Specialized Council for Education and Scientific Research. <http://dx.doi.org/10.21608/edj.2019.76036>

ESPINOSA-CRISTÓBAL, L. F. *et al.* Adherence inhibition of Streptococcus mutans on dental enamel surface using silver nanoparticles. **Materials Science and Engineering: C**, [S.I.], v. 33, n. 4, p. 2197-2202, maio 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.039>.

FAHMY, H. M. *et al.* Coated silver nanoparticles: synthesis, cytotoxicity, and optical properties. **Rsc Advances**, Cambridge, v. 9, n. 35, p. 20118-20136, 27 jun. 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c9ra02907a>.

FARID, S. *et al.* Exploring ATR Fourier transform IR spectroscopy with chemometric analysis and laser scanning microscopy in the investigation of forensic documents fraud. **Optics & Laser Technology**, [S.I.], v. 135, p. 106704, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.optlastec.2020.106704>.

FAVARO, J. C. *et al.* Anticaries Agent Based on Silver Nanoparticles and Fluoride: characterization and biological and remineralizing effects – an in vitro study. **International Journal of Dentistry**, Cairo, v. 2022, p. 1-11, 19 abr. 2022. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2022/9483589>.

FERNANDO, I.; ZHOU, Y. Impact of pH on the stability, dissolution and aggregation kinetics of silver nanoparticles. **Chemosphere**, [S.I.], v. 216, p. 297-305, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.122>.

FILIPPO, E. *et al.* Poly(vinyl alcohol) capped silver nanoparticles as localized surface plasmon resonance-based hydrogen peroxide sensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, [S.I.], v. 138, n. 2, p. 625-630, maio 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2009.02.056>.

FIRDHOUSE, M. J.; LALITHA, P. Biogenic silver nanoparticles – Synthesis, characterization and its potential against cancer inducing bacteria. **Journal of Molecular Liquids**, [S.I.], v. 222, p. 1041-1050, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2016.07.141>.

GONTIJO, L. A. P. *et al.* PH effect on the synthesis of different size silver nanoparticles evaluated by DLS and their size-dependent antimicrobial activity. **Matéria (Rio de Janeiro)**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 4, p. 1-10, 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-707620200004.1145>.

HELMLINGER, J. *et al.* Silver nanoparticles with different size and shape: equal cytotoxicity, but different antibacterial effects. **Rsc Advances**, [S.I.], v. 6, n. 22, p. 18490-18501, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c5ra27836h>.

HOSSAIN, M. K. *et al.* Fabrication and characterizations of arbitrary-shaped silver nanoparticles for surface-enhanced fluorescence microscopy. **Journal of Nanoparticle Research**, [S.I.], v. 23, n. 4, p. 1-14, abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11051-021-05201-9>.

HUSSAIN, M. H. *et al.* Synthesis of Various Size Gold Nanoparticles by Chemical Reduction Method with Different Solvent Polarity. **Nanoscale Research Letters**, [S.I.], v. 15, n. 1, p. 1-10, 2 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s11671-020-03370-5>.

JANA, J. *et al.* Enlightening surface plasmon resonance effect of metal nanoparticles for practical spectroscopic application. **Rsc Advances**, [S.I.], v. 6, n. 89, p. 86174-86211, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c6ra14173k>.

JEONG, T. *et al.* Difference assessment of composite resins and sound tooth applicable in the resin-embedded tooth for resin repair using fluorescence, microhardness, DIAGNOdent, and X-ray image. **Clinical Oral Investigations**, [S.I.], v. 23, n. 1, p. 293-301, 18 abr. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00784-018-2436-8>.

KEMALA, P. *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Calotropis gigantea* and its characterization using UV-Vis Spectroscopy. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, [S.I.], v. 951, n. 1, p. 012090, 1 jan. 2022. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/951/1/012090>.

KHAN, S. A. *et al.* Fourier Transform Infrared Spectroscopy: fundamentals and application in functional groups and nanomaterials characterization. **Handbook of**

Materials Characterization, [S.I.], p. 317-344, 2018. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-92955-2_9.

ŁAGOCKA, R. *et al.* Analysis of base monomer elution from 3 flowable bulk-fill composite resins using high performance liquid chromatography (HPLC). **Medical Science Monitor**, [S.I.], v. 24, p. 4679-4690, 7 jul. 2018. International Scientific Information, Inc. <http://dx.doi.org/10.12659/msm.907390>.

LAKSHMI, D., *et al.* Application of infra-red spectroscopy in corrosion inhibition studies. **International Journal of Nano Corrosion Science and Engineering**, 2016, 3: 181-203.

LEE, S.; JUN, B. Silver Nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 20, n. 4, p. 865, 17 fev. 2019. Quinzenal. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20040865>.

LOISEAU, A. *et al.* Silver-Based Plasmonic Nanoparticles for and Their Use in Biosensing. **Biosensors**, [S.I.], v. 9, n. 2, p. 1-40, 10 jun. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/bios9020078>.

MAVANI, K.; SHAH, M. Synthesis of Silver Nanoparticles by using Sodium Borohydride as a reducing agent. **International Journal of Engineering Research & Technology (Ijert)**, [S.I.], v. 2, n. 3, p. 1-5, 2013.

MEENA, M. *et al.* Endophytic Nanotechnology: an approach to study scope and potential applications. **Frontiers In Chemistry**, Lausanne, v. 9, p. 1-40, 25 maio 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2021.613343>.

MENDES-GOUVÊA, C. C. *et al.* Silver nanoparticles associated with a polyphosphate and fluoride enhance the prevention of enamel demineralization and impact on dual-biofilm adhesion. **Journal of Dentistry**, Kidlington, v. 125, p. 104245, out. 2022. Bimestral. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2022.104245>.

NARCISO, A. M. *et al.* Antimicrobial green silver nanoparticles in bone grafts functionalization for biomedical applications. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S.I.], v. 35, p. 102074, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102074>.

NORONHA, V. T. *et al.* Silver nanoparticles in dentistry. **Dental Materials**, Kidlington, v. 33, n. 10, p. 1110-1126, out. 2017. Bimestral. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2017.07.002>.

ÖZGÜR, M. *et al.* Simultaneous spectrophotometric determination of phenolic antioxidant (BHA and BHT) concentrations in pharmaceutical preparations and chewing gums using the H-point standard addition method. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, [S.I.], v. 36, n. 2, p. 211-222, 21 dez. 2017. Society of Chemists and Technologists of Macedonia. <http://dx.doi.org/10.20450/mjccce.2017.1330>.

PARAMELLE, D. *et al.* A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible. **The Analyst**, Cambridge, v. 139, n. 19, p. 4855-4861, 1 jul. 2014. Bimensal. Royal Society of Chemistry (RSC).
<http://dx.doi.org/10.1039/c4an00978a>.

PEREIRA, C. F. J.; VIVAS, M. G. **Estudo sobre a Cinética e os Mecanismos de Crescimento “Bottom-up” de Nanopartículas de Ouro via Pulsos Laser Altamente Focalizados**. 2022. 50 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2022.

PIÑERO, S; CAMERO, S; BLANCO, S. Silver nanoparticles: influence of the temperature synthesis on the particles' morphology. **Journal Of Physics: Conference Series**, [S.I.], v. 786, p. 012020, jan. 2017. IOP Publishing.
<http://dx.doi.org/10.1088/1742-6596/786/1/012020>.

RASUL, S. M. *et al.* Role of Titanium replacement with Pd atom on band gap reduction in the anatase Titanium Dioxide: first-principles calculation approach. **Results In Physics**, [S.I.], v. 38, p. 105688, jul. 2022. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.rinp.2022.105688>.

RENZ, M. Fluorescence microscopy-A historical and technical perspective. **Cytometry Part A**, [S.I.], v. 83, n. 9, p. 767-779, 12 abr. 2013. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1002/cyto.a.22295>.

RODRIGUES, J. F. B. *et al.* Multivariate Model Based on UV-Vis Spectroscopy and Regression in Partial Least Squares for Determination of Diameter and Polydispersity of Silver Nanoparticles in Colloidal Suspensions. **Journal of Nanomaterials**, Nova Iorque, v. 2020, p. 1-10, 23 abr. 2020. Hindawi Limited.
<http://dx.doi.org/10.1155/2020/1279862>.

RODRIGUEZ-TORRES, M. del P. *et al.* Antifungal and Cytotoxic Evaluation of Photochemically Synthesized Heparin-Coated Gold and Silver Nanoparticles. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 12, p. 1-14, 19 jun. 2020. Mensal. MDPI AG.
<http://dx.doi.org/10.3390/molecules25122849>.

SADEGHI, B.; GHOLAMHOSEINPOOR, F. A study on the stability and green synthesis of silver nanoparticles using Ziziphora tenuior (Zt) extract at room temperature. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S.I.], v. 134, p. 310-315, jan. 2015. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.06.046>.

SALOMONI, R. *et al.* Antibacterial effect of silver nanoparticles in Pseudomonas aeruginosa. **Nanotechnology, Science and Applications**, [S.I.], v. 10, p. 115-121, jun. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/nsa.s133415>.

SANDERSON, M. J. *et al.* Fluorescence Microscopy. **Cold Spring Harbor Protocols**, [S.I.], v. 2014, n. 10, p. 1042-1065, out. 2014.

SARAVANAKUMAR, A. *et al.* Low-cost and eco-friendly green synthesis of silver nanoparticles using *Prunus japonica* (Rosaceae) l. **Artificial Cells, Nanomedicine, And Biotechnology**, [S.l.], v. 45, n. 6, p. 1165-1171, 9 jul. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21691401.2016.1203795>.

SHARMA, Y. *et al.* A study of antibacterial, antioxidant and neuroprotective effect of stem of *Syzygium cumini*. **International Journal of Green Pharmacy**, [S.l.], v. 11, n. 4, p. 236-243, 10 dez. 2017. BRNSS Publication Hub. <http://dx.doi.org/10.22377/ijgp.v10i04.1289>.

SHEN, P. *et al.* High-Efficiency and High-Color-Rendering-Index Semitransparent Polymer Solar Cells Induced by Photonic Crystals and Surface Plasmon Resonance. **Acs Applied Materials & Interfaces**, Washington, v. 10, n. 7, p. 6513-6520, 8 fev. 2018. Mensal. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsami.7b18765>.

SILVA, A. G. M. da *et al.* The Fault in Their Shapes: investigating the surface-plasmon-resonance-mediated catalytic activities of silver quasi-spheres, cubes, triangular prisms, and wires. **Langmuir**, [S.l.], v. 31, n. 37, p. 10272-10278, 10 set. 2015. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b02838>.

SINGH, R. *et al.* Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 99, n. 11, p. 4579-4593, 9 maio 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-015-6622-1>.

UNSER, S. *et al.* Localized Surface Plasmon Resonance Biosensing: current challenges and approaches. **Sensors**, Basel, v. 15, n. 7, p. 15684-15716, 2 jul. 2015. Mensal. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/s150715684>.

VAN DONG, P. *et al.* Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles. **International Nano Letters**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 1-9, 21 jun. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/2228-5326-2-9>.

VAN HYNING, D. L. *et al.* Formation Mechanisms and Aggregation Behavior of Borohydride Reduced Silver Particles. **Langmuir**, [S.l.], v. 14, n. 24, p. 7034-7046, 30 out. 1998. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/la980325h>.

VILLAMIZAR, R. I. Biotechnological synthesis of silver nanoparticles using phytopathogenic fungi from cocoa. **Bio-Nanotechnology for Sustainable Environmental Remediation and Energy Generation.**, [S.l.], p. 137-152, 2016.

VU, X. H. *et al.* Synthesis and study of silver nanoparticles for antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, [S.l.], v. 9, n. 2, p. 025019, 8 jun. 2018. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/2043-6254/aac58f>.

WEI, L. *et al.* Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. **Drug Discovery Today**, [S.I.], v. 20, n. 5, p. 595-601, maio 2015. Quinzenal. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2014.11.014>.

WINEY, M. *et al.* Conventional transmission electron microscopy. **Molecular Biology of The Cell**, Kidlington, v. 25, n. 3, p. 319-323, fev. 2014. Bimestral. American Society for Cell Biology (ASCB). <http://dx.doi.org/10.1091/mbc.e12-12-0863>.

WU, P. C. *et al.* The fluorescence quenching and aggregation induced emission behaviour of silver nanoclusters labelled on poly(acrylic acid-co-maleic acid). **New Journal of Chemistry**, [S.I.], v. 42, n. 5, p. 3459-3464, 2018. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7nj04399f>.

XU, L. *et al.* Silver nanoparticles: synthesis, medical applications and biosafety. **Theranostics**, [S.I.], v. 10, n. 20, p. 8996-9031, 2020. Ivyspring International Publisher. <http://dx.doi.org/10.7150/thno.45413>.

YIN, I. X. *et al.* The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. **International Journal of Nanomedicine**, [S.I.], v. 15, p. 2555-2562, abr. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s246764>.

YIN, I. X. *et al.* Inhibition of dentine caries using fluoride solution with silver nanoparticles: an in vitro study. **Journal of Dentistry**, Kidlington, v. 103, p. 103512, dez. 2020. Bimestral. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103512>.

ZAYED, M. F. *et al.* Malva parviflora extract assisted green synthesis of silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Amsterdam, v. 98, p. 423-428, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2012.08.072>.

ZHANG, K. *et al.* Bioactive Dental Composites and Bonding Agents Having Remineralizing and Antibacterial Characteristics. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v. 61, n. 4, p. 669-687, out. 2017. Trimestral. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cden.2017.05.002>.

ZHANG, X. *et al.* Silver Nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 17, n. 9, p. 1534, 13 set. 2016. Quinzenal. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17091534>.