

OMAR SHAFIC AYUB

**CARACTERIZAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO EM CIMENTO
ORTODÔNTICO**

Campo Grande - MS

2016

OMAR SHAFIC AYUB

**CARACTERIZAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO EM CIMENTO
ORTODÔNTICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Margareth Coutinho

Campo Grande - MS

2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

OMAR SHAFIC AYUB

**CARACTERIZAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
ÓXIDO DE ZINCO EM CIMENTO ORTODÔNTICO**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Odontologia da
Faculdade de Odontologia da
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, para obtenção do título de
Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Margareth
Coutinho

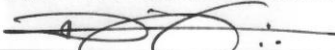
Resultado Aprovado

Campo Grande (MS), 06 de Abril de 2016.

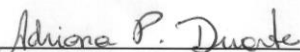
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Margareth Coutinho
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Prof. Dr. Danilo Mathias Zanelli Guerisoli
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Prof.ª. Dra. Adriana Pereira Duarte
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

DEDICATÓRIA

À minha família

Aos meus pais, Eduardo e Maria Luiza. Vocês são a minha inspiração. Cada um, à sua maneira, são exemplos diários e estímulo para tudo o que faço, renunciaram às suas próprias realizações em favor dos filhos. Minha mãe, o maior exemplo de amor e dedicação com os filhos, de integridade, retidão e generosidade. Meu pai, na sua luta diária soube superar obstáculos e ofereceu-nos a oportunidade do crescimento intelectual. Pelo papel fundamental na formação do meu caráter, ensinando-me a ter honestidade, responsabilidade e respeito, valores que considero essenciais para seguir cada passo de minha vida. O que sou e o que conquistei devo muito a vocês. Divido mais esta etapa cumprida.

Aos meus filhos Bruno e Vítor, ser pai é, sem dúvida, a maior escola da vida, onde se aprende a amar, aprender e ensinar, dizer sim e não, renunciar e conquistar. Se existe um objetivo em minha vida, esse objetivo tem o nome de vocês. Obrigado por aceitarem os desígnios do Pai e serem meus filhos, amo vocês.

Ao meu querido irmão Eduardo, minha cunhada Dulcinéa e minhas sobrinhas-filhas-irmãs Priscila e Karen, pela existência de vocês, pelo exemplo de alegria e simplicidade, mas principalmente, por abraçarem a Odontologia com tanta seriedade e dedicação, no estudo e trabalho oferecido aos nossos pacientes. Obrigado por fazer dessa equipe-família!

Aos meus irmãos Gamel, Miguel e Samira, mesmo não tão próximos no dia a dia, cada um de vocês, à sua maneira, trazem um colorido especial à minha vida.

DEDICATÓRIA ESPECIAL

Elisabeth, ou simplesmente Beth, existem pessoas especiais que Deus coloca em nossas vidas, você é uma delas. Obrigado pelo amor, apoio incondicional, compreensão nas minhas ausências e paciência nas minhas impaciências.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha orientadora Profa. Dra. Margareth Coutinho pela oportunidade de realização deste projeto, permitindo a experiência em uma área tão diversa à minha atuação clínica, e que contribuiu de forma singular para meu crescimento profissional. Pela paciência e atenção, pela compreensão das minhas limitações, e diante das dificuldades, pelo incentivo na continuidade deste trabalho, enfim, por tudo que pude aprender com você ao longo destes anos de estudo.

Um agradecimento especial à Profa. Dra. Adriana Pereira Duarte que, sem dúvida, é uma das grandes incentivadoras deste projeto, unindo a Química e a Odontologia. Que entende que ser professora vai muito além de “dar aula”, acompanhando de perto seus alunos, percebendo dificuldades, ajudando a superá-las, estimulando o crescimento e, assim, crescendo junto com eles. Esse é o real sentido da profissão! Obrigado.

AGRADECIMENTOS

Acredito na Providência Divina, que nos conduz pelos caminhos diversos, mesmo pelos mais incompreendidos e difíceis, e nos permite experimentar novas etapas, com obstáculos e conquistas, tornando-nos fortes para seguir em frente. Por isso agradeço a Deus, pelas pessoas tão especiais que ele coloca à minha volta, por todas as maravilhas recebidas durante esta caminhada, por me sustentar e apaziguar meus pensamentos nos momentos de dificuldade, por sua grandeza e proteção, por me permitir ter coragem para vencer os obstáculos, aprender e crescer a cada passo. Obrigado!

À Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, em nome de V. Mag.^a Reitora Profa. Dra. Celia Maria Silva Correia Oliveira; à Faculdade de Odontologia, em nome do Digníssimo Diretor Prof. Dr. Paulo Zárate Pereira; ao Instituto de Química, em nome do Digníssimo Diretor Prof. Dr. Lincoln Carlos Silva de Oliveira, obrigado pela estrutura e recursos técnico-científicos de pesquisa utilizados para realização deste trabalho.

Ao Coordenador do Programa de Pós-graduação em Odontologia Prof. Dr. Pedro Gregol pelo desempenho e contribuição ao desenvolvimento desse curso.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Odontologia, por todos os ensinamentos transmitidos:

Prof. Dr. Albert Schiaveto de Souza

Prof. Dr. Anísio Lima da Silva

Profa. Dra. Benícia Carolina Iaskieviscz Ribeiro

Profa. Dra. Carmen Regina Coldebella

Prof. Dr. Danilo Mathias Zanella Guerisoli

Prof. Dr. Elizeu Insaurralde

Prof. Dr. José Carlos Garcia de Mendonça

Prof. Dr. José Luiz Guimaraes de Figueiredo

Prof. Dr. José Peixoto Ferrao Junior

Prof. Dr. Key Fabiano Souza Pereira

Profa. Dra. Margareth da Silva Coutinho

Profa. Dra. Nara Rejane Santos Pereira

Prof. Dr. Paulo Zárate Pereira

Prof. Dr. Pedro Gregol da Silva

Profa. Dra. Rosana Mara Giordano de Barros

Prof. Dr. Tulio Marcos Kalife Coelho

Profa. Dra. Valéria Rodrigues de Lacerda

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Utrera Martines que nos deu a ideia da funcionalização quando ainda estávamos lutando para desenvolver um projeto interessante. Abriu as portas do Instituto de Química, apoiou, compartilhou conhecimentos e experiências durante todo o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Teófilo Fernando Mazon Cardoso e à técnica Michelle pela orientação e colaboração na obtenção das medidas de espectroscopia na região do infravermelho.

Ao Prof. Dr. Albert Schiaveto de Souza pela realização das análises estatísticas e auxílio na compreensão dos resultados obtidos.

Aos colegas do curso de Mestrado, Alessandra, Amanda, Bárbara, Camila, Cristina, Daniela, Laís, Leilane, Maeve, Nathalia, Roberta, Esthér, Simone, Sloan e Vanessa, por sempre estarem dispostos a ajudar, por compartilharmos as dificuldades e as alegrias, pelo apoio e amizade em todos os momentos. Divido com vocês esta conquista, pois cada um, a sua maneira, contribuiu para que este trabalho se completasse.

À Mestranda do Programa de Pós-graduação em Odontologia Jaine Zanolla e às acadêmicas do Curso de Odontologia Rafaela e Mariana pela ajuda imprescindível no desenvolvimento deste trabalho.

Às funcionárias da Pós-graduação Osvalda e Laís pela dedicação, trabalhos realizados e, acima de tudo, pelo carinho demonstrado sempre.

Aos alunos da Pós-graduação do Instituto de Química da UFMS, sempre dispostos a ajudar ao dentista intruso no laboratório de Química;

Ao técnico Luiz Felipe Praça Vargas do laboratório Multiusuário de análises de Materiais (MULTILAM) do Grupo de Materiais do Instituto de Física pela orientação e auxílio prestados nos testes de MEV e Microdureza

A todas as pessoas do meu convívio, familiares, amigos, irmãos fraternos e àquelas que encontrei ao longo de minha existência e que contribuíram direta ou indiretamente por tudo que foi conquistado em minha vida.

À CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado à pesquisa.

EPÍGRAFE

*“A vida são as incessantes oportunidades
que surgem pela frente, jamais os
insucessos que ocorreram no passado”.*

Joanna de Ângelis

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no mar. Mas
o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

Ayub OS. Caracterização da incorporação de nanopartículas de óxido de zinco em cimento ortodôntico. Campo Grande; 2016.

Componentes com efeitos antimicrobianos têm sido incorporados em cimentos ortodônticos para melhorar o controle da microbiota do biofilme, impedindo ou diminuindo a incidência da desmineralização do esmalte, em pacientes com uso de aparelho ortodôntico. A ação antimicrobiana do óxido de zinco, associada ao menor tamanho da partícula, pode ser um importante recurso no controle dessa desmineralização. A funcionalização das nanopartículas, através da modificação de sua superfície, pode otimizar a propriedade antimicrobiana do material. Na primeira etapa desta pesquisa, nanopartículas de óxido de zinco (Nano ZnO) foram sintetizadas por meio da metodologia de microemulsão inversa. As partículas produzidas foram caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura. Em seguida, uma porção das Nano ZnO passou pelo processo de funcionalização com aminopropiltrietoxissilano (APTS) e caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho. As Nano ZnO e as Nano ZnO funcionalizadas foram incorporadas, nas proporções de 1%, 2%, 5% e 10%, ao cimento Transbond XT, sendo o grupo controle, o cimento resinoso não modificado. A caracterização dos vários cimentos modificados, foi feita com os testes de microdureza e do grau de conversão (GC). Os dados obtidos foram submetidos ao teste ANOVA de duas vias seguido pelo pós-teste de Tukey e a avaliação da correlação linear entre a microdureza e o GC dos corpos de prova foi realizado por meio do teste de correlação linear de Pearson. Os resultados mostraram no teste de microdureza que houve uma redução significativa da dureza superficial ($p < 0,05$), em relação ao grupo controle, em todas as concentrações. Porém, o GC na concentração de 2% de Nano ZnO funcionalizadas foi significativamente maior do que a observada nas demais concentrações e no grupo controle ($p < 0,05$). Além disso, houve uma interação significativa entre concentração e funcionalização para microdureza ($p = 0,001$) e GC ($p < 0,001$) e não houve correlação linear significativa entre a microdureza e o GC dos corpos de prova para qualquer dos tipos de Nano ZnO ($p = 0,085$, $r = 0,224$). Concluiu-se que a incorporação de Nano ZnO funcionalizadas, em baixas concentrações, melhoraram o GC do cimento incorporado e houve piora da microdureza em todas as concentrações utilizadas em relação ao grupo controle.

Palavras chaves: Nanopartículas, Óxido de Zinco, Cimentos de Resina, Ortodontia, Modificação de Superfície.

ABSTRACT

Ayub OS. Characterization of the incorporation of zinc oxide nanoparticles into orthodontic cement. Campo Grande; 2016.

Components with antimicrobial effects have been incorporated into orthodontic cement to improve the control of biofilm microflora, thereby preventing or reducing the incidence of enamel demineralization in patients with braces. The antimicrobial activities of zinc oxide, when the smallest particle size is utilized, could be important in the control of demineralization. By modification of their surface, the functionality of nanoparticles can be used to optimize the antimicrobial property of the material. In the first step of this study, zinc oxide nanoparticles (Nano ZnO) were synthesized using the reverse microemulsion method. The particles produced were then characterized by spectroscopy in the infrared region, X-ray diffraction, and scanning electron microscopy. Then, a portion of the Nano ZnO particles was passed through a functionalization process with aminopropyltriethoxysilane (APTS) and characterized by spectroscopy in the infrared region. The Nano ZnO and functionalized Nano ZnO particles were incorporated at 1%, 2%, 5%, and 10% ratios into Transbond XT cement. The unmodified resin cement was used as the control group. Various modified cements were characterized on the basis of microhardness testing and degree of conversion (DC). The data obtained were evaluated using the two-way ANOVA test, followed by Tukey's post-hoc test. Evaluation of the linear correlation between microhardness and DC of the specimens was performed using Pearson's linear correlation coefficient. In the microhardness test, the results showed that there was a significant reduction in surface hardness ($p < 0.05$) as compared to the control group, at all concentrations. However, the DC at a concentration of 2% functionalized Nano ZnO was significantly higher than that observed at other concentrations and in the control group ($p < 0.05$). Furthermore, there was a significant interaction between concentration and functionalization in microhardness ($p = 0.001$) and DC ($p < 0.001$) and no significant linear correlation between microhardness and the DC of the samples for any of the types of Nano ZnO ($p = 0.085$, $r = 0.224$). It was concluded that the incorporation of functionalized Nano ZnO at low concentrations improved the DC of the incorporated cement and worsened the microhardness at all concentrations used as compared to the control group.

Keywords: Nanoparticles. Zinc Oxide. Resin Cements. Orthodontics. Surface Modification.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Sistema para síntese das nanopartículas de óxido de zinco.....	47
Figura 2 –	Decantação das partículas	47
Figura 3 –	Tubetes contendo nanopartículas de óxido de zinco.....	47
Figura 4 –	Sistema para funcionalização das nanopartículas de ZnO.....	48
Figura 5 –	Cimento ortodôntico Transbond XT.....	49
Quadro 1 –	Divisão dos grupos e subgrupos dos corpos de prova.....	50
Figura 6 –	a) Matriz em Technyl, com 6 orifícios cilíndricos, b) cimento Incorporado na matriz de Technyl.....	51
Figura 7 –	Matriz com espécimes de resina inseridos nos cilindros.....	51
Figura 8 –	Aparelho fotopolimerizador LED Emitter D.....	51
Figura 9 –	Anel posicionador de 3mm de espessura.....	52
Figura 10 –	Fotoativação dos espécimes.....	52
Figura 11 –	Polidora politriz Struers Tegrapol-11.....	53
Figura 12 –	Microdurômetro HMV 2000 Shimadzu.....	53
Figura 13 –	Esquema de localização das identificações em cada corpo de prova..	54
Figura 14 –	Pastilhador Manual.....	55
Figura 15 –	Espectrofotômetro infravermelho de FT-IR Nicolet iS5.....	55
Fluxograma 1 –	Delineamento da pesquisa.....	57
Figura 16 –	Espectro obtido na análise das nanopartículas.....	58
Figura 17 –	Difratograma de raios X obtido a partir da análise das Nano ZnO...	59
Figura 18 –	Imagem em 50.000X das Nano ZnO.....	59
Figura 19 –	Imagem em 150.000X das Nano ZnO.....	59
Figura 20 –	Espectro obtido na análise das nanopartículas funcionalizadas.....	60
Figura 21 –	Sem incorporação (0%) de Nano ZnO (40X).....	61
Figura 22 –	Incorporação de 1% de Nano ZnO (40X).....	61
Figura 23 –	Incorporação de 2% de Nano ZnO (40X).....	61
Figura 24 –	Incorporação de 5% de Nano ZnO (40X).....	61
Figura 25 –	Incorporação de 10% de Nano ZnO (40X).....	61

Figura 26 –	Sem incorporação (0%) de Nano ZnO (40X).....	62
Figura 27 –	Incorporação de 1% de Nano ZnO funcionalizadas (40X).....	62
Figura 28 –	Incorporação de 2% de Nano ZnO funcionalizadas (40X).....	62
Figura 29 –	Incorporação de 5% de Nano ZnO funcionalizadas (40X).....	62
Figura 30 –	Incorporação de 10% de Nano ZnO funcionalizadas (40X).....	62
Gráfico 1 –	Resultados referentes à microdureza dos corpos de prova de acordo com a concentração e a funcionalização de Nano ZnO.....	65
Gráfico 2 –	Resultados referentes ao grau de conversão dos corpos de prova de acordo com a concentração e a funcionalização de Nano ZnO..	67

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resultados referentes à microdureza dos corpos de prova de acordo com a concentração de Nano ZnO incorporadas à resina.....64
- Tabela 2 – Resultados referentes ao grau de conversão dos corpos de prova de acordo com a concentração de Nano ZnO incorporadas à resina.....66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APTS	Aminopropiltrietoxissilano
Bis-GMA	Dimetacrilato de diglicidilo de bisfenol A
BPA	Bisfenol A
CAPS	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
EUA	Estados Unidos da América
CIV	Cimento de ionômero de vidro
GC	Grau de Conversão
LED	Light emitting diode
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Nano ZnO	Nanopartículas de óxido de zinco
pH	Potencial Hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
QTH	Luz halogénea de quartzo-tungstênio
ROS	Espécies reativas de oxigênio
TEG-DMA	Dimetacrilato de trietilenoglicol
UFC/ml	Unidades Formadoras de Colônia por Mililitro
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
ZnO	Óxido de zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

%	por cento
°C	graus Celsius
cm	centímetro
g	grama
Kgf	quilograma-força
mg	miligrama
min	minuto
mm	milímetro
mW/cm ²	miliwatt por centímetro quadrado
N	Newton
nm	nanômetro
RPM	rotações por minuto
s	segundo
µm	micrômetro
µL	microlitros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 Nanotecnologia	22
2.2 Óxido de zinco	24
2.2.1 Síntese das nanopartículas de óxido de zinco	30
2.2.2 Funcionalização das nanopartículas de óxido de zinco	31
2.3 Microdureza e Grau de Conversão	36
3 PROPOSIÇÃO	45
3.1 Objetivo geral	45
3.2 Objetivos específicos	45
4 MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1 Síntese das nanopartículas de óxido de zinco	45
4.2 Funcionalização das nanopartículas de óxido de zinco	48
4.3 Cimento resinoso ortodôntico	49
4.4 Grupos e confecção dos corpos de prova	49
4.5 Caracterização dos grupos 1 e 2	52
4.5.1 Teste de Microdureza	52
4.5.2 Teste do Grau de Conversão	54
4.6 Análise estatística	56
5 RESULTADOS	58
5.1 Caracterização das nanopartículas de óxido de zinco	58
5.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho	58
5.1.2 Difração de raios X	59
5.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	59
5.2 Caracterização da funcionalização das nanopartículas de ZnO	60
5.3 Microdureza	61
5.4 Grau de Conversão	65
6 DISCUSSÃO	68
7 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	76
APÊNDICE A	87
APÊNDICE B	89

1 INTRODUÇÃO

O processo de desenvolvimento da lesão de cárie, que resulta na desmineralização do esmalte dental, ocorre devido a altas concentrações de ácidos produzidos pelas bactérias presentes nos biofilmes. Esse desafio cariogênico predominante no biofilme em torno do aparelho ortodôntico e a prolongada duração do tratamento ortodôntico causam um maior risco de cárie, elevando a incidência da desmineralização do esmalte nesses pacientes.

Estudos já demonstraram que os aparelhos ortodônticos fixos induzem um rápido aumento na quantidade de placa dentária, que por sua vez, apresenta um pH menor comparado ao de pacientes não ortodônticos (CHATTERJEE; KLEINBERG, 1979; GWINNETT; CEEN, 1979) o que predispõe o paciente a um maior risco de cariogenicidade (ØGAARD et al., 1988). Faltermeier et al. (2007) encontraram altos níveis de adesão bacteriana no cimento resinoso Tranbond XT. Ahn et al. (2007) afirmam que a quantidade de aderência de estreptococos cariogênicos nos braquetes ortodônticos é fortemente influenciada pelas características de superfície desses acessórios e Ahn et al. (2009b) sugerem que os adesivos ortodônticos têm características de superfície mais favoráveis para a adesão bacteriana do que os materiais de suporte ortodôntico.

Além disso, há uma rápida mudança na composição da flora bacteriana da placa, após a instalação de aparelhos ortodônticos. Mais especificamente, os níveis de bactérias acidogênicas, tais como *Streptococcus* do grupo *Mutans* (GELHARD; ARENDS, 1984).

Apesar dos muitos avanços na especialidade, o controle da placa bacteriana e consequente descalcificação do esmalte, ou lesões de mancha branca, é a complicação mais frequente da terapia com aparelho fixo e um grande desafio à prática ortodôntica (MAXFIELD et al., 2012, LUCCHESI; GHERLONE, 2013). Estudos demonstram uma alta incidência de manchas brancas, podendo chegar a 70% dos pacientes que se submetem a tratamento ortodôntico (ENAIA et al., 2011; RICHTER et al., 2011), principalmente nos primeiros 6 meses de tratamento (TUFEKCI et al., 2011;

LUCCHESE; GHERLONE, 2013). Gorelick et al. (1982) observaram a incidência de pelo menos uma lesão de mancha branca em 50% dos pacientes que tiveram o tratamento com aparelhos ortodônticos fixos em comparação com apenas 24% nos controles não tratados.

A medida profilática mais importante, baseada em evidências da literatura, para prevenir a ocorrência de descalcificação e formação de manchas brancas em pacientes ortodônticos consiste na implementação de um bom regime de higiene oral, incluindo uma adequada escovação com dentifrícios (BISHARA; OSTBY, 2008; BERGSTRAND; TWETMAN, 2011) e bochechos contendo flúor (BENSON et al., 2005; ØGAARD, 2008). Para Lucchese e Gherlone (2013) existe uma necessidade de desenvolver um protocolo de higiene oral individualizado que deveria ser seguido pelo paciente.

Infelizmente, essas medidas preventivas dependem da colaboração do paciente. Geiger et al. (1992) relataram que menos de 15% dos pacientes ortodônticos seguem diariamente essas instruções. Com isso, para pacientes com menor aceitação a este controle também estão indicados o uso adicional de diversos outros recursos. Entre eles, os agentes antimicrobianos também têm sido sugeridos como coadjuvantes aos pacientes com um risco mais elevado de cárie. (MELO, 2012). Como resultado, a adição de substâncias antimicrobianas a adesivos e cimentos odontológicos, elimina parcialmente a necessidade de cooperação do paciente e pode colaborar no controle da microbiota do biofilme (ØGAARD et al., 2001; BISHARA; OSTBY, 2008; MELO, 2012).

Em um interessante trabalho de revisão dos métodos atuais e futuros de prevenção e tratamento da desmineralização do esmalte, durante o tratamento com aparelho fixo, Chambers et al. (2013) cita o uso de nanopartículas de óxido de zinco (Nano ZnO) na redução da contagem de bactérias na superfície dos compósitos em até 80%, além de não comprometerem as propriedades mecânicas ou estéticas do compósito e com um potencial para os efeitos antimicrobianos serem mantidos indefinidamente, uma vez que as nanopartículas são incorporados no interior da resina, em vez de apenas na superfície.

Diversos estudos tem usado Nano ZnO adicionadas a materiais restauradores (SEVINÇ; HANLEY, 2010; HOJATI et al., 2013; KASRAEI et al., 2014) e adesivos

ortodônticos (SPENCER et al., 2009) aproveitando o seu comprovado efeito antimicrobiano. Assim, a associação das Nano ZnO a cimentos ortodônticos pode beneficiar o paciente no controle da flora bacteriana do biofilme dental e, como consequência, ajudar a reduzir a incidência da desmineralização do esmalte durante a terapia com aparelhos ortodônticos.

Nesse sentido, mais estudos envolvendo o óxido de zinco (ZnO) ainda são necessários para se avaliar o real potencial antimicrobiano e sua durabilidade diante de um longo tratamento ortodôntico, além das possíveis alterações nas propriedades físicas desses cimentos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nanotecnologia

A nanobiotecnologia é um ramo da nanotecnologia onde são aplicados os conceitos, técnicas e abordagens da nanotecnologia em conjunto com aqueles provenientes da biotecnologia, gerando conhecimento e produtos nas áreas biotecnológicas, farmacêuticas, médicas, de diagnóstico, entre outras.

Com o crescimento da nanociência e da nanotecnologia a síntese de nanoestruturas de ZnO tem recebido atenção especial. Com a redução do tamanho das partículas até a escala nanométrica (abaixo de 100 nm), novas propriedades mecânicas, elétricas, químicas e ópticas surgem. Este efeito é amplamente creditado ao aumento da área superficial das partículas e ao confinamento quântico, o que vem modificando substancialmente a aplicabilidade e a forma de utilização de diversos agentes (WANG, 2004; YI et al., 2005).

Para Williams et al. (2006) as investigações sobre o efeito das nanopartículas inorgânicas na saúde celular permitirão novos desenvolvimentos em nanobiotecnologia até alcançar seu pleno potencial. Uma melhor compreensão das nanopartículas e interações celulares podem levar ao desenvolvimento de novos sensores, melhora na capacidade de diagnóstico e tratamento, tais como uma melhor administração de medicamentos, terapia genética, ressonância magnética, agentes de contraste, etc.

O ZnO é um material versátil, que alcançou aplicações em protetores solares, foto-catalisadores, células solares, sensores químicos, transdutores piezelétricos, eletrodos transparentes, dispositivos eletroluminescentes e diodos de laser ultravioleta. Além disso, o ZnO é um material ecológico, o que é desejável especialmente para aplicações em biotecnologia (WU et al., 2007).

Rasmussen et al. (2010) descrevem que as propriedades intrínsecas de nanopartículas de metais como prata, óxido de zinco e o dióxido de titânio são principalmente caracterizadas pelo seu tamanho, composição, cristalinidade e morfologia. Reduzir o tamanho para nanoescala pode modificar suas propriedades

químicas, mecânicas, elétricas, estruturais, morfológicas e ópticas. Esses recursos permitem às nanopartículas interagir de uma maneira única com biomoléculas celulares e, assim, facilitar a sua transferência física para as estruturas celulares internas. Propriedades e características específicas das Nano ZnO, tais como a sua toxicidade inerente contra células cancerosas, principalmente de origem linfóide, a sua capacidade para induzir a geração de oxigênio ativo levando à morte por meio de apoptose, as suas propriedades físico-químicas que conduzem à absorção celular, além da facilidade na funcionalização de sua superfície podem torná-los um candidato atraente para aplicações biomédicas.

O aumento da área de superfície de contato das nanopartículas e o fato das reações químicas ocorrerem na superfície, explica a maior reatividade das nanopartículas em comparação à partículas maiores (MELO, 2012).

Hamouda (2012) explica que o potencial de nanopartículas para controlar a formação de biofilmes dentro da cavidade oral está em contínua pesquisa, assim como seus possíveis usos quando incorporadas em materiais dentários e sua aplicação no controle de infecções orais.

Melo et al. (2013) citam que materiais restauradores, baseados em nanotecnologia, podem trazer benefícios distintos para prevenir e controlar a cárie dentária e merecem uma investigação mais aprofundada. Resultados até agora encontrados demonstram um futuro promissor para o desenvolvimento de uma nova geração de biomateriais melhorados que possam ter um impacto positivo no controle da cárie dentária.

Para Bell (2014) a incorporação de nanopartículas com ação antibacteriana, em materiais restauradores odontológicos, vem sendo estudada nos últimos anos com o intuito de obterem materiais que previnam a cárie recorrente e consequentemente aumentem a longevidade do tratamento executado. Dentro deste contexto, a aplicação da nanotecnologia, por meio do uso de nanopartículas e materiais nanoestruturados, têm atraído o interesse da comunidade científica devido à sua aplicação biomédica e pela possibilidade de criar novos tipos de materiais.

Sirelkhatim et al. (2015) mencionam que materiais nanoestruturados têm maior percentagem de átomos na sua superfície, o que confere uma elevada reatividade

superficial. Assim, recentemente, os nanomateriais têm proporcionado importância significativa nas ciências básicas e aplicadas, bem como em nanobiotecnologia.

2.2 Óxido de zinco (ZnO)

A síntese química do agente antibacteriano está dividida em duas categorias: agente antibacteriano orgânico e inorgânico. Agente antibacteriano orgânico tem muitas desvantagens, incluindo o perigo de toxicidade para o corpo humano e instabilidade em temperatura e pressão elevadas. Por comparação, o agente antibacteriano inorgânico tem as propriedades de resistência ao calor, longa vida e estabilidade química. Atualmente, substâncias metálicas simples e os seus compostos são amplamente utilizados em pesquisa de aplicação antimicrobiana, tais como óxido de zinco, prata, óxido de ferro, dióxido de titânio, óxido de cobre, óxido de magnésio e hidróxido de magnésio. Entre os óxidos metálicos usados como agentes antibacterianos o ZnO tem despertado atenção devido às suas boas atividades antibacterianas em um amplo espectro de bactérias (SUN et al., 2014).

Algumas propriedades físicas (condutividade elétrica e térmica, absorção óptica no ultravioleta e estabilidade em temperaturas elevadas), químicas (estabilidade em pHs neutros) e biológicas (ação antibacteriana) tornam o ZnO um composto viável e extremamente atraente para uso em uma variedade de aplicações da nanotecnologia. Com o contínuo crescimento de pesquisas em nanoestruturas de ZnO uma série de novas aplicações inovadoras têm surgido nas áreas da biomedicina, energia, sensores e óptica. Complementando suas qualidades físicas e químicas, o ZnO possui uma tecnologia simples de síntese e oferece um número significativamente mais baixo nos custos de fabricação, quando comparada com outros semicondutores usados em nanotecnologia (GOMEZ; TIGLI, 2013).

O ZnO é um composto inorgânico com reconhecida ação antimicrobiana. Nano ZnO podem atuar como agentes antimicrobianos contra um amplo espectro de microorganismos Gram-positivos e Gram-negativos (YAMAMOTO, 2001; MELO et al.,

2013). Além disso, entre as vantagens desse material, soma-se o fato do mesmo ser, seguro, biocompatível e não tóxico (JONES et al., 2008; HUANG et al., 2008).

Sawai et al. (1998) e Hojati et al. (2013) descreveram que um dos mecanismos que explica o comportamento antimicrobiano de Nano ZnO é a produção de diferentes espécies de oxigênio ativo, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que inibem o crescimento bacteriano. Segundo os autores, na presença de luz ultravioleta, as Nano ZnO podem apresentar um comportamento fotocatalítico que leva à produção de espécies de oxigênio ativas antimicrobianas. Mas, segundo Zhou et al. (2008), a característica antibacteriana das Nano ZnO também pôde ser detectada sem exposição à qualquer fonte de luz.

No entanto, o verdadeiro mecanismo para a inibição bacteriana do ZnO ainda não é claramente compreendido. Zhang et al. (2010) sugeriram três possíveis caminhos: 1) interação química entre as Nano ZnO e componentes da membrana celular da bactéria, 2) Interação física entre as Nano ZnO e membrana celular da bactéria e 3) Combinação da interação química e física. Outro mecanismo para a atividade antimicrobiana de Nano ZnO pode ser atribuído à possível interação entre as nanopartículas e bactérias causada por forças eletrostáticas (STOIMENOV et al., 2002).

O uso de nanopartículas apresenta-se mais efetivo na ação antibacteriana por serem partículas extremamente pequenas e com maior área superficial (MELO, 2012; SIRELKHATIM et al., 2015).

Zhang et al. (2010) encontraram atividade bacteriostática das Nano ZnO contra *Escherichia coli*. A atividade antibacteriana aumentou com a diminuição do tamanho da partícula e sua maior concentração. Os autores afirmaram ainda, baseados nos testes realizados, que a concentração das nanopartículas é mais importante do que o tamanho delas.

O trabalho de Sirelkhatim et al. (2015) sugere que, melhorando fatores como a iluminação ultra-violeta, tamanho das partículas, concentração, morfologia, e modificação da superfície, poderiam ser obtidos potentes resultados anti-bacterianos. Estes fatores também influenciam uma variedade de mecanismos de toxicidade às bactérias.

As propriedades antibacterianas de quatro cimentos ortodônticos foram avaliadas

por Matalon et al. (2005) pelo teste de contato direto (TCD) e teste de difusão em ágar (TDA) contra *Streptococcus mutans*. Foram testados espécimes de ionômero de vidro (CX-Plus), ionômero de vidro reforçado (GC Fuji Ortho LC) e dois cimentos resinosos (Transbond XT e Transbond Plus Color Change). Os autores encontraram que na medição do halo de inibição do crescimento bacteriano após 48 horas, apenas o cimento de ionômero de vidro produziu uma zona de inibição (1,2 mm) ao redor da amostra. Resultados no TCD mostraram que apenas o cimento de ionômero de vidro reforçado apresentou atividade antibacteriana, que durou uma semana e diminuiu ao longo das três semanas seguintes. Por fim, concluíram que o cimento de ionômero de vidro reforçado possui maior atividade antibacteriana e de longa duração.

Ahn et al. (2009a) compararam as características superficiais, as propriedades físicas e a atividade bacteriana dos adesivos ortodônticos Transbond XT e o Fuji II LC e de dois adesivos experimentais, contendo partículas de sílica e nanopartículas de prata em três concentrações diferentes (0 ppm, 250 ppm e 500 ppm). Para examinar a atividade bacteriana foram utilizadas cepas de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*. O estudo demonstrou que a incorporação de nanopartículas de prata aumentou a rugosidade superficial, no entanto a energia de superfície livre dos adesivos experimentais foi próxima a dos adesivos comerciais. Foi observado também que não houve diferença na resistência ao cisalhamento entre os adesivos. O teste de atividade bacteriana indicou que houve efeito significativo na adesão bacteriana, sendo que o *Streptococcus mutans* aderiu aos adesivos mais do que o *Streptococcus sobrinus* e os adesivos experimentais apresentaram menor adesão bacteriana do que os outros testados. Apesar disso, não houve halo de inibição presente no teste de difusão de disco. Os autores concluíram que a incorporação de nanopartículas de prata nos adesivos experimentais foi bem sucedida podendo prevenir a desmineralização do esmalte em torno dos braquetes sem alteração significativa de suas propriedades físicas.

Spencer et al., em 2009, testaram se o ZnO incorporado a um agente de união ortodôntico exibe atividade antibacteriana em cultura de *Streptococcus mutans*, além da duração do possível efeito antibacteriano e suas propriedades adesivas. O ZnO foi incorporado ao cimento de ionômero de vidro Fuji Ortho LC na concentração de 0%

(controle negativo), 13% e 23,1%. No teste de resistência ao cisalhamento os autores encontraram diminuição da resistência com o aumento da concentração de ZnO. O teste de difusão em ágar mostrou que houve diferença significativa para a atividade antibacteriana ($p < 0,001$) exceto entre o controle negativo e o Transbond XT ($p = 0,294$). Os autores concluíram que maiores concentrações de ZnO promovem um aumento na atividade antibacteriana e diminuição na resistência ao cisalhamento.

Niu et al. (2010) avaliaram os efeitos antibacterianos sobre *Streptococcus mutans* e as propriedades mecânicas (resistência à flexão, resistência à compressão e resistência à tração) de uma resina onde foram incorporados whiskers de ZnO modificado (T-ZnOw), considerado como um novo tipo de agente antibacteriano inorgânico e com boas propriedades globais. Os resultados revelaram que a resina incorporada com T-ZnOw teve sua atividade antibacteriana melhorada e as propriedades mecânicas superiores ao grupo controle. No entanto, a atividade antibacteriana da resina com 10% do pó T-ZnOw diminuiu significativamente após o tratamento de envelhecimento e a incorporação de 5% proporcionou uma atividade antibacteriana apropriada e de longa duração, além de propriedades mecânicas melhoradas.

Sevinç e Hanley, em 2010, observaram o efeito da mistura de Nano ZnO à compósitos comerciais sobre o biofilme e sobre as células planctônicas do *Streptococcus sobrinus*. Para o estudo foram confeccionados corpos de prova de resina composta microhíbrida e nanoparticuladas com a incorporação de 1% de prata, 10% de dióxido de titânio, 1%, 5%, 10% de Nano ZnO, 1% de Nano ZnO não polarizado e 1% de Nano ZnO polarizado. Os testes utilizados foram contagem de UFC/mL, testes de concentração mínima inibitória e concentração mínima bactericida, contagem de células viáveis no terceiro dia de formação de biofilme do *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii* e *Actinomyces naeslundii* e inibição pelo contato direto das resinas utilizando microscópio eletrônico de varredura e microscópio confocal. A atividade bacteriostática e a atividade antibacteriana dos compósitos com Nano ZnO foram avaliadas através de medidas cinéticas de crescimento bacteriano e teste de difusão do disco, assim como foi feita a avaliação dos componentes liberados da resina composta com nanopartículas. Os autores observaram que a concentração de 1% de Nano ZnO

associado à resina composta não foi suficiente para inibir o crescimento bacteriano do biofilme de *Streptococcus sobrinus*, o qual é considerado mais resistente do que o *Streptococcus mutans*, enquanto que nas concentrações de 5% e 10% a inibição bacteriana foi observada. Verificaram que houve uma redução significativa de até 80% da contagem bacteriana no compósito que continha 10% de Nano ZnO quando comparado com os compósitos não modificados ($p=0,000$). Além disso, os compósitos com 10% de ZnO demonstraram menor formação de biofilme após 1 dia de crescimento anaeróbico das três espécies de microrganismos, no entanto, não reduziram significativamente o crescimento após 3 dias de formação de biofilme. Os autores concluíram que, inicialmente, as resinas com Nano ZnO apresentaram efeito antibacteriano mas, após o período de um mês, esse efeito não se manteve indicando que não houve liberação suficiente de zinco proveniente das Nano ZnO.

Rao et al. (2011) destacaram que as propriedades físicas e químicas do material dentário utilizado, tais como as suas propriedades mecânicas ou o comportamento de polimerização, não devem ser afetados com a incorporação de agentes ativos. Também deve ser assegurada a liberação desses agentes em uma quantidade eficaz e por um período de tempo prolongado, além de mostrar-se relevante o seu uso.

Hojati et al. (2013) avaliaram as propriedades antibacterianas, físicas e mecânicas de uma resina composta tipo flow contendo Nano ZnO (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%). Para avaliar a atividade antibacteriana foi realizado teste de difusão em ágar, contato direto com meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion) e a microscopia eletrônica de varredura. Os autores verificaram que o aumento na concentração de nanopartículas diminuiu significativamente o número de Unidades Formadoras de Colônia por Mililitro (UFC/ml) de *Streptococcus mutans* ($p<0,05$), sendo que nas concentrações de 4% e 5% de Nano ZnO houve inibição total de formação de colônias. Para avaliar as propriedades de união foram executados testes de resistência ao micro-cisalhamento e para as propriedades de polimerização, testes de grau de conversão e profundidade de cura foram executados. Os resultados demonstraram que quanto maior a concentração de nanopartícula, maior sua atividade antibacteriana sem qualquer alteração na resistência à flexão, no módulo de compressão e no grau de conversão. Pelo contrário, a resistência à compressão e módulo de flexão da resina flow melhorou, além disso

houve diminuição na profundidade de polimerização. Concluíram que a incorporação de Nano ZnO em pequenas quantidades, de cerca de 1% em peso, não prejudica as propriedades mecânicas do compósito e que pode inibir significativamente o crescimento de *Streptococcus mutans*.

Kasraei et al. (2014) investigaram as propriedades antibacterianas de resinas compostas tipo flow contendo 1% de prata e 1% de Nano ZnO em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* pelo teste de contato direto. Os autores encontraram que os compósitos contendo Nano ZnO ou nanopartículas de prata apresentaram maior atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$). O efeito do ZnO nos *Streptococcus mutans* foi significativamente mais elevada do que a de prata ($P < 0,05$). Não houve diferenças significativas na atividade antibacteriana contra *Lactobacillus* entre compósitos contendo nanopartículas de prata e as que continham Nano ZnO. Por fim, concluíram que as resinas compostas contendo prata ou Nano ZnO apresentaram atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*.

Bell (2014) avaliou a atividade antibacteriana nas concentrações 0%, 1% e 2% de Nano ZnO incorporadas a um cimento de ionômero de vidro (CIV) quimicamente ativado e outro modificado por resina fotopolimerizável sobre o biofilme de *Streptococcus* nos tempos de maturação de 24 horas e sete dias. A atividade antibacteriana foi avaliada pela contagem das Unidades Formadoras de Colônia por Mililitro (UFC/mL) e analisou-se a morfologia celular em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para o CIV quimicamente ativado encontrou-se diferença não significativa na atividade antibacteriana segundo o tempo de maturação do biofilme ($p=0,744$), concentração de nanopartículas ($p=0,966$) e a interação entre eles ($p=0,800$). Para o CIV modificado por resina, observou-se que a média de UFC/mL do biofilme com 7 dias foi significativamente superior à do biofilme de 24 horas ($p=0,034$). A concentração de nanopartículas ($p=0,570$) e a interação entre os dois fatores ($p=0,756$) não foi significativa. Na análise em MEV não foi observada mudança na morfologia celular do *Streptococcus mutans*. A autora concluiu que a inclusão de Nano ZnO à 1% e 2% aos CIVs avaliados não alterou sua atividade antibacteriana.

Em estudo de revisão Khan et al. (2015) destacaram a importância das

nanopartículas de óxido de metal, especialmente Nano ZnO e de dióxido de titânio como agentes antimicrobianos suplementares para controlar as infecções orais e formação de biofilme. Os autores afirmaram que as nanopartículas de dióxido de titânio e de óxido de zinco exibem atividade antimicrobiana significativa contra bactérias orais em concentrações não tóxicas em ensaios de toxicidade e, portanto, oferecem uma boa alternativa para os antibióticos tradicionais. No entanto, suas aplicações em higiene oral ainda estão no início e estudos sistemáticos são necessários para entender o impacto dessas nanopartículas na luta contra as infecções orais e formação do biofilme.

2.2.1 Síntese das nanopartículas de óxido de zinco

As nanopartículas podem ser sintetizadas a partir de muitos materiais e por vários métodos físicos e químicos, já que as partículas diferem na sua composição elementar, forma, tamanho e propriedades físicas ou químicas. Os métodos físicos geralmente envolvem deposição à vapor, moagem mecânica e evaporação térmica. A abordagem química usualmente é feita através da redução de íons metálicos em átomos de metal na presença de agentes estabilizantes, seguida da agregação controlada dos átomos. As metodologias químicas mais utilizadas são: técnica sol-gel, microemulsão, síntese organometálico, processamento hidrotérmico, síntese sonoquímica ou assistida por microondas, precipitação direta e precipitação homogênea. A síntese de nanopartículas por métodos químicos provou ser mais eficaz do que a utilização de métodos físicos devido ao melhor controle de forma e tamanho (HONG et al., 2009; KANGO et al., 2013).

Em nosso estudo a síntese das Nano ZnO foi realizada pela técnica de microemulsão inversa adaptada dos artigos de Hingorani et al. (1993) e Sarkar et al. (2011).

Hingorani et al. (1993) descrevem que as microemulsões consistem de uma fase oleosa, uma fase aquosa, um agente tensoativo (surfactante e, por vezes, um co-surfactante) que possuem propriedades físico-químicas específicas, tais como transparência, isotropia, baixa viscosidade e estabilidade termodinâmica. A

microemulsão inversa é formada de micelas dinamicamente instáveis, onde a parede externa é composta por uma alternância de molécula do surfactante e do co-surfactante rodeados por uma fase externa (orgânica) e encapsulando uma fase interna (água). Os autores prepararam duas microemulsões contendo sal de zinco e a outra contendo o agente de precipitação dissolvido em água como a fase aquosa. Estes micelas colidem continuamente, coalescem e quebram novamente. A colisão contínua destas microgotículas conduz à sua aglutinação e a subsequente formação de precipitado de carbonato de zinco na gotícula. A caracterização microestrutural das nanopartículas sintetizadas foi feito por difração de raios X e MEV. Os autores concluíram que o processo de microemulsão para a síntese de Nano ZnO proporciona um meio eficiente para reduzir a dimensão das nanopartículas.

Sarkar et al. (2011) relataram a síntese direta de Nano ZnO monodispersas à temperatura ambiente por hidrólise básica de nitrato de zinco na água, em microemulsão inversa, contendo Triton X-100, hexanol e ciclo-hexano por meio da reação do nitrato de zinco com hidróxido de amônio e hidróxido de sódio. A forma das nanopartículas é dependente do pH e da concentração dos reagentes. As nanopartículas foram caracterizadas por microscopia de transmissão, difração de raios X, espectroscopia de absorção e espectroscopia de fotoluminescência. Nanopartículas hexagonais de ZnO do tipo wurtzita foram obtidos em cada caso, com a forma e tamanho uniformes e de formato quase esféricas. Os autores concluíram que, com o aumento da concentração de nitrato de zinco, o tamanho da partícula aumenta em valor constante.

2.2.2 Funcionalização das nanopartículas de óxido de zinco

A funcionalização é caracterizada pela modificação da superfície das nanopartículas. Esta modificação pode alterar propriedades como: solubilidade, reatividade e propriedades eletrônicas ajudando, por exemplo, a tornar os nanomateriais biocompatíveis.

Sundar e Prajapati (2012) afirmam que, algumas vezes, nanopartículas

sintetizadas não são adequadas para aplicações biológicas por causa de suas características de superfície. Por isso a funcionalização da superfície de nanopartículas é geralmente necessária para melhorar a sua capacidade de dispersão aquosa, biocompatibilidade e na obtenção de grupos funcionais de superfície apropriadas para a bioconjugação. Para os autores estas novas estratégias são susceptíveis de minimizar a degradação e perdas de medicamentos aumentando sua disponibilidade no organismo e abrindo novas perspectivas para a absorção de drogas.

Em um recente trabalho de revisão sobre modificação de superfícies em nanopartículas inorgânicas, Kango et al. (2013) explicam que no desenvolvimento de compostos orgânico-inorgânico, as nanopartículas inorgânicas têm uma forte tendência para formar agregados. Para melhorar a estabilidade da dispersão e compatibilidade de nanopartículas inorgânicas com solventes orgânicos ou matrizes de polímeros, as suas superfícies devem ser modificadas, quer por polímeros de enxerto ou por absorção de moléculas pequenas, tais como agentes de acoplamento de silano. A modificação da superfície combina as propriedades únicas dos componentes orgânicos e inorgânicos no mesmo material, melhorando as interações interfaciais entre as nanopartículas inorgânicas e matrizes de polímeros, o que resulta em propriedades únicas, tais como alta resistência mecânica, óptica e eletrônica.

Para Hong et al. (2009) as Nano ZnO são propensas à agregação devido à grande área de superfície e elevada energia superficial que apresenta. A fim de melhorar a dispersão, é necessário modificar a superfície das Nano ZnO. Algumas pesquisas têm revelado vários métodos físicos e químicos para modificar a superfície dessas nanopartículas.

No estudo de Grasset et al. (2003) Nano ZnO foram revestidas por aminopropiltriethoxysilano (APTS) em três meios reacionais distintos: ácido, base e orgânico, para análise das propriedades estruturais e ópticas das nanopartículas após a funcionalização. Nos três casos, foi possível controlar o recobrimento e, de acordo com os resultados, o APTS desempenha um papel de inibidor de crescimento onde, mesmo a 800^o C, o tamanho do cristal permanece praticamente inalterado em comparação com o tamanho do cristal primário. Além disso, os resultados preliminares de decomposição fotocatalítica mostram que o recobrimento com APTS pode aumentar a fotoestabilidade.

Posthumus et al. (2004) relataram que as partículas inorgânicas não são facilmente dispersas em matrizes orgânicas, a menos que um agente dispersante seja utilizado. Para esta finalidade compostos alcóxissilanos são muitas vezes utilizados por formarem ligações químicas estáveis com ambos os materiais, inorgânicos e orgânicos. Nesse sentido os autores modificaram óxidos nanoparticulados (óxido de estanho e óxido de estanho dopado com antimônio) usando diferentes quantidades de 3-metacriloxipropiltrimetoxissilano. A compatibilidade das partículas modificadas com matrizes orgânicas foi melhorada.

Ma et al. (2008) melhoraram a estabilidade da dispersão de Nano ZnO por meio de tratamento com um agente de acoplamento de 3-metilacroxipropiltrimetoxissilano (KH570). Usando como métodos de caracterização a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, termogravimetria e calorimetria, os autores comprovaram que as cadeias de reação do acoplamento dos grupos alcóxissilanos ligaram-se de forma covalente na superfície das Nano ZnO.

Tang et al. (2007) descreveram o uso de Nano ZnO, com tamanho médio de cerca de 40 nm, que passaram por funcionalização na presença de 3-metacriloxipropiltrimetoxissilano como um agente de acoplamento para ligação com polímero poliestireno. A microscopia eletrônica de transmissão revelou a presença de Nano ZnO dispersas em compósitos de partículas do polímero e as imagens da microscopia eletrônica de varredura mostraram uma dispersão perfeita das partículas de ZnO na película de látex. Resultados de análise termogravimétrica e calorimetria indicaram uma melhoria da estabilidade térmica dos materiais compósitos em comparação com o polímero puro.

Tang et al. (2008) modificaram a superfície de Nano ZnO com 3-metacriloxipropiltrimetoxissilano e caracterizaram por espectrometria e raios X. Constataram que, com a modificação da superfície das Nano ZnO houve aumento da sua compatibilidade com os polímeros orgânicos.

Liu et al. (2008) exploraram duas estratégias para funcionalizações de Nano ZnO através da ligação com grupos de carboxilato e fosfonato. Com estes métodos aumentou-se significativamente a sua solubilidade em solventes não polares, tais como clorofórmio e tolueno, além de adaptarem as propriedades ópticas das nanoestruturas

de ZnO e ainda dotá-los de novas funções abrindo amplas perspectivas para a aplicação das nanopartículas funcionalizadas em optoeletrônica e biomedicina.

Para Joshi et al. (2009) Nano ZnO com modificação de superfície têm sido usadas em várias aplicações práticas para facilitar a sua dispersão em líquidos e melhorar a uniformidade dos recobrimentos preparados pela solução de processos. No entanto, os estudos de atividade antibacteriana ou toxicidade de Nano ZnO são comumente realizados com partículas puras, e estudos sobre nanomateriais com modificação de superfície têm sido escassos. Neste trabalho os autores demonstraram que o recobrimento de superfície pode melhorar significativamente essa atividade antibacteriana e/ou toxicidade do ZnO na presença ou ausência de luz. As diferenças na citotoxicidade de ZnO com superfícies funcionalizadas foram atribuídas à diferenças na produção de espécies reativas de oxigênio.

Leung et al. (2012) estudaram a atividade antibacteriana em duas bactérias Gram-positivas (*Enterococcus faecium* e *Bacillus atrophaeus*) e uma Gram-negativa (*Escherichia coli*) de Nano ZnO com três reagentes modificadores de superfície: (1) dodeciltriclorosilano; (2) 3-aminopropil-trimetoxissilano, (3) 3-metacrilóiloxi-propiltrimetoxissilano. Diferentes reagentes modificadores de superfície resultam em diferenças na liberação de íons Zn^{2+} e na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). No entanto, a atividade antibacteriana não se correlacionou com os níveis de ROS e a liberação de íons Zn^{2+} . Encontraram-se diferentes modificações de superfície que afetaram a liberação de Zn^{2+} e produção de ROS, bem como atividade antibacteriana. O aumento da liberação Zn^{2+} não resultou em aumento da atividade antibacteriana, enquanto as amostras com o menor liberação Zn^{2+} exibiu propriedades antibacterianas mais robusta. A morte de bactérias após a exposição ao ZnO com e sem modificações de superfície envolveu danos na membrana celular, enquanto que no caso do reagente modificador de superfície de silano contendo 3-aminopropil trimetoxissilano, que exibiu atividade anti-bacteriana sem ZnO, observou-se a deformação na forma da célula com alguma fuga do conteúdo celular, indicando uma mudança na permeabilidade da membrana. Em todas as amostras, espectros da espectroscopia de infravermelho confirmaram mudanças na região de picos de amida, indicando alterações conformacionais em proteínas bacterianas. Os autores concluíram

que o reagente de modificação de superfície de recobrimento de ZnO alterou a sua interação com a membrana de bactérias (diferentes alterações em algumas das intensidades dos picos em comparação com ZnO puro), embora o resultado final (danos na membrana celular) tenha sido o mesmo que para o ZnO puro.

Para Jayalakshmi et al. (2013) a funcionalização da superfície de Nano ZnO utilizando moléculas orgânicas tem sido considerada como um meio eficaz para melhorar as propriedades de emissão de raios ultravioleta (UV) dessas nanoestruturas. Este método tornou-se promissor para adaptar a emissão de ultra-violeta devido à estável adsorção de moléculas orgânicas formando uma ligação covalente à superfície do ZnO. Em seu estudo os autores investigaram a funcionalização da superfície de filmes de ZnO com dodecanotiol (Tiol) e trioctilamina (amina). O Tiol liga-se fortemente à ZnO superfície devido à interação entre o grupo final do enxofre e a superfície de ZnO. As medições de ângulo de contato em filmes de ZnO, antes e após a funcionalização da superfície com Tiol e amina, mostram a natureza hidrofóbica das nanopartículas. Medições de fotoluminescência mostram melhorias na emissão de luz ultra violeta e desaparecimento da emissão no visível. As emissões UV reforçadas em tiol e amina funcionalizando filmes de ZnO sugerem que os defeitos de superfície, tais como vacâncias de oxigênio são diminuídos com a funcionalização.

Abdolmaleki et al. (2014) investigaram por meio de reação de substituição nucleofílica de grupos OH na superfície de Nano ZnO com oligômeros cíclicos monoclorotriazinil- β -ciclodextrina (MCT- β -CD), para alcançar-se nanopartículas dispersas inibindo a agregação das Nano ZnO. Para melhorar as propriedades mecânicas e térmicas de um polímero testado, as Nano ZnO quando inseridas na matriz do polímero devido às forças físicas, como de Van Der Waals, levam a uma aglomeração das partículas. Por conseguinte, para evitar esta ocorrência e alcançar uma distribuição homogênea das Nano ZnO na matriz polimérica, a superfície ZnO deve ser caracteristicamente organofílica e ter afinidade com matriz orgânica. Os resultados apresentados neste estudo demonstraram um método eficiente para preparar ZnO incorporadas β -CD covalentemente, através de um procedimento simples e direto. A incorporação do grupo funcional β -CD em ZnO mostrou boa distribuição e menos agregação das Nano ZnO funcionalizadas na matriz do polímero melhorando

sua compatibilidade.

Sun et al. (2014) investigaram a influência da microestrutura de cristal do ZnO funcionalizado com titânio, por síntese hidrotermal, e de suas propriedades antibacterianas contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados das propriedades antibacterianas mostraram que os pós de ZnO funcionalizado com titânio têm diferentes atividades antimicrobianas.

No presente trabalho Nano ZnO foram funcionalizadas com compostos orgânicos nitrogenados aminopropiltriethoxysilano (APTS) buscando a interação com os grupos carboxílicos, monômeros residuais pendentes que não reagiram na formação do polímero durante o processo de polimerização do cimento resinoso Tranbond XT.

2.3 Microdureza e Grau de Conversão

O grau de conversão (GC) de um composto resinoso determina a quantidade de ligações duplas de carbono, presentes nos monômeros, que reagiram durante o processo de conversão em polímeros (AMATO et al., 2014).

O GC obtido durante a fotopolimerização é um importante fator a ser considerado no processo de cura das resinas compostas. O processo de fotopolimerização começa quando os iniciadores presentes na fórmula absorvem a energia emitida por uma fonte de luz. Estes iniciadores são substâncias químicas que reagem com as ligações duplas entre os átomos de carbono nos monômeros, convertendo-os em uma complexa estrutura de polímeros durante o processo de cura do compósito. Porém, essa conversão de monômeros em polímeros não atinge 100%, resultando na permanência de monômeros sem reagir (SOSTENA, 2009; AMATO et al., 2014).

No caso das resinas fotopolimerizáveis, embora o GC possa ser influenciado pela composição química, não depende somente deste fator, mas especialmente de uma quantidade de luz apropriada que ative os iniciadores. Um dos principais fatores que prejudicam a qualidade da polimerização é a redução da quantidade de luz necessária para excitar o fotoiniciador em toda a extensão da resina composta. A intensidade de luz diminui como resultado da absorção e dispersão da luz. Assim, a

superfície que está em contato direto com a fonte de luz apresenta mais fotoiniciadores excitados e maior número de radicais livres gerados para formar polímeros, o que resulta em uma polimerização mais completa nesta superfície. Já em maiores profundidades, a quantidade de luz é reduzida, diminuindo o potencial de polimerização. Por estas descobertas, consagraram-se valores ideais para atingir adequadas propriedades das resinas compostas para a intensidade de luz de, pelo menos, 400 mW/cm² associada a tempos de exposição de 40 segundos e espessuras ou incrementos de no máximo de 2 mm (DELGADO, 2004; TSAI et al., 2004).

A presença de camadas não polimerizadas ou parcialmente polimerizadas acarreta prejuízos ao desempenho da resina, uma vez que os níveis de conversão alcançados durante a polimerização influenciam diretamente nas propriedades físicas e mecânicas do material. Propriedades como dureza, desgaste, tensão, resistência à compressão e à flexão, estabilidade dimensional, solubilidade, reações de descoloração e degradação, são dependentes do grau de polimerização dos seus componentes. Além disso, a presença de monômeros residuais pode ocasionar a liberação de subprodutos como formaldeído e o ácido metacrílico, comprometendo a biocompatibilidade das resinas. Por outro lado, um elevado GC também pode acarretar uma alta contração de polimerização (SOSTENA, 2009; RAHIOTIS, 2010; PURUSHOTHAMAN et al., 2015).

Matrizes de resina de compósitos ortodônticos consistem principalmente de 2 monômeros: dimetacrilato de diglicidilo de bisfenol A (Bis-GMA) e dimetacrilato de trietilenoglicol (TEG-DMA). Todos os monômeros dimetacrilato exibem monômero residual considerável no produto final, com um GC variando de 55% a 75% (ÇOREKÇI et al., 2011). Como a molécula de monômero de dimetacrilato pode apresentar um ou dois grupos não reagidos, durante o processo de polimerização, o residual não convertido poderá estar na forma de monômero residual e/ou como grupo pendente ligado covalentemente à estrutura do polímero (SOSTENA, 2009).

A Espectroscopia Raman e a Espectroscopia na região do Infravermelho são técnicas que permitem a obtenção de informações sobre a estrutura molecular, níveis de energia e ligações químicas do material avaliado, sendo frequentemente utilizadas no estudo do GC das resinas odontológicas. A espectroscopia na região do

infravermelho estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria, e permite determinar diretamente o GC, bem como avaliar a profundidade de cura das resinas compostas (YOON, 2002; SOSTENA, 2009).

A dureza é uma propriedade mecânica cujo conceito se refere à resistência que um material apresenta ao risco ou à impressão de uma marca permanente quando pressionado por outro material, ou por marcadores padronizados, e depende diretamente das forças de ligação entre os átomos, íons ou moléculas. O estudo da dureza de diversos tipos de materiais é usualmente realizado, pois permite a caracterização destes materiais quanto às suas propriedades mecânicas. Nos ensaios de dureza por penetração, um penetrador de formato padronizado é pressionado contra a superfície do material a ser testada, sob condições específicas de carga e taxa de aplicação. A área da impressão formada na superfície é medida e correlacionada com um valor numérico que representa a dureza do material. Na odontologia, os ensaios de microdureza são de suma importância na análise de materiais. Neste caso, os métodos de ensaio de microdureza estão baseados na carga e tamanho do penetrador. Os métodos Knoop e Vickers são os principais métodos de ensaio de microdureza aplicados em odontologia e caracterizam-se por causarem uma impressão microscópica no material e empregarem penetradores de diamante com cargas menores que 1 Kgf. Tais métodos diferem quanto ao formato da ponta de impressão, o primeiro possui o penetrador de diamante na forma de pirâmide alongada e, o segundo, na forma de pirâmide de base quadrada (SOSTENA, 2009).

Os ensaios de microdureza são frequentemente realizados para avaliar as resinas compostas empregadas na odontologia onde a eficácia de polimerização pode ser indiretamente inferida. Para materiais com uma característica de recuperação elástica, tais como resinas compostas, o teste de dureza de Knoop é recomendada na sua maioria (CERVEIRA, 2010).

Em se tratando de resinas ortodônticas, na literatura a avaliação da dureza destes materiais tem sido pouco explorada. Uma vez que estes compostos permanecem na cavidade oral durante um longo período de tempo, eles devem possuir boa adesividade. Tem sido demonstrado que há uma correlação positiva entre microdureza e a resistência mecânica do material (AMATO et al., 2014).

DeWald e Ferracane (1987) encontraram correlação entre quatro modos de testes utilizados para determinar a profundidade de cura de resinas compostas fotopolimerizáveis. Os métodos ópticos e de raspagem correlacionaram bem, mas ambos superestimaram a profundidade de cura quando comparado com valores de dureza e GC. Embora houvesse uma correlação significativa ($p=0,05$) entre a microdureza de Knoop e o GC nas resinas testadas (Prismafil $r = 0.994$, Prisma Microfine $r = 0.966$, Aurafill $r = 0.991$), este foi mais drasticamente reduzido com o aumento da profundidade analisada. Por conseguinte, os autores concluíram que o GC é o modo de teste mais sensível para a avaliação da profundidade da cura em compósitos resinosos fotopolimerizáveis.

Yoon et al. (2002) conduziram estudo para determinar a eficácia da polimerização de diversos tipos de aparelhos de luz a base de LED e arco de plasma em comparação com a lâmpada de halogênio convencional. O GC de três compósitos de resina foi medido com um espectrofotômetro na região do infravermelho a diversas profundidades da superfície. Encontraram um GC significativamente influenciado por três variáveis: a profundidade a partir da superfície, a fonte de luz e o nível de energia ($P < 0,01$). Destacaram ainda que a polimerização adequada é um fator crucial na obtenção de propriedades físicas ideais e desempenho clínico dos materiais restauradores de resina composta.

Kauppi e Combe (2003) realizaram um estudo para avaliar a eficácia de 3 diferentes fotopolimerizadores sendo 1 de luz halógena convencional e 2 de luz halógena de alta intensidade na polimerização de um cimento ortodôntico à base de polímero e um ionômero de vidro resinoso, através da investigação do grau de polimerização medida por espectroscopia na região do infravermelho e da dureza de Barcol. Os resultados foram analisados com análise de variância (ANOVA) de 2 e 3 vias. Foi demonstrado que, para o Transbond-XT, houve um aumento significativo no GC e dureza com o tempo de aplicação da luz para cada fonte utilizada. Em relação ao tipo de luz avaliada, não houve diferença significativa para o GC, no entanto, houve uma diferença na dureza: as luzes de maior intensidade produziram maior dureza no tempo mais curto. Assim, houve uma correlação pobre entre o grau de polimerização e dureza. Para o ionômero de vidro modificado por resina, tendências semelhantes foram

encontrados. Concluiu-se que as luzes de maior intensidade promoveram um aumento mais rápido na dureza, mas não diferiram significativamente no GC.

Wang et al. (2003) apresentaram artigo de revisão dos testes laboratoriais mais importantes na análise de diferentes materiais dentários. Nesse estudo os autores afirmam que, embora as propriedades mecânicas não representam necessariamente o desempenho clínico real do material estudado, eles são utilizados para orientar os efeitos de mudanças na sua composição ou de transformação sobre essas propriedades. Deste modo, o conhecimento de suas propriedades mecânicas é essencial para legitimar a indicação correta desses materiais e esperar um desempenho clínico favorável de longo prazo. E, embora haja um grande número de estudos na literatura que avaliam materiais dentários, em alguns casos, é um pouco difícil comparar os resultados devido às diferenças metodológicas utilizadas. A dureza de superfície é um parâmetro frequentemente utilizado para avaliar a resistência superficial e a deformação plástica pela penetração sendo, a dureza Knoop mais sensível às características da superfície do material.

Vilchis et al. (2008) analisaram a estrutura de seis adesivos ortodônticos fotopolimerizáveis através da microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão, raios X e microdureza de Vickers. Os adesivos avaliados foram Transbond XT, Light Bond, BeautyOrtho Bond, Kurasper F, Heliosit Orthodontic e a resina fluida ortodôntica Salivatect. As análises de raios X, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão mostraram uma grande diversidade na estrutura e concentração dos elementos presentes nos adesivos. O teste de microdureza Vickers mostrou diferenças significativas entre os adesivos, exceto Transbond XT e Salivatect. Para os autores, essas diferenças significativas merecem uma maior investigação dos efeitos de longo prazo da dureza adesiva durante o tratamento ortodôntico.

Segundo Rahiotis (2010) o GC de adesivos de polímero modula as propriedades físicas e mecânicas do material, particularmente solubilidade e degradação e, por estas razões, são de interesse científico. O GC descreve o quão bem um adesivo de resina foi polimerizado, isso significa que quanto maior o GC de um adesivo ortodôntico, maiores as suas propriedades de dureza e mecânicas, maior a sua força de ligação com os tecidos dentais duros e menor a sua solubilidade e degradação ao longo do

tempo.

Com o objetivo de avaliar a influência de duas unidades de luz, um halogéneo de quartzo-tungstênio (QTH) e um díodo emissor de luz (LED), na dureza e GC de uma resina composta ortodôntica, Cerveira et al. (2010) confeccionaram espécimes preparados a partir do Transbond XT e fotopolimerizada por 10, 20 e 30 segundos com o aparelho fotopolimerizador QTH e por 5, 10, e 15 segundos com o LED. A polimerização da resina composta foi avaliada por espectroscopia na região do infravermelho e pela microdureza Knoop. Os resultados foram analisados estatisticamente pela análise de variância e teste de comparações múltiplas de Tukey ($\alpha = 0,05$). Os autores concluíram que a fotoativação com o LED resultou em uma redução de 50 por cento no tempo recomendado para o uso da luz QTH com a resina ortodôntica Transbond XT.

Çorekçi et al. (2011) avaliaram a capacidade de polimerização de 5 compósitos ortodônticos por determinação do GC através da espectroscopia na região do infravermelho. No estudo foram avaliados compósitos ortodônticos imediatamente após polimerização e depois da armazenagem em saliva artificial a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 30 dias. Os compósitos adesivos à base de resina investigados foram Bisco Ortho, Heliosit Ortodôntico, Kurasper F, Light Bond, e Transbond XT fotopolimerizados com Elipar FreeLight 2. Os dados foram analisados por meio do teste ANOVA de duas vias e pelo pós-teste de Tukey. Os autores encontraram o GC significativamente influenciado pelo tipo compósito ($P < 0,05$) e, após 30 dias, não houve diferenças entre eles. A interação entre o tipo de compósitos e tempo desempenhou um papel estatisticamente significativo no GC ($P < 0,05$), mas não houve influência estatisticamente significativa de tempo para o GC ($P > 0,05$). Por fim, os autores concluíram que o GC depende do tipo de compósito onde Bisco Ortho, Heliosit Ortodôntico e Transbond XT apresentaram os maiores níveis de GC e que seus valores não mudam após 30 dias. Além disso o GC de compósitos ortodônticos é um processo complexo que é afetado não só pelo conteúdo inorgânico presente no produto, mas também o tipo de monômero e de muitos outros fatores.

Hojati et al. (2013) avaliaram as propriedades antibacterianas, físicas e mecânicas de uma resina composta tipo flow contendo Nano ZnO em diversas

concentrações (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%). Para avaliar as propriedades de união foram executados testes de resistência ao micro-cisalhamento e, para as propriedades de polimerização, testes de GC e profundidade de cura. Os autores não observaram diferenças significativas no GC dos grupos testados. Concluíram que a adição de até 5% de Nano ZnO não afeta o GC de resinas compostas na espessura das amostras testadas.

Torres et al. (2014) investigaram o efeito de diferentes aparelhos fotopolimerizadores (luz halogênea e LED) nas profundidades 2, 3, 4 e 5 mm através da análise do GC pela espectroscopia na região do infravermelho e dureza Knoop da resina composta Filtek LS. Não foram encontradas diferenças no efeito das fontes de luz sobre o GC ($p = 0,472$) ou a dureza Knoop ($p = 0,174$) para todas as profundidades estudadas, mas os valores de GC e microdureza diminuíram com o aumento da profundidade, sendo os maiores valores obtidos nas profundidades de 2 e 3 mm. A análise Spearman mostrou uma correlação linear positiva entre as variáveis GC e microdureza ($r = 0,858$, $p < 0.000$). Os autores concluíram que, embora a resina composta apresentasse níveis satisfatórios do GC, os baixos valores de dureza Knoop sugerem que há necessidade de mais estudos que abordem a resistência ao desgaste desses materiais.

Amato et al. (2014) avaliaram a influência do tempo e intensidade de cura sobre o GC e microdureza da superfície de 3 compósitos ortodônticos: Grupo 1: Transbond XT, Grupo 2: Opal Bond MV e Grupo 3: Transbond Plus Color Change. Um aparelho díodo emissor de luz (LED), foi utilizado para polimerizar 3 níveis de potência (530, 760, e 1520 mW/cm²) em 3 tempos (8,5, 6 e 3 segundos), sempre totalizando 4,56 joules. Para o GC as amostras foram moídas e misturadas com brometo de potássio para produzir comprimidos de 8 mm. Após a espectroscopia, foram encontradas diferenças no GC dos compósitos polimerizados em tempo e intensidade diferentes ($P < 0,01$). Os compósitos apresentaram graus de conversão semelhantes quando foram polimerizados a 8,5 segundos (80,7%) e 6 segundos (79,0%), mas não a 3 segundos (75,0%). Os graus de conversão dos compósitos foram diferentes, com o grupo 3 (87,2%) mais elevados do que o grupo 2 (83,5%), que foi mais elevada do que o grupo 1 (64,0%). Para o teste da microdureza foram feitas medições da dureza Knoop (KHN)

onde diferenças também foram encontradas ($P < 0,01$), com menor dureza em 8,5 segundos (35,2 KHN), mas não houve diferença entre os 6 segundos (41,6 KHN) e 3 segundos (42,8 KHN). O Grupo 3 teve a maior microdureza de superfície (35,9 KHN) em comparação com o grupo 2 (33,7 KHN) e grupo 1 (30,0 KHN). Os autores concluíram que o tempo de polimerização pode ser reduzido em até 6 segundos usando 760 mW de potência, atingindo um grau satisfatório de polimerização. Uma redução ainda maior no tempo, de 3 segundos, com o aumento da potência (1520 MW) irá causar uma ligeira diminuição no GC e um aumento na dureza do compósito.

Purushothaman et al. (2015) avaliaram quantitativamente e compararam a liberação de Bisfenol A (BPA) a partir do adesivo ortodôntico Transbond XT polimerizado através de dois tipos de aparelhos fotopolimerizadores: um de luz halógena (LH) e outro de diodo emissor de luz (LED) em 3 diferentes distâncias (0, 5, e 10 mm) e variando o tempo de polimerização, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. A liberação de BPA também foi avaliada associando o Tranbond XT com adesivo auto-condicionante e com adesivo resistente à umidade, além de um compósito de polimerização química. A liberação de BPA foi correlacionada com o GC correspondente. Os dispositivos de LED demonstraram significativamente menos liberação de BPA e maiores graus de conversão ($P < 0,05$). Para ambas as unidades, a liberação de BPA aumentada e a diminuição do GC estão relacionadas com o aumento da distância da ponta e a diminuição do tempo de fotopolimerização. O grupo quimicamente polimerizado mostrou significativamente menos liberação BPA ($P < 0,05$). Entre os compósitos fotopolimerizáveis, aqueles fotopolimerizados de acordo com as recomendações dos fabricantes (40s e 0 mm de distância para a unidade de LH) liberaram menos BPA do que os fotopolimerizados com adesivo auto-condicionante e com adesivo resistente à umidade. O GC foi maior para o compósito quimicamente polimerizado, enquanto era semelhante para o adesivo auto-condicionante e o grupo com adesivo resistente à umidade. No entanto, as correlações variaram de fortemente negativa para fracamente positivo entre a liberação de BPA e o GC. Os autores concluíram que: (1) os clínicos devem considerar o uso de LEDs na prática clínica e devem manter a ponta do aparelho fotopolimerizador tão perto do acessório ortodôntico quanto clinicamente possível, (2) o tempo de fotopolimerização deve ser de acordo com

as recomendações do fabricante, (3) estas medidas irão garantir menos liberação BPA e um maior GC e (4) como os compósitos de polimerização química apresentaram menor liberação de BPA e um maior GC podem ser considerados superiores aos compósitos fotopolimerizáveis neste aspecto.

3 PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo geral

- Obtenção de um cimento resinoso ortodôntico experimental com nanopartículas de ZnO.

3.2 Objetivos específicos

- Síntese, funcionalização e caracterização estrutural e morfológica de nanopartículas de óxido de zinco;
- Incorporação de nanopartículas de óxido de zinco , funcionalizadas ou não, em cimento ortodôntico resinoso fotopolimerizável nas proporções de 1%, 2%, 5% e 10%;
- Avaliação do cimento modificado por meio dos testes de microdureza e do grau de conversão e;
- Verificar a correlação entre a microdureza e o grau de conversão.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Síntese das nanopartículas de óxido de zinco

Nanopartículas de óxido de zinco (Nano ZnO) foram sintetizadas pelo método de microemulsão inversa (HINGORANI et al., 1993; SARKAR et al., 2011). Essa etapa do trabalho foi realizada no Laboratório de Química LP6, do Instituto de Química da UFMS.

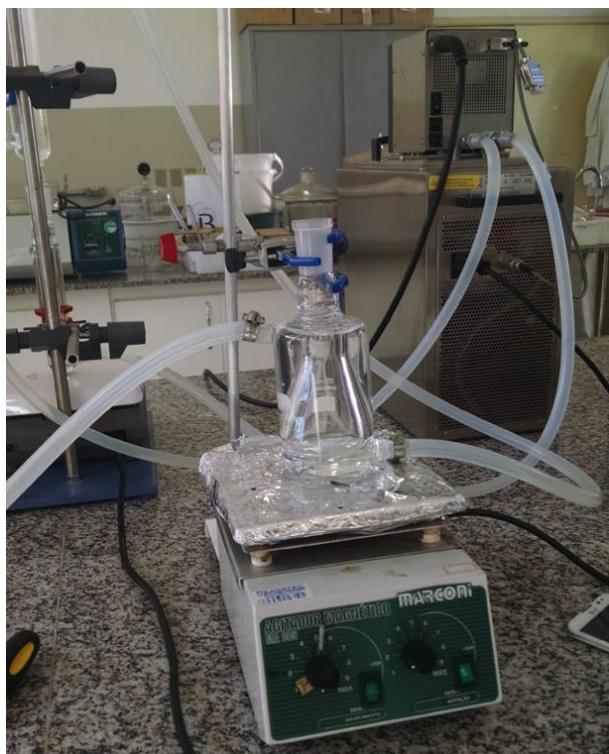
Todo o processo da síntese foi realizado com temperatura controlada a 21°C, com banho termostatizado (MA184 Marconi, Piracicaba-São Paulo) (Figura 1). Inicialmente foram adicionados em um Erlenmeyer, 30 mL de Ciclohexano PM 84,16 (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, SP-Brasil), 3,7mL de 1-Hexanol 98% (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, SP-Brasil) e 4,5 mL de Triton X-100TM (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, SP-Brasil) deixados em agitação magnética (Marconi MA085, Piracicaba, SP-Brasil) a 500 rpm, por 10 minutos. Foram pesados 0,8 g de Nitrato de Zinco P.A. (Vetec, Duque de Caxias, RJ-Brasil) em balança analítica (Modelo AY220, Shimadzu do Brasil, São Paulo, SP-Brasil), dissolvidos em 0,5 mL de água deionizada, e adicionados à mistura anterior, gota a gota, mantidos sob agitação magnética por 30 minutos. Após esse período, adicionou-se 0,3 mL de Hidróxido de Amônio P.A. PM 35,05 (Synth, Diadema, SP-Brasil). A emulsão foi mantida sob agitação magnética por 60 minutos. Por fim, foi feita a adição de 70 mL de acetona P.A. PM 58,08 (Dinâmica Química, Diadema SP-Brasil), agitação por mais 2 minutos e, após, mantido em repouso para decantação das partículas (Figura 2).

Depois da decantação, o sobrenadante foi separado e descartado. Em seguida, repetiu-se, por duas vezes, uma pré-lavagem com 70 mL de Acetona P.A. PM 58,08, agitação no ultrassom por 15 minutos e retirada do sobrenadante.

A lavagem para retirada do material orgânico foi feita, alternadamente, três vezes com Acetona P.A. PM 58,08 e duas vezes com Acetonitrila P.A. PM 41,05 (Dinâmica Química, Diadema, SP-Brasil) em tubetes acondicionados em centrífuga (Hermle, Wehingen-Alemanha) a 5.500 rpm, durante 15 minutos.

Terminada a fase de lavagem, as partículas foram mantidas nos tubetes (Figura 3) e levadas à estufa (Fanem, São Paulo-Brasil) a 45° C por 24 h para secagem. O rendimento do processo foi de 203,50 mg de Nano ZnO.

Figura 1 - Sistema para síntese das Nano ZnO



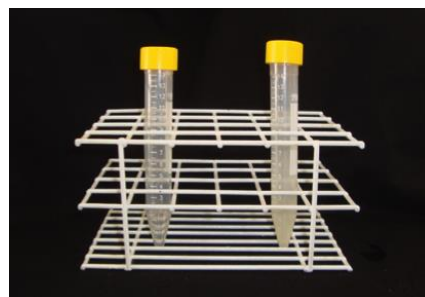
Fonte: Própria

Figura 2 - Decantação das partículas



Fonte: Própria

Figura 3 - Tubetes contendo Nano ZnO



Fonte: Própria

O material obtido foi caracterizado por espectroscopia na região do infravermelho em espectrofotômetro com transformada de Fourier FTIR Nicolet iS5 (Thermo Scientific, Waltham, MA-EUA), difração de raios X (modelo D2 Phaser, Bruker Corporation, Billerica, MA-EUA) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Jeol modelo JSM-6380LV, Tóquio-Japão).

4.2 Funcionalização das nanopartículas de óxido de zinco

Parte das Nano ZnO sintetizadas na etapa anterior foram funcionalizadas com o composto orgânico nitrogenado aminopropiltrietoxissilano (APTS).

Para a funcionalização foi montado um sistema de aquecimento a 50°C e refrigeração no condensador a 21°C com banho termostaticado (MA184 Marconi, Piracicaba, SP-Brasil). Foram colocadas em um Erlenmeyer, sobre um agitador magnético, 35 mL de acetonitrila e adicionados 80 mg de Nano ZnO previamente separadas em balança analítica deixados em agitação de 500 rpm, durante 10 minutos (Figura 4). A seguir foram adicionados 36 μ L de APTS (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo-Brasil) e mantidos em agitação por 24 h. Após esse período as Nano ZnO funcionalizadas passaram por um processo de lavagem com éter etílico P.A. PM 74,12 (Vetec, Rio de Janeiro, RJ-Brasil) e etanol P.A. PM 46,07 (Vetec, Rio de Janeiro, RJ-Brasil) repetidas 3 vezes, alternadamente, em centrífuga a 5.550 rpm durante 30 minutos e, em seguida, deixadas em estufa a 45 °C por 24 h para secagem. O rendimento do processo foi de 82,2 mg de Nano ZnO funcionalizadas.

Figura 4 - Sistema da funcionalização das Nano ZnO montado com os banhos termostaticados de aquecimento a 50°C e refrigeração no condensador a 21°C.



Fonte: Própria

As partículas funcionalizadas obtidas foram caracterizadas por espectroscopia na

região do infravermelho.

4.3 Cimento resinoso ortodôntico

Compósitos resinosos para colagem de acessórios ortodônticos são semelhantes às resinas compostas restauradoras, mas com uma proporção bem distinta entre seus componentes, a fim de que obtenham características ideais para a sua utilização.

Foi empregado o cimento ortodôntico Transbond XT (3M Unitek, Monrovia, CA-EUA) (Figura 5) que, comercialmente, apresenta-se como pasta única, fotopolimerizável e de alta viscosidade. Segundo o fabricante a sua composição é de 70%-80% de partículas de quartzo silanizadas, 10%-20% de Bis-GMA – bisfenol A glicidil metacrilato, 5%-10% de Bisfenol A 2-hidroxietil eter dimetacrilato e menos de 2% de partículas de sílica silanizadas.

Figura 5 - Cimento ortodôntico Transbond XT



Fonte: Própria

4.4 Grupos e confecção dos corpos de prova

Foram realizadas incorporações das Nano ZnO (GRUPO 1) e das Nano ZnO funcionalizadas (GRUPO 2), nas concentrações, em peso, de 1%, 2%, 5% e 10%, ao

cimento ortodôntico Transbond XT, sendo a referência (grupo controle), o cimento Transbond XT não modificado (concentração de 0%). Cada grupo foi formado de 30 corpos de prova distribuídos igualmente entre o grupo controle e as diversas concentrações (Quadro 1).

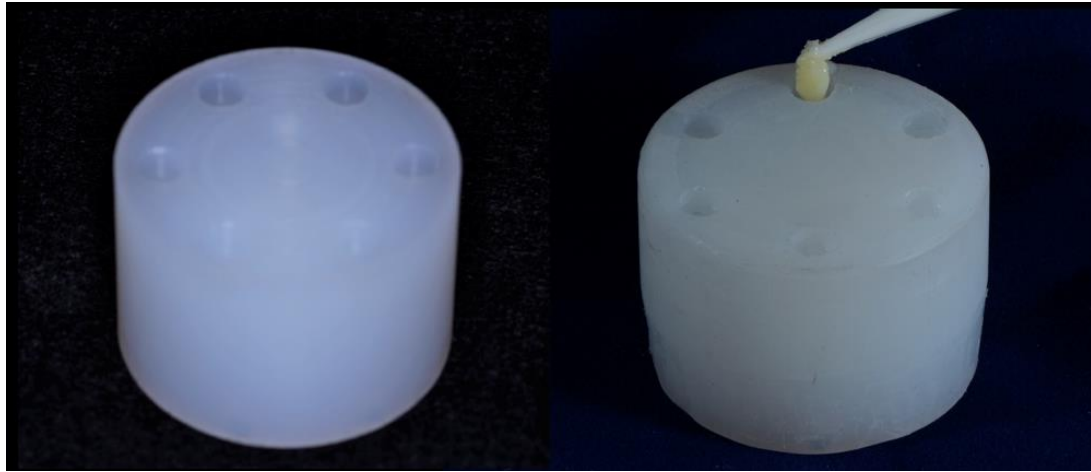
Quadro 1 - Divisão dos grupos e subgrupos dos corpos de prova

Grupos	Subgrupos	(n)
1 Nanopartículas	0%	6
	1%	6
	2%	6
	5%	6
	10%	6
2 Nanopartículas Funcionalizadas	0%	6
	1%	6
	2%	6
	5%	6
	10%	6

Fonte: Própria

Os corpos de prova de cada grupo foram confeccionados a partir de cinco matrizes de Technyl com 30 mm de altura e 20 mm de diâmetro, apresentando 6 perfurações com paredes paralelas e dimensões de 4 mm de diâmetro e 2 mm de altura (Figura 6a). A porção de cimento foi pesada em balança analítica (Shimadzu AY220, São Paulo, SP-Brasil) em seguida, adicionado o pó de Nano ZnO, na proporção correspondente à concentração da amostra, totalizando 100 mg da mistura. A aglutinação do pó ao cimento foi feita com espátula de plástico durante 15s, em papel não absorvente. O cimento incorporado foi imediatamente inserido na matriz com a espátula em incremento único (figura 6b).

Figuras 6a e 6b – a) Matriz em Technyl, com 6 orifícios cilíndricos. b) Confeção do corpo de prova com cimento incorporado na matriz de Technyl

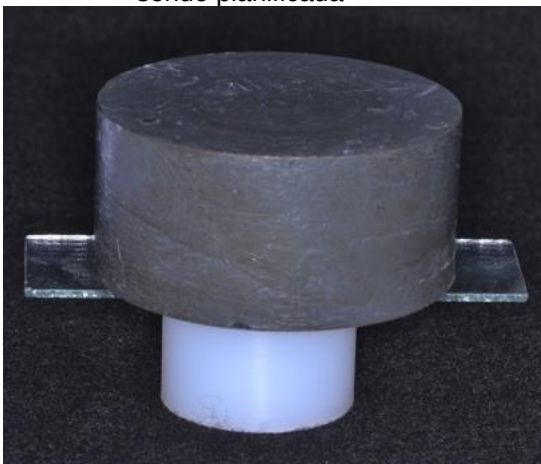


Fonte: Própria

A porção foi então planificada com tira de poliéster, lamínula de vidro e mantida sob um peso de 500 g durante 30 s. (Figura 7).

Após retirado o peso e a lamínula de vidro, o compósito foi fotoativado por 40 s com aparelho fotopolimerizador LED Emitter D (Schuster, Santa Maria, RS-Brasil), com intensidade luminosa de 1.000 mW/cm^2 medido em radiômetro RD7 (Ecel, Ribeirão Preto, São Paulo-SP) (Figura 8).

Figura 7 - Matriz com espécimes de resina sendo planificada



Fonte: Própria

Figura 8 - Aparelho fotopolimerizador LED Emitter D



Fonte: Própria

Para permitir um correto e padronizado distanciamento entre a fonte de luz e a resina, foram utilizados anéis posicionadores com espessuras de 3 mm e com abertura interna similar ao diâmetro da ponteira do aparelho fotopolimerizador (Figura 9).

Após a realização da fotoativação (Figura 10), os espécimes foram separados e armazenados num ambiente escuro durante 24 h.

Figura 9 – Anel posicionador de 3mm de espessura



Fonte: Própria

Figura 10 - Fotoativação do espécime



Fonte: Própria

4.5 Caracterização dos Grupos 1 e 2

Foram realizados testes de microdureza e do grau de conversão nas amostras dos Grupos 1 e 2 a fim de caracterizar os efeitos da incorporação das Nano ZnO e das Nano ZnO funcionalizadas ao cimento, em suas diferentes concentrações.

4.5.1 Teste de Microdureza

Essa etapa do trabalho foi realizada no Laboratório Multiusuário de Materiais, do Instituto de Física da UFMS.

Aguardado o período de 24 h, os espécimes passaram por um polimento mecânico em polidora politriz (Struers Tegrapol-11, Ballerup-Dinamarca) (Figura 11) com lixas d'água (Norton, Guarulhos, SP-Brasil) em sequência de granulação 600 (30s), 1200 (60s) e 2000 (120s), com carga de 10 N e rotação de 150 RPM.

As amostras foram lavadas a cada troca de lixa com água deionizada em ultrassom (Embrasol Tec, Itanhaém, SP-Brasil) com frequência de 25KHz, durante 10 min, para impedir que os grãos das primeiras lixas interferissem na qualidade do polimento das seguintes. Ao final do polimento, os blocos foram novamente limpos, por 10 min no ultrassom.

O teste de microdureza foi realizado, nas amostras preparadas dos grupos 1 e 2, em equipamento microdurômetro (HMV 2000 Shimadzu, Osaka, Japão) (Figura 12), e utilizado um penetrador diamantado piramidal, tipo Knoop, com carga de 50g e tempo de penetração de 30s. Foram obtidas 5 medições realizadas na superfície de cada corpo de prova, sendo uma central (definida pela luz guia do aparelho) e outras quatro a aproximadamente 100 µm de distância desta (Figura 13).

Os resultados da dureza Knoop foram obtidos automaticamente pelo software do equipamento através do cálculo da seguinte equação: $KHN = C \cdot c / d^2$ onde: KHN= valor de dureza Knoop; $C = 14,230$; c = carga 50 g; d = comprimento da maior diagonal da impressão.

Após a obtenção das cinco impressões, foi realizada uma média com os valores encontrados e determinado o número resultante da dureza Knoop para cada espécime.

Figura 11 - Polidora politriz Struers Tegrapol-11



Fonte Própria

Figura 12 - Microdurômetro HMV 2000 Shimadzu



Fonte própria

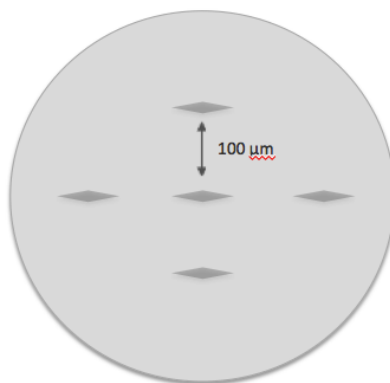


Figura 13 - Esquema de localização das identações em cada corpo de prova

4.5.2 Teste do Grau de Conversão

Essa etapa do trabalho foi realizada no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (UTF) da UFMS.

Para o teste de Grau de Conversão (GC) foram utilizadas as mesmas amostras do teste de microdureza. Cada amostra foi moída em um gral e pistilo de ágata, reduzindo-se a um pó fino. Utilizou-se 1 mg do pó da resina, misturada com 50 mg de brometo de potássio (KBr) em pó 99% (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). O KBr é um sal altamente purificado que é misturado ao material por ser uma substância inerte ao infravermelho (transparente ao infravermelho), não introduzindo nenhuma linha no espectro da amostra. A mistura foi novamente masserada e uniformizada até ser prensada em um pastilhador manual (Figura 14) durante 2 min, obtendo-se uma pastilha translúcida. Para análise do GC do cimento, foram realizadas medidas de espectroscopia na região do infravermelho em espectrofotômetro com transformada de Fourier FT-IR (Figura 15). Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos pela variável de absorbância com as especificações de 100 varreduras para cada espectro, resolução 4 cm^{-1} e intervalo de frequência entre 1800 cm^{-1} a 1400 cm^{-1} .

Figura 14 - Pastilhador Manual



Fonte: Própria

Figura 15 - Espectrofotômetro infravermelho de FT-IR Nicolet iS5



Fonte: Própria

Para obtenção da porcentagem do GC foi utilizada a seguinte equação (PIANELLI et al., 1999):

$$\text{GC (\%)} = 100 * [(R_{\text{polímero}} / R_{\text{monômero}})]$$

$$\text{Onde } R_{\text{polímero}} = \text{Área da banda } 1637\text{cm}^{-1} / \text{Área da banda } 1608\text{ cm}^{-1}$$

$$R_{\text{monômero}} = \text{Área da banda } 1637\text{ cm}^{-1} / \text{Área da banda } 1608\text{ cm}^{-1}$$

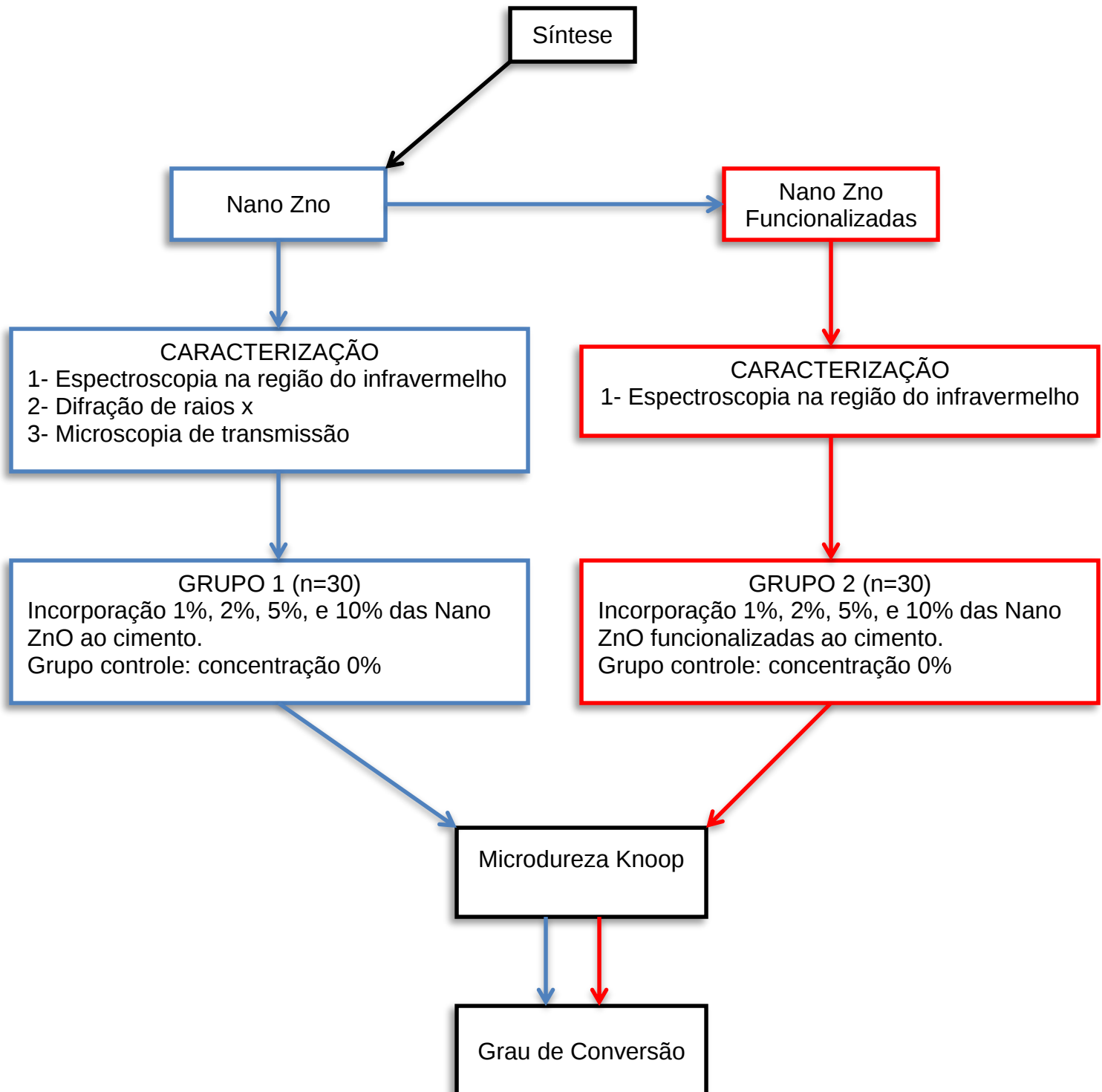
O GC é determinado pela quebra das ligações duplas de carbono-carbono alifáticas e a permanência das ligações duplas de carbono-carbono aromáticas. A ligação dupla carbono-carbono alifática ($\text{C}=\text{C}$) possui característica de absorção do infravermelho próxima a 1637 cm^{-1} enquanto a ligação dupla aromática de carbono-carbono ($\text{C}=\text{C}$) possui valor de absorção situado próximo a 1608 cm^{-1} . Para cálculo da área das bandas (R) foi utilizado o Software Origin 9.0 (OriginLab Corporation, Northampton - MA, EUA) e obtida a partir do cálculo de sua integral antes e depois da fotoativação.

4.6 Análise Estatística

A avaliação do efeito da concentração e da funcionalização das Nano ZnO, bem como da interação entre estes fatores, em relação à microdureza e ao grau de conversão dos corpos de prova, foi realizada por meio do teste ANOVA de duas vias seguido pelo pós-teste de Tukey. A avaliação da correlação entre a microdureza e o grau de conversão dos corpos de prova foi realizado por meio do teste de correlação linear de Pearson. Os demais resultados deste estudo são apresentados na forma de estatística descritiva e na forma de tabelas e gráficos. A análise estatística foi realizada por meio do programa estatístico SigmaPlot, versão 12.5 (Systat Software Inc, San Jose, Califórnia-EUA) considerando um nível de significância de 5% (ROWE, 2007).

Na ilustração Fuxograma 1 podemos visualizar o delineamento de toda pesquisa realizada neste trabalho.

Fluxograma 1 – Delineamento da pesquisa.



Fonte: Própria

5 RESULTADOS

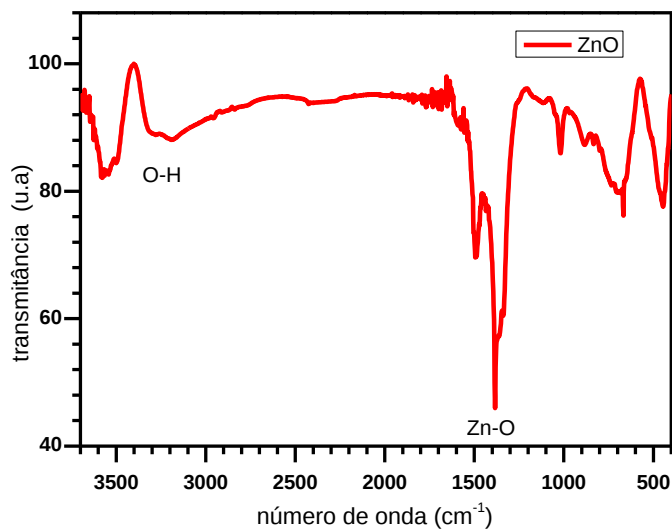
5.1 Caracterização das nanopartículas de óxido de zinco

As Nano ZnO foram sintetizadas pelo método de microemulsão inversa no Laboratório de Química, do Instituto de Química da UFMS e caracterizadas pelas técnicas de Espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

5.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho

A figura 16 apresenta o espectro na região do infravermelho, mostrando bandas características do estiramento da ligação Zn-O (1.400 cm^{-1}) e O-H de superfície (3500 cm^{-1}) confirmando a composição do óxido. A ausência de bandas dos compostos orgânicos mostra a eficiência nas lavagens.

Figura 16 - Espectro obtido na análise das nanopartículas

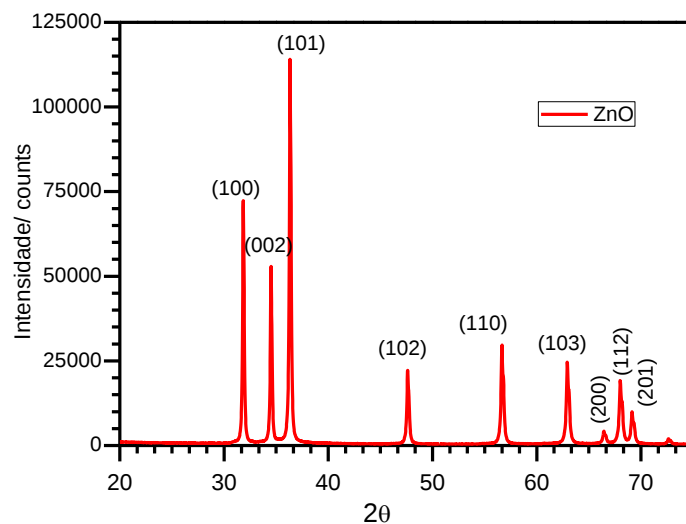


Fonte: Própria

5.1.2 Difração de Raios X

A figura 17 apresenta o difratograma de raios X da amostra sintetizada apresentando os índices de Miller (100), (002) e (101) com valores 31,85; 34,55 e 36,36 respectivamente, onde é possível observar que a fase obtida foi a Zincita (PDF 01-075-1526), com estrutura cristalina do tipo wurtzita, característica do ZnO.

Figura 17 - Difratograma de raios X obtido a partir da análise das nanopartículas ZnO

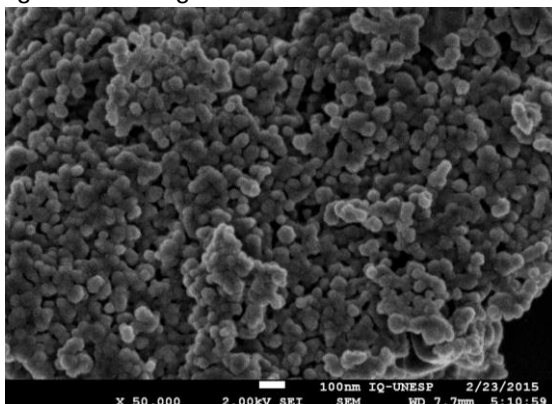


Fonte: Própria

5.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

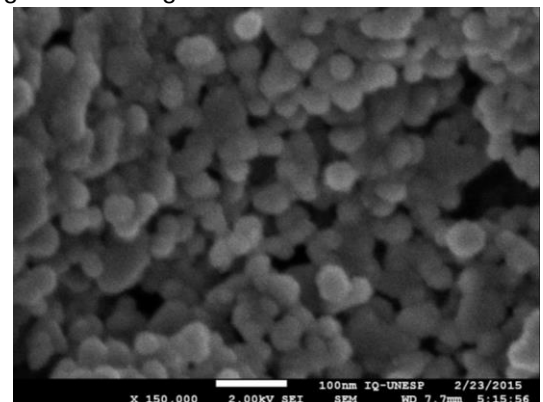
As imagens obtidas pela MEV (figuras 18 e 19) mostram que a morfologia das nanopartículas é esférica com um diâmetro médio de 40 nm.

Figura 18 - Imagem em 50.000X das Nano ZnO



Fonte: Própria

Figura 19 - Imagem em 150.000X das Nano ZnO



Fonte: Própria

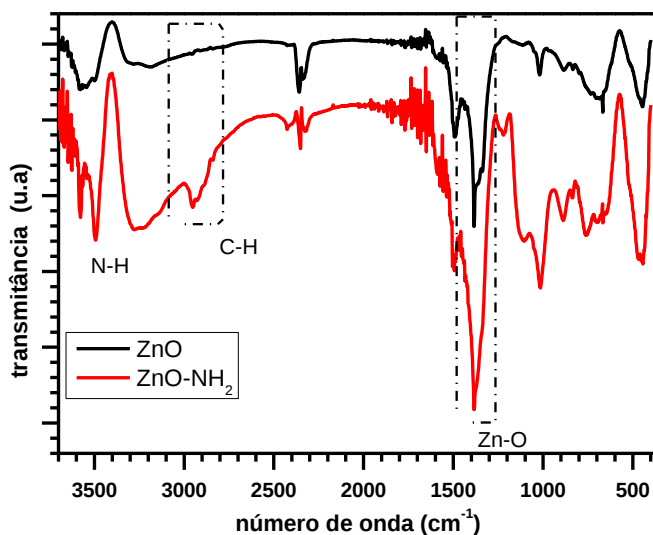
A caracterização estrutural e morfológica indicou que o ZnO sintetizado por microemulsão inversa foi obtido com sucesso, possuindo uma estrutura de wurtzita e morfologia esférica, com um tamanho médio da partícula de 40 nm

5.2 Caracterização da funcionalização das nanopartículas de óxido de zinco

A superfície das Nano ZnO foram funcionalizadas com o agente acoplador 3-aminopropiltietoxisilano ($C_9H_{23}NO_3Si$).

A figura 20 apresenta o gráfico onde a funcionalização é confirmada por espectroscopia na região do infravermelho que apresentou picos característicos das deformação axial da amina N-H em 3350cm^{-1} e C-H em 2950cm^{-1} .

Figura 20 - Espectro obtido na análise das nanopartículas funcionalizadas



Fonte: Própria

5.3 Microdureza

As amostras dos Grupos 1 e 2 foram caracterizadas por meio do teste de microdureza de Knoop.

Nas Figuras 21 a 25, obtidas no microscópio do aparelho microdurômetro e relacionadas abaixo, com aumento de 40X, mostram o aspecto da superfície do

cimento modificado com Nano ZnO não funcionalizadas (Grupo 1). As partículas maiores são de sílica, do próprio cimento.

Figura 21 - Sem incorporação (0%) de Nano ZnO (40X)

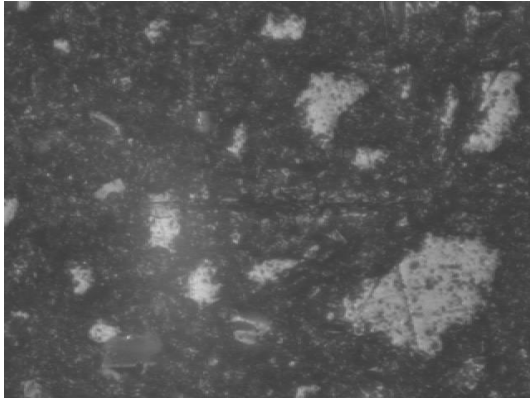


Figura 22 – Incorporação de 1% de Nano ZnO

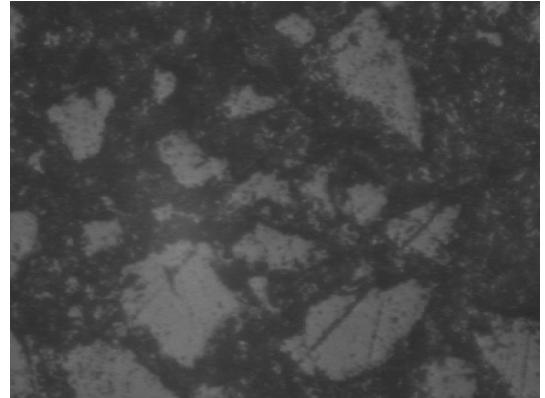


Figura 23 - Incorporação de 2% de Nano ZnO (40X)

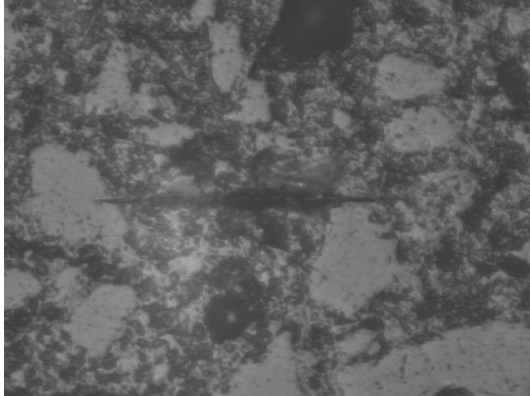


Figura 24 - Incorporação de 5% de Nano ZnO (40X)

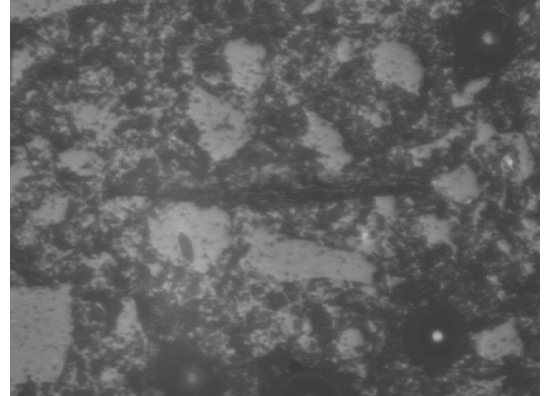
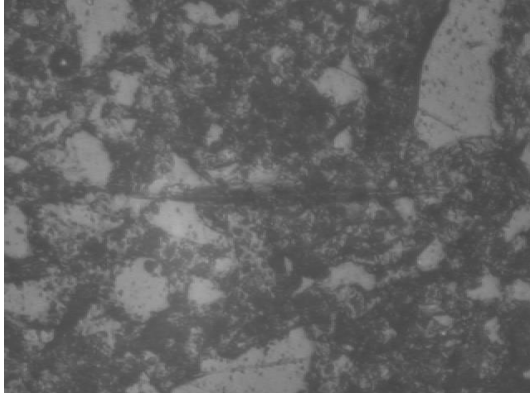


Figura 25 - Incorporação de 10% de Nano ZnO (40X)



Fonte: Própria

Nas Figuras 26 a 30, obtidas no microscópio do aparelho microdurômetro e relacionadas abaixo, com aumento de 40X, mostram o aspecto da superfície do cimento modificado com Nano ZnO funcionalizadas (Grupo 2).

Figura 26 - Sem incorporação (0%) de Nano ZnO (40X)

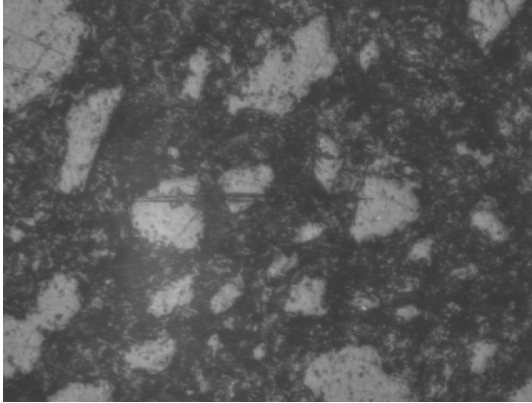


Figura 27 - Incorporação de 1% de Nano ZnO funcionalizadas (40X)

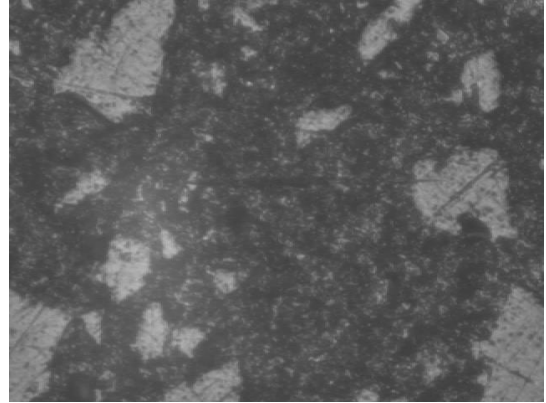


Figura 28 - Incorporação de 2% de Nano ZnO funcionalizadas (40X)

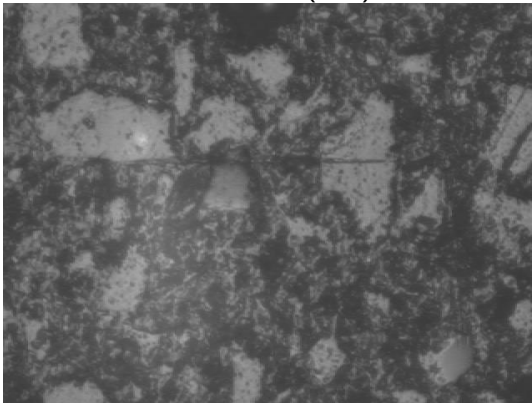


Figura 29- Incorporação de 5% de Nano ZnO funcionalizadas (40X)

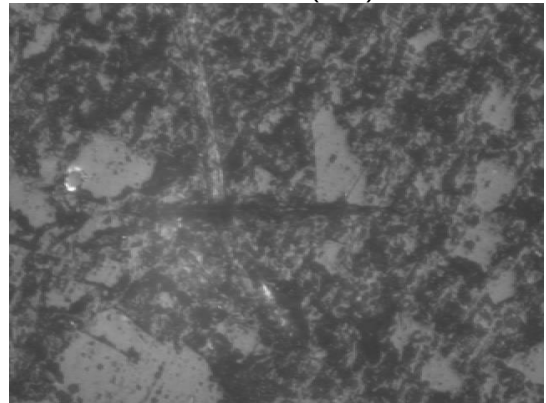
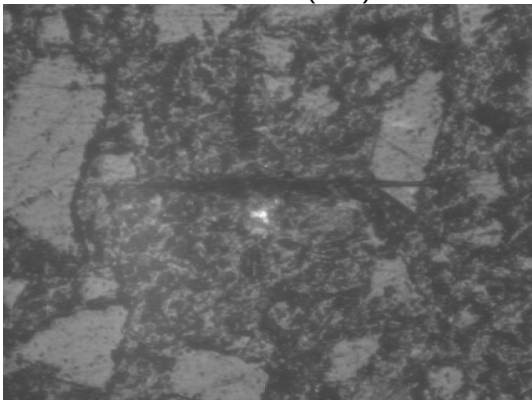


Figura 30 - Incorporação de 10% de Nano ZnO funcionalizadas (40X)



Fonte: Própria

As medidas de microdureza foram obtidas em unidades KHN (Knoop Hardness Number). Em seguida, foram calculadas as médias de microdureza das 5 medidas realizadas na superfície de cada corpo de prova para a realização dos testes estatísticos.

No apêndice A estão apresentados todos os valores obtidos nas 5 medições realizadas nos corpos de provas dos Grupos 1 e 2.

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados referentes à microdureza dos corpos de prova, de acordo com a concentração de Nano ZnO incorporadas ao cimento resinoso, funcionalizadas ou não.

Na análise geral dos resultados referentes à microdureza dos corpos de prova, houve um efeito significativo da concentração (teste ANOVA de duas vias, $p < 0,001$), não houve um efeito significativo da funcionalização ($p = 0,299$), porém houve uma interação significativa entre estes dois fatores ($p = 0,001$).

Entre os corpos de prova com Nano ZnO não funcionalizadas, a microdureza dos corpos de prova na concentração 0% foi significativamente maior do que aquela observada nas demais concentrações (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$). O mesmo foi observado entre os corpos de prova com Nano ZnO funcionalizadas, onde a microdureza dos corpos de prova na concentração 0% foi significativamente maior do que aquela observada nas demais concentrações. Além disso, a microdureza dos corpos de prova na concentração de 1% foi significativamente maior do que aquela observada nas concentrações de 2%, 5% e 10% e a microdureza dos corpos de prova na concentração de 5% foi maior do que aquela observada na concentração de 2% (e 10% (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 1 - Resultados referentes à microdureza dos corpos de prova de acordo com a concentração e a funcionalização de Nano ZnO incorporadas à resina.

Concentração	Microdureza dos corpos de prova com Nano ZnO	
	Não funcionalizadas	Funcionalizadas
0%	207,07±9,74Aa	202,60±10,39Aa
1%	111,93±20,45Bb	134,47±19,14Ba
2%	109,79±8,42Ba	96,60±8,22CDa
5%	116,23±9,98Ba	112,03±6,52Ca
10%	107,52±5,51Ba	91,27±4,83Db

Os resultados estão apresentados em média±desvio padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença entre as concentrações. Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre nanopartículas não funcionalizadas e aquelas funcionalizadas (pós-teste de Tukey, $p<0,05$).

Na comparação entre os corpos de prova com nanopartículas não funcionalizadas e aquelas funcionalizadas, a microdureza dos corpos de prova com Nano ZnO funcionalizadas, na concentração de 1%, foi maior do que o daqueles com Nano ZnO não funcionalizadas (pós-teste de Tukey, $p<0,05$). Na concentração de 10%, ocorreu o inverso, ou seja, a microdureza dos corpos de prova com Nano ZnO não funcionalizadas foi maior do que o daqueles com Nano ZnO funcionalizadas ($p<0,05$).

Nas demais concentrações não houve diferença significativa entre os corpos de prova com Nano ZnO não funcionalizadas e aquelas funcionalizadas, em relação à microdureza dos corpos de prova (pós-teste de Tukey, $p>0,05$). Estes resultados estão ilustrados no Gráfico 1.

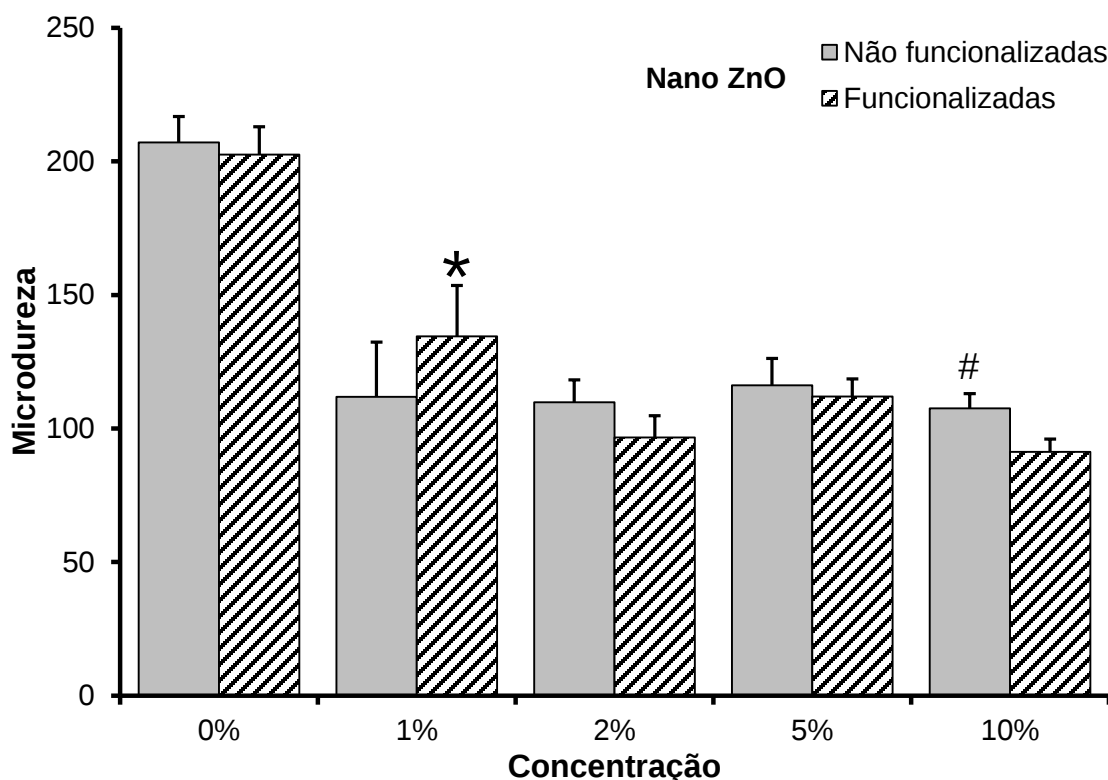


Gráfico 1 - Microdureza dos corpos de prova de acordo com a concentração e a funcionalização das Nano ZnO. Cada coluna representa a média e a barra o desvio padrão da média. * Diferença significativa em relação ao grupo com nanopartículas não funcionalizadas, na mesma concentração (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$); # Diferença significativa em relação ao grupo com nanopartículas funcionalizadas, na mesma concentração ($p < 0,05$).

5.4 Grau de Conversão (GC)

Os valores do GC foram determinados através da equação matemática do programa Origin versão 9.0 (OriginLab Corporation, Northampton, Massachusetts -EUA) dos resultados colhidos nos 30 corpos-de-prova. No Anexo B estão apresentados todos os dados obtidos na espectroscopia na região do infravermelho.

Os resultados estatísticos referentes ao GC dos corpos de prova, de acordo com a concentração de Nano ZnO incorporadas à resina, funcionalizadas ou não, estão apresentados na Tabela 2.

Na análise geral dos resultados referentes ao GC dos corpos de prova, houve um efeito significativo da funcionalização (teste ANOVA de duas vias, $p = 0,025$), um

efeito significativo da concentração ($p=0,031$) e uma interação entre estes dois fatores ($p<0,001$).

Entre os corpos de prova com Nano ZnO não funcionalizadas, não houve diferença entre as diferentes concentrações, em relação ao GC (pós-teste de Tukey, $p>0,05$). Por outro lado, entre os corpos de prova com Nano ZnO funcionalizadas, o GC dos corpos de prova na concentração de 2% foi significativamente maior do que aquela observada nas concentrações de 0%, 1% e 10% (pós-teste de Tukey, $p<0,05$).

Tabela 2 - Resultados referentes ao grau de conversão dos corpos de prova de acordo com a concentração e a funcionalização de Nano ZnO incorporadas à resina.

Concentração	Grau de conversão dos corpos de prova com Nano ZnO	
	Não funcionalizadas	Funcionalizadas
0%	70,78±0,28Aa	70,57±3,97Ba
1%	74,53±5,29Aa	73,02±5,16Ba
2%	69,16±1,83Ab	80,98±8,04Aa
5%	69,27±1,40Ab	74,66±3,58ABa
10%	71,60±1,07Aa	68,70±4,82Ba

Os resultados estão apresentados em média±desvio padrão da média. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença entre as concentrações. Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença significativa entre nanopartículas não funcionalizadas e aquelas funcionalizadas (pós-teste de Tukey, $p<0,05$).

Na comparação entre os corpos de prova com nanopartículas não funcionalizadas e aquelas funcionalizadas, o GC dos corpos de prova com Nano ZnO funcionalizadas, nas concentrações de 2% e 5%, foi maior do que o daqueles com Nano ZnO não funcionalizadas (pós-teste de Tukey, $p<0,05$).

Nas demais concentrações não houve diferença significativa entre os corpos de prova com Nano ZnO não funcionalizadas e aquelas funcionalizadas, em relação ao GC

dos corpos de prova (pós-teste de Tukey, $p > 0,05$). Estes resultados estão ilustrados no Gráfico 2.

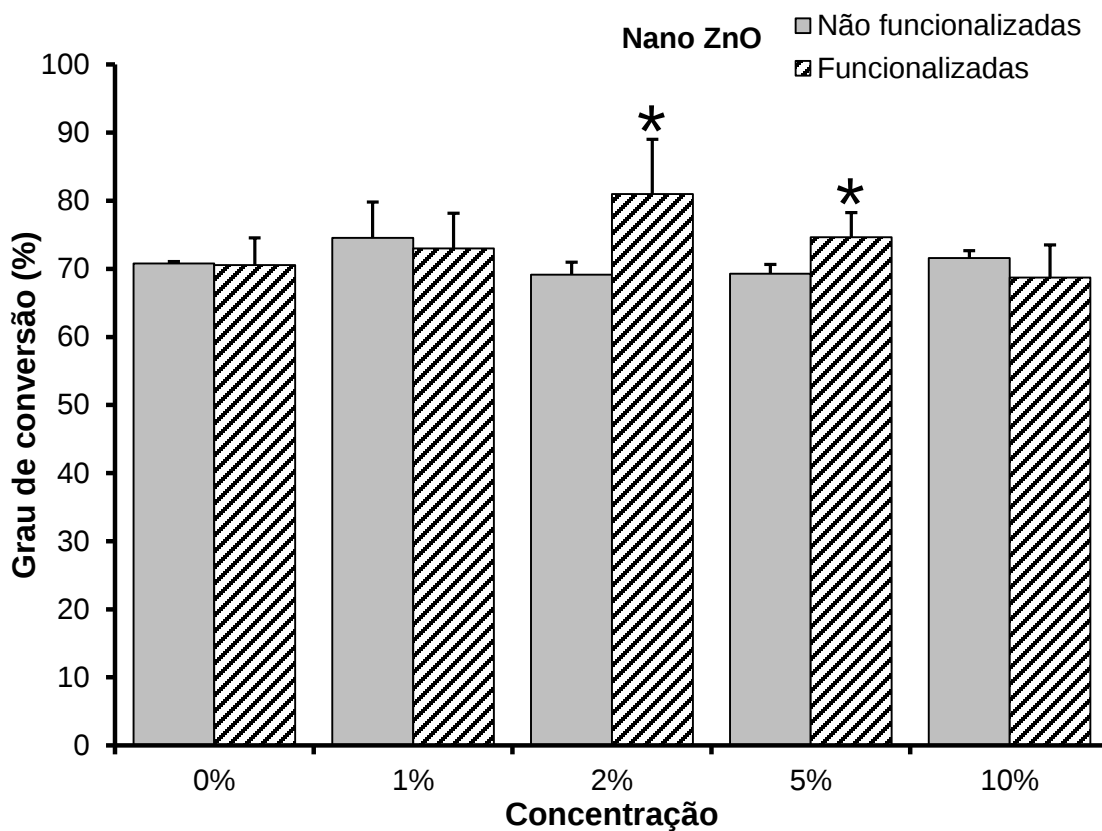


Gráfico 2 - Grau de conversão dos corpos de prova de acordo com a concentração e a funcionalização das Nano ZnO. Cada coluna representa a média e a barra o desvio padrão da média. * Diferença significativa em relação ao grupo com nanopartículas não funcionalizadas, na mesma concentração (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$).

Por fim, não houve correlação linear significativa entre a microdureza e o GC dos corpos de prova (teste de correlação linear de Pearson, $p = 0,085$, $r = 0,224$).

6 DISCUSSÃO

O emprego da nanotecnologia, por meio do uso de nanopartículas e materiais nanoestruturados, tem atraído o interesse da comunidade científica devido à sua aplicação biomédica e pela possibilidade de criar novos tipos de materiais. A incorporação de nanopartículas com ação antibacteriana em materiais odontológicos, como controladores na colonização bacteriana de biofilmes dentro da cavidade oral, está em contínua pesquisa, podendo trazer benefícios distintos para prevenir e controlar a cárie dentária (HAMOUDA et al., 2012; MELO et al., 2013; BELL, 2014). Uma prolongada propriedade antibacteriana de cimentos ortodônticos pode colaborar na redução da alta incidência de lesões de manchas brancas observadas em pacientes submetidos a tratamento ortodôntico (ØGAARD et al., 2001; BISHARA; OSTBY, 2008; MELO, 2012).

As Nano ZnO têm se destacado como um composto inorgânico com ampla ação antimicrobiana, além do mesmo ser seguro, biocompatível e não tóxico (JONES et al., 2008; HUANG et al., 2008; MELO et al., 2013).

Diversos estudos têm usado Nano ZnO adicionadas a materiais resinosos (SEVINÇ; HANLEY, 2010; HOJATI et al., 2013; KASRAEI et al., 2014). Em nosso estudo utilizou-se o Transbond XT, que é um cimento resinoso fotopolimerizável indicado especificamente para a colagem de acessórios ortodônticos e amplamente utilizado em estudos de resistência a descolagem. No entanto, a literatura tem pouca informação sobre a sua eficiência de cura (CERVEIRA et al., 2010) e dureza (AMATO et al., 2014).

Rao et al. (2011) destacaram que propriedades mecânicas ou o comportamento de polimerização, por exemplo, não devem ser afetados com a incorporação de agentes ativos. Também deve ser assegurada a liberação desses agentes em uma quantidade eficaz e por um período de tempo prolongado, além de mostrar-se relevante o seu uso.

Pelos resultados apresentados na caracterização das nanopartículas, através do raios X, MEV e espectroscopia na região do infravermelho, a síntese realizada pela

técnica de microemulsão inversa mostrou-se eficiente na obtenção de Nano ZnO com estrutura cristalina do tipo Wurtzita, morfologia esférica e diâmetro na ordem de 40 nm (figuras 16, 17, 18 e 19), o que vai de encontro com Hingorani et al. (1993) e Sarkar et al. (2011).

Partículas inorgânicas não são facilmente dispersas em matrizes orgânicas o que pode dificultar uma distribuição homogênea no processo de incorporação das Nano ZnO no cimento ortodôntico, a menos que um agente dispersante seja utilizado. Para isso diversos autores têm relatado algumas formas de modificação da superfície das nanopartículas inorgânicas no sentido de favorecer sua compatibilidade com matrizes orgânicas (POSTHUMUS et al., 2004; MA et al., 2008; HONG et al., 2009; TANG et al., 2008; SUNDAR; PRAJAPATI, 2012; ABDOLMALEK et al., 2014), além de melhorar suas propriedades mecânica, óptica e eletrônica (KANGO et al., 2013).

A funcionalização das Nano ZnO obtidas neste estudo, pela interação com o agente acoplador aminopropiltrietoxisilano (APTS), e comprovada pela espectroscopia na região do infravermelho, apresentou picos característicos da deformação axial da amina N-H em 3350cm^{-1} e C-H em 2950cm^{-1} (figura 20). Esta funcionalização contribui na interação entre as partículas orgânicas e inorgânicas além de, possivelmente, melhorar o efeito antibacteriano das Nano ZnO pela atividade antibacteriana que o APTS apresenta (LEUNG et al., 2012).

Um cimento ortodôntico com propriedades mecânicas satisfatórias, além de atividade antibacteriana inquestionável, pode ser considerado como meta para uma aplicação clínica segura. O ZnO em escala nanométrica e com sua superfície modificada pelo APTS incorporado a um cimento ortodôntico pode ser o caminho para esse sucesso. Mas para chegarmos a esse objetivo muitas etapas devem ser trilhadas e a primeira delas, como objetivo deste trabalho, foi investigar até que ponto o mecanismo de polimerização do cimento poderia ser influenciado pela presença das Nano ZnO incorporadas. Para isso, a microdureza e o GC do cimento experimental foram avaliados.

O grau de polimerização de um material resinoso pode ser determinado por diferentes metodologias que incluem métodos diretos ou indiretos. Os métodos diretos determinam o GC de monômeros em polímeros por meio de espectroscopia na região

do infravermelho e Raman. O GC é uma análise bastante sensível para avaliar a profundidade e grau de polimerização do material (YOON et al., 2002). Por outro lado, os métodos indiretos envolvem, entre outros, a análise da microdureza utilizando teste de Vickers ou Knoop, sendo a dureza Knoop mais sensível às características da superfície de materiais resinosos (CERVEIRA, 2010; WANG et al., 2003).

No presente trabalho a caracterização do cimento com Nano ZnO incorporadas foi feito através da aplicação dos testes de microdureza de Knoop e o GC por meio de espectroscopia na região do infravermelho, para avaliarem o nível de alterações e comprometimentos no processo de polimerização do cimento modificado, nas diversas concentrações utilizadas.

Os níveis de microdureza encontrados nos corpos de prova, sofreram um efeito negativo significativo da quantidade de Nano ZnO incorporadas ($p < 0,001$). A microdureza na concentração 0% foi significativamente maior do que aquela observada nas demais concentrações ($p < 0,05$). Entre os corpos de prova com Nano ZnO incorporadas encontramos uma microdureza na concentração de 1% maior do que aquela observada nas concentrações de 2%, 5% e 10%. Durante o teste de microdureza a ponta de diamante é introduzida na superfície da massa de resina sendo que, devido aos vários constituintes e suas respectivas durezas, podem resultar em valores variados. Observa-se que o ZnO é um material relativamente macio, com dureza aproximada de 4,5 na escala Mohs enquanto o quartzo e a sílica possuem dureza próximo de 7. Desta forma, os resultados podem ser explicados pela quantidade de pó incorporada ao cimento interferindo diretamente na dureza superficial. A medida que se aumentou a concentração de Nano ZnO, os resultados de microdureza foram menores. Esta piora nos resultados de microdureza vai ao encontro com o trabalho de Spencer et al., em 2009, onde maiores concentrações de ZnO promoveram uma diminuição crescente na resistência ao cisalhamento nas concentrações testadas de 13% e 23,1% incorporadas ao cimento GC Fuji Ortho.

Na comparação entre os corpos de prova com nanopartículas não funcionalizadas e aquelas funcionalizadas, a microdureza dos corpos de prova com Nano ZnO funcionalizadas, na concentração de 1%, foi significativamente maior do que o daqueles com 1% de Nano ZnO não funcionalizadas ($p < 0,05$). Com o processo de

funcionalização infere-se que haja uma reação do grupo amina, modificador de superfície das Nano ZnO, com os grupos carboxílicos presentes no cimento resinoso Transbond XT. Este fato pode ser um fator de melhora na dureza superficial quando comparada às Nano ZnO não funcionalizadas.

Enfim, acreditamos que a funcionalização melhorou a polimerização e, conseqüentemente, a dureza do cimento em relação às Nano ZnO não funcionalizadas, quando na concentração de 1%. Contudo, de modo geral, a incorporação de Nano ZnO, funcionalizadas ou não, diminuíram os valores encontrados de microdureza em relação ao grupo controle.

Para análise do GC, a amostra utilizada no teste de microdureza foi triturada e uma pequena quantidade do pó foi coletado de modo a representar aquele espécime.

Neste estudo, a espectroscopia na região do infravermelho foi empregada como método direto de verificação do GC.

As propriedades físicas e mecânicas de resinas compostas são diretamente influenciadas pelo GC obtido após a polimerização (SOSTENA, 2009; RAHIOTIS, 2010; PURUSHOTHAMAN et al., 2015). O GC de um composto resinoso determina a quantidade de ligações duplas de carbono, presentes nos monômeros, que reagiram durante o processo de conversão em polímeros. Entretanto, sabe-se que essa conversão não atinge 100%, resultando na permanência de monômeros sem reagir (SOSTENA, 2009; RAHIOTIS, 2010; AMATO et al., 2014). Além disso, o GC de compósitos resinosos é um processo complexo afetado não só pelo conteúdo inorgânico presente no produto, mas também o tipo de monômero (ÇOREKÇI et al., 2011).

A profundidade de polimerização pode ser afetada em decorrência da transmissão da luz através do volume do material (TORRES, 2014). Por esse motivo, a espessura de 2mm foi eleita para o presente estudo, autores como Tsai et al. (2004) já comprovaram que espessuras acima desta dificultam a difusão da luz, impedindo que atinja porções mais profundas do material. Com isso, o grau de polimerização alcançado nas camadas mais distantes da fonte é inferior ao desejável. Utilizou-se ainda a mesma intensidade da luz para a polimerização dos corpos de prova (1.000 mW/cm^2), sendo empregado o dobro do tempo de polimerização (40s) indicado pelo

fabricante, controle da distância do ponto de luz (3mm), operador único e armazenamento em ambiente escuro por 24h para o fim da polimerização.

Assim como a microdureza, comparar o GC com outros trabalhos talvez não traga um parâmetro confiável já que muitas variáveis são encontradas tais como: tipo de fonte de luz, tempo de exposição, espessura dos corpos de provas testados, intensidade e espectro da radiação de luz e o tempo de armazenamento. Para Torres et al. (2014) resultados de dureza e GC são difíceis de comparar devido às diferenças metodológicas utilizadas nos estudos. Neste caso, torna-se mais interessante avaliar o comportamento dos materiais diante das variáveis encontradas em determinado estudo, do que propriamente os valores absolutos obtidos por essas variáveis pesquisadas.

Amato et al. (2014) encontraram um GC de 64% para o Transbond XT em amostras de 1,5 mm de espessura e Çorekçi et al. (2011) de 83% em amostras de 1 mm espessura. Assim, foi importante definirmos que o GC encontrado para os dois grupos controles (70,78% e 70,57%) estão dentro dos parâmetros descritos na literatura para materiais resinosos na ordem de 55% a 75%, (KAUPPI; COMBE, 2003; ÇOREKÇI et al., 2011; AMATO et al., 2014) e, a partir daí, avaliarmos os efeitos da incorporação das Nano ZnO e a funcionalização destas.

No presente estudo, no grupo das Nano ZnO não funcionalizadas, o GC das amostras não mostrou diferença significativa entre as diversas concentrações ($p > 0,05$). Hojati et al. (2013), usando Nano ZnO sem modificação de superfície, não observaram diferença significativa no GC dos grupos testados, afirmando que a adição de até 5% não afeta o GC nas amostras de resina que foram testadas com finas espessuras. Deste modo, a inserção destas nanopartículas foi inócua do ponto de vista de GC.

Entretanto, os resultados encontrados no grupo das Nano ZnO funcionalizadas alcançaram valores de GC significativamente maiores nas concentrações de 2% e 5% ($p < 0,05$), em relação às Nano ZnO não funcionalizadas. Para uso clínico, compósitos com elevado GC estão relacionados a melhores propriedades físico-químicas (SOSTENA, 2009; RAHIOTIS, 2010; ÇOREKÇI et al., 2011; AMATO et al., 2014). Assim, podemos supor que a adição de 2% de Nano ZnO funcionalizadas melhoraria as propriedades físico-químicas do cimento testado pois apresentou um GC de 80,98%. Podendo-se inferir que uma possível reação do grupo amina com os grupos

carboxílicos presentes no cimento Transbond XT, pode ter ocasionado uma menor quantidade de monômeros residuais livres após a polimerização melhorando o valor do GC. Dentro dessa perspectiva poderia supor-se que na concentração de 5% e 10% teríamos um valor maior de GC porém, um outro fator pode interferir no processo de polimerização que é a quantidade maior de pó incorporado ao cimento, o que reduziria a penetração da luz necessária para excitar o fotoiniciador em toda a extensão da amostra. Em concordância com Hojati et al. (2013) onde relataram que a incorporação de 1%, 2%, 3%, 4% e 5% de Nano ZnO, em resina restauradora, reduziu a profundidade de cura ($p < 0,05$) com o aumento de conteúdo de Nano ZnO, atribuindo essa redução à opacidade do ZnO.

Pela análise de variância (ANOVA 2 vias) houve uma interação significativa entre concentração e funcionalização para microdureza ($p=0,001$) e GC ($p<0,001$). Maiores concentrações de Nano ZnO pioraram os resultados de microdureza ($p<0,001$) e GC ($p=0,031$). A funcionalização possibilitou melhores resultados do GC ($p=0,025$) quando comparada às Nano ZnO não funcionalizadas. Enquanto que, para a microdureza não houve efeito significativo da funcionalização ($p=0,299$) .

Apesar disso, não houve uma correlação significativa entre a microdureza e o GC dos corpos de prova ($p=0,085$, $r=0,224$). Vale lembrar que DeWald e Ferracane (1987), embora tenham encontrado uma boa correlação entre microdureza e espectroscopia na região do infravermelho, concluíram que a espectroscopia seria mais bem indicada para avaliar o grau de polimerização da resina pois, a dureza determina uma propriedade da superfície da amostra, e não permitiria descrever o comportamento do volume do material.

Diante do exposto, a metodologia adotada na presente pesquisa possibilitou avaliar a qualidade da polimerização dos grupos testados em função da característica do pó de Nano ZnO, funcionalizadas ou não, e da quantidade incorporada, em diversas concentrações, através da análise do GC e da microdureza de Knoop em relação ao grupo controle do cimento Transbond XT sem alterações. Foi demonstrado que Nano ZnO com superfícies modificadas podem melhorar significativamente o GC do cimento ortodôntico quando incorporadas em pequenas concentrações. No entanto, os baixos valores encontrados na microdureza indicam a necessidade que novos estudos sejam

realizados para entender o impacto dessas nanopartículas na resistência do cimento, além da abrangência e durabilidade do seu efeito antibacteriano.

7 CONCLUSÕES

Baseado na metodologia, nos materiais utilizados e nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- a) A síntese e caracterização estrutural indicou nanopartículas de ZnO com estrutura de wurtzita e de morfologia esférica, com um tamanho médio de 40 nm;
- b) A funcionalização das Nano ZnO com APTS foi alcançada;
- c) A incorporação de Nano ZnO funcionalizadas nas concentrações de 2% e 5% melhoraram o GC do cimento experimental;
- d) Houve piora da microdureza em todas as concentrações utilizadas em relação ao grupo controle e;
- e) Não houve uma correlação significativa entre a microdureza e o GC.

REFERÊNCIAS

Abdolmaleki A, Mallakpour S, Borandeh S. Tailored functionalization of ZnO nanoparticle via reactive cyclodextrin and its bionanocomposite synthesis. *Carbohydr Polim.* 2014;103:32-37.

Ahn S, Lee S, Lim B, Nahm D. Quantitative determination of adhesion patterns of cariogenic streptococci to various orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofac.* 2007;132(6):815-21.

Ahn S, Lee S, Lim B, Kook J, Lim B. Experimental antimicrobial orthodontic adhesives using nanofillers and silver nanoparticles. *Dent Mater.* 2009a;25(2):206-13.

Ahn H, Ahn S, Lee S, Kim T, Nahm D. Analysis of surface roughness and surface free energy characteristics of various orthodontic materials. *Am J Orthod Dentofac.* 2009b;136(5):668-74.

Amato PAF, Marins RP, Cruz CAS, Capella MV, Martins LP. Time reduction of light curing: Influence on conversion degree and microhardness of orthodontic composites. *Am J Orthod Dentofac.* 2014;146(1):40-6.

Bell MF. Atividade antibacteriana de cimentos de ionômero de vidro modificados por nanopartículas de óxido de zinco [dissertação]. Araraquara: Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2014.

Benson PE, Shah AA, Millett DT, Dyer F, Parkin N, Vine RS. Fluorides, orthodontics and demineralization: a systematic review. *Br J Orthod*. 2005; 32(2):102-14.

Bergstrand F, Twetman S. A review on prevention and treatment of post-orthodontic white spot lesions – Evidence-based methods and emerging technologies. *Open Dent J*. 2011;5(1):158-62.

Bishara SE, Ostby AW. White Spot Lesions: Formation, Prevention, and Treatment. *Semin Orthod*. 2008;14(3):174-82.

Cerveira GP, Berthold TB, Souto AA, Spohr AM, Marchioro EM. Degree of conversion and hardness of an orthodontic resin cured with a light-emitting diode and a quartz–tungsten–halogen light. *Eur J Orthod*. 2010;32(1):83-6.

Chambers C, Stewart S, Su B, Sandy J, Ireland A. Prevention and treatment of demineralisation during fixed appliance therapy: a review of current methods and future applications. *Brit Dent J*. 2013;215(10):505-11.

Chatterjee R, Kleinberg I. Effect of orthodontic band placement on the chemical composition of human incisor plaque. *Arch Oral Biol*. 1979;24(2):97-100.

Çorekçi B, Malkoç S, Öztürk B, Gündüz B, Toy E. Polymerization capacity of orthodontic composites analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy. *Am J Orthod Dentofac*. 2011;139(4):e299-e304.

Delgado L. Avaliação da microdureza superficial de resinas compostas extraclaras fotopolimerizadas por luz Halógena e LEDs. Descrição das características dos aparelhos fotopolimerizadores [Dissertação]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2004.

DeWald JP, Ferracane JL. A comparison of four modes of evaluating depth of cure of light-activated composites. *J Dent Res*. 1987;66(3):727-30.

Enaia M, Bock N, Ruf S. White-spot lesions during multibracket appliance treatment: A challenge for clinical excellence. *Am J Orthod Dentofac*. 2011;140(1):e17-e24.

Faltermeier A, Burgers R, Rosentritt M. Bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* to orthodontic adhesives with various filler-volume fractions. *Am J Orthod Dentofac*. 2007;132(6):e15-e19.

Geiger AM, Gorelick L, Gwinnett AJ, Benson BJ. Reducing white spot lesions in orthodontic populations with fluoride rinsing. *Am J Orthod Dentofac*. 1992;101(5):403-7.

Gelhard TB, Arends J. Microradiography of in vivo remineralized lesions in human enamel II. *J Biol Buccale*. 1984;12(1):59-65.

Gorelick L, Geiger AM, Gwinnet AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod*. 1982;81(2):93-8.

Gomez JL, Tigli O. Zinc oxide nanostructures: from growth to application. *J Mater Sci*. 2013;48(2):612-24.

Grasset F, Saito N, Li D, Park D, Sakaguchi I, Ohashi N, Haneda H, Roisnel T, Mornet S, Duguet E. Surface modification of zinc oxide nanoparticles by aminopropyltriethoxysilane. *J Alloy Compd.* 2003;360(1-2):298-311.

Gwinnett JA, Ceen F. Plaque distribution on bonded brackets: a scanning electron microscope study. *Am J Orthod.* 1979;75(6):667-77.

Hamouda IM. Current perspectives of nanoparticles in medical and dental biomaterials. *J Biomed Res.* 2012;26(3):143-51.

Hingorani S, Pillai V, Multani MS, Shah DO. Microemulsion mediated synthesis of zinc-oxide nanoparticles for varistor studies. *Mat Res Bull.* 1993;28(12):1303-10.

Hojati ST, Alaghemand H, Hamze F, Babaki FA, Rajab-Nia R, Rezvani MB, Kaviani M, Atai M. Antibacterial, physical and mechanical properties of flowable resin composites containing zinc oxide nanoparticles. *Dent Mater.* 2013;29(5):495-505.

Hong RY, Li JH, Chen LL, Liu DQ, Li HZ, Zheng Y, Ding J. Synthesis, surface modification and photocatalytic property of ZnO nanoparticles. *Powder Technol.* 2009;189(3):426-32.

Huang Z, Zheng X, Yan D, Yin G, Liao X, Kang Y, Yao Y, Huang D, Hao B. Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria. *Langmuir.* 2008; 24(8):4140-44.

Jayalakshmi G, Saravanan K, Balasubramanian T. Impact of thiol and amine functionalization on photoluminescence properties of ZnO films. *J Lumin.* 2013;140(8):21-5.

Jones N, Ray B, Ranjit KT, Manna AC. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol Lett.* 2008;279(1):71-6.

Joshi P, Chakraborti S, Chakrabarti P, Haranath D, Shanker V, Ansari ZA, Singh SP, Gupta V. Role of surface adsorbed anionic species in antibacterial activity of ZnO quantum dots against *Escherichia coli*. *J Nanosci Nanotechnol.* 2009;9(11):6427-33.

Kango S, Kalia S, Celli A, Njuguna J, Habibi Y, Kumar R. Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic-inorganic nanocomposites - A review. *Prog Polym Sci.* 2013;38(8):1232-61.

Kasraei S, Sami L, Hendi S, Alikhani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restor Dent Endod.* 2014;39(2):109-14.

Kauppi MR, Combe EC. Polymerization of orthodontic adhesives using modern high-intensity visible curing lights. *Am J Orthod Dentofac.* 2003;124(3):316-22.

Khan ST, Al-Khedhairi AA, Musarrat J. ZnO and TiO₂ nanoparticles as novel antimicrobial agents for oral hygiene: a review. *J Nanopart Res.* 2015;17(6):1-16.

Leung YH, Chan CMN, Ng AMC, Chan HT, Chiang MWL, Djurisić AB, Ng YH, Jim WY, Guo MY, Leung FCC, Chan WK, Au DTW. Antibacterial activity of ZnO nanoparticles with a modified surface under ambient illumination. *Nanotechnol.* 2012;23(47):1-12.

Liu D, Wu W, Qiu Y, Yang S, Xiao S, Wang Q, Ding L, Wang J. Surface Functionalization of ZnO nanotetrapods with photoactive and electroactive organic monolayers. *Langmuir.* 2008;24(9):5052-59.

Lucchese A, Gherlone E. Prevalence of white-spot lesions before and during orthodontic treatment with fixed appliances. *Eur J Orthodont.* 2013;35(5):664-8.

Ma S, Shi L, Feng X, Yu W, Lu B. Graft modification of ZnO nanoparticles with silane coupling agent KH570 in mixed solvent. *J Shanghai Univ (English Edition).* 2008;12(3):278-82.

Matalon S, Slutzky H, Weiss EI. Antibacterial properties of 4 orthodontic cements. *Am J Orthod Dentofac.* 2005;127(1):56-63.

Maxfield BJ, Hamdan AM, Tufekçi E, Shroff B, Best AM, Lindauer SJ. Development of white spot lesions during orthodontic treatment: Perceptions of patients, parents, orthodontists, and general dentists. *Am J Orthod Dentofac.* 2012;141(3):337-44.

Melo MAS. Estudos do efeito anticárie de materiais odontológicos beneficiados por nanotecnologia [tese]. Fortaleza: Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará; 2012.

Melo MAS, Guedes SFF, Xu HHK, Rodrigues KA. Nanotechnology-based restorative materials for dental caries management. *Trends Biotechnol.* 2013;31(8):459-67.

Niu LN, Fang M, Jiao K, Tang LH, Xiao YH, Shen LJ, Chen JH. Tetrapod-like zinc oxide whisker enhancement of resin composite. *J Dent Res.* 2010;89(7):746-50.

Øgaard B, Rolla G, Arends J. Orthodontic appliances and enamel demineralization Part 1. Lesion development. *Am J Orthod Dentofac.* 1988;94(1):68-73.

Øgaard B, Larsson E, Henriksson T, Birkhed D, Bishara S. Effects of combined application of antimicrobial and fluoride varnishes in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofac.* 2001;120(1):28-35.

Øgaard B. White spot lesions during orthodontic treatment: mechanisms and fluoride preventive aspects. *Semin Orthod.* 2008;14(3):183-93.

Pianelli C, Devaux J, Bebelman S, Leloup G. The micro-Raman Spectroscopy, a useful tool to determine the degree of conversion of light-activated composite resins. *J Biomed Mater Res.* 1999;48(5):675-81.

Posthumus W, Magusin PCMM, Brokken-Zijp JCM, Tinnemans AHA, VanderLinde R. Surface modification of oxidic nanoparticles using 3-methacryloxypropyltrimethoxysilane. *J Colloid Interface Sci.* 2004; 269(1):109-16.

Purushothaman D, Kailasam V, Chitharanjan AB. Bisphenol A release from orthodontic adhesives and its correlation with the degree of conversion. *Am J Orthod Dentofac.* 2015;147(1):29-36.

Rahiotis C. Degree of cure and monomer leaching from orthodontic adhesive resins: In vitro and in vivo evidence. *Semin Orthod*. 2010;16(4):266-73.

Rao CVS, Vanajasan PP, Chandana VS. Scope of biomaterials in conservative dentistry and endodontics. *Trends Biomater Artif Organs*. 2011;25(2):75-8.

Rasmussen JW, Martinez E, Louka P, Wingett DG. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opin Drug Deliv*. 2010;7(9):1063-77.

Richter AE, Arruda AO, Peters MC, Sohn W. Incidence of caries lesions among patients treated with comprehensive orthodontics. *Am J Orthod Dentofac*. 2011;139(5):657-64.

Rowe P. *Essential statistics for the pharmaceutical sciences*. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd, 2007.

Sarkar D, Tikku S, Thapar V, Srinivasa RS, Khilar KC. Formation of zinc oxide nanoparticles of different shapes in water-in-oil microemulsion. *Colloids Surf A*. 2011;381(1):123-29.

Sawai J, Shoji S, Igarashi H, Hashimoto A, Kokugant T, Shimizu M, Kojima H. Hydrogen Peroxide as an antibacterial factor in zinc oxide powder slurry. *J Ferment Bioeng*. 1998; 86(5):521-2.

Sevinç BA, Hanley L. Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*. 2010;94(1):22-31.

Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, Hasan H, Mohamad D. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett.* 2015;7(3):219-42.

Sostena MMDS. Influência da umidade, temperatura e tempo de irradiação sobre propriedades físicas de resinas compostas usadas em ortodontia. [tese]. Ilha Solteira: Faculdade de Engenharia – Campus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2009.

Spencer CG, Campbell PM, Buschang PH, Caid J, Honeyman AL. Antimicrobial effects of zinc oxide in an orthodontic bonding agent. *Angle Orthod.* 2009;79(2):317-22.

Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir.* 2002;18(17):6679-86.

Sun T, Hao H, Hao W, Yi S, Li X, Li J. Preparation and antibacterial properties of titanium-doped ZnO from different zinc salts. *Nanoscale Res Lett.* 2014;9(1):1-11.

Sundar S, Prajapati VK. Drug targeting to infectious diseases by nanoparticles surface functionalized with special biomolecules. *Curr Med Chem.* 2012;19(19):3196-3202.

Tang E, Liu H, Sun L, Zheng E, Cheng G. Fabrication of zinc oxide/poly(styrene) grafted nanocomposite latex and its dispersion. *Eur Polym J.* 2007;43(10):4210-18.

Tang E, Tian B, Zheng E, Fu C, Cheng G. Preparation of zinc oxide nanoparticle via uniform precipitation method and its surface modification by methacryloxypropyltrimethoxysilane. *Chem Eng Comm.* 2008;195(5):479-91.

Tsai PCL, Meyers IA, Walsh LJ. Microhardness of composite resin cured with blue LED curing lights. *Dent Mater*. 2004;20(4):364-69.

Torres SAS, Silva GC, Maria DA, Campos WRC, Magalhães CS, Moreira AN. Degree of conversion and hardness of a silorane-based composite resin: Effect of light-curing unit and depth. *Oper Dent*. 2014;39(3):e137-e146.

Tufekci E, Dixon JS, Gunsolley JC, Lindauer SJ. Prevalence of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances. *Angle Orthod*. 2011;81(2):206-10.

Vilchis RJS, Hotta Y, Yamamoto K. Examination of six orthodontic adhesives with electron microscopy, hardness tester and energy dispersive X-ray microanalyzer. *Angle Orthod*. 2008;78(4):655-61.

Wang L, D'Alpino PHP, Lopes LG, Pereira JC. Mechanical properties of dental restorative materials: relative contribution of laboratory tests. *J Appl Oral Sci*. 2003;11(3):162-7.

Wang ZL. Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. *J Phys Condens Matter*. 2004;16(6):829-58.

Williams, DN, Ehrman, SH, Holoman TRP. Evaluation of the microbial growth response to inorganic nanoparticles. *J Nanobiotechnol*. 2006;4(1):3.

Wu YL, Tok AIY, Boey FYC, Zeng XT, Zhang XH. Surface modification of ZnO nanocrystals. *Appl Surf Sci*. 2007;253(12):5473-79.

Yamamoto O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Int J Inorg Mater*. 2001;3(7):643-6.

Yi GC, Wang C, Park WI. ZnO nanorods: synthesis, characterization and applications. *Semicond Sci Technol*. 2005;20(5):22-34.

Yoon TH, Lee YK, Lim BS, Kim W. Degree of polymerization of resin composites by different light sources. *J Oral Rehabil*. 2002;29(12):1165-73.

Zhou G, Li Y, Xiao W, Zhang L, Zuo Y, Xue J, Jansen JA. Synthesis, characterization, and antibacterial activities of a novel nanohydroxyapatite/zinc oxide complex. *J Biomed Mater Res Part A*. 2008;85(4):929-37.

Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Daskalakis N, Jeuken L, Povey M, O'Neill AJ, York DW. Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *J Nanopart Res*. 2010;12(5):1625-36.

APÊNDICE A Valores da microdureza

Planilha 1: Valores da microdureza dos corpos de prova do Grupo 1

0%	POSICAO	VALOR	1%	POSICAO	VALOR	2%	POSICAO	VALOR	5%	POSICAO	VALOR	10%	POSICAO	VALOR
N0.1	centro	233	N1.1	centro	112	N2.1	centro	117	N5.1	centro	92	N10.1	centro	110
	superior	215		superior	163		superior	121		superior	90,6		superior	108
	inferior	217		inferior	160		inferior	94,2		inferior	133		inferior	119
	direita	166		direita	167		direita	87,2		direita	155		direita	99,1
	esquerda	225		esquerda	144		esquerda	98		esquerda	144,4		esquerda	115
	Média	211,2		Média	149,2		Média	103,48		Média	123		Média	110,22
N0.2	centro	212	N1.2	centro	107	N2.2	centro	113	N5.2	centro	128	N10.2	centro	116
	superior	176		superior	139		superior	108		superior	117		superior	109
	inferior	219		inferior	112		inferior	123		inferior	112		inferior	117
	direita	227		direita	101		direita	93,6		direita	129		direita	95,8
	esquerda	265		esquerda	128		esquerda	140		esquerda	121		esquerda	128
	Média	219,8		Média	117,4		Média	115,52		Média	121,4		Média	113,16
N0.3	centro	189	N1.3	centro	91,1	N2.3	centro	91,6	N5.3	centro	100	N10.3	centro	114
	superior	194		superior	84,4		superior	129		superior	121		superior	102
	inferior	207		inferior	114		inferior	139		inferior	114		inferior	101
	direita	170		direita	136		direita	135		direita	83		direita	117
	esquerda	208		esquerda	116		esquerda	109		esquerda	106		esquerda	109
	Média	193,6		Média	108,3		Média	120,72		Média	104,8		Média	108,6
N0.4	centro	217	N1.4	centro	98,5	N2.4	centro	120	N5.4	centro	122	N10.4	centro	112
	superior	222		superior	93,6		superior	112		superior	109		superior	82,7
	inferior	214		inferior	132		inferior	83,5		inferior	124		inferior	101
	direita	207		direita	92,1		direita	84		direita	137		direita	99,7
	esquerda	189		esquerda	127		esquerda	98,5		esquerda	146		esquerda	95,2
	Média	209,8		Média	108,64		Média	99,6		Média	127,6		Média	98,12
N0.5	centro	243	N1.5	centro	89,6	N2.5	centro	91,6	N5.5	centro	86,8	N10.5	centro	114,5
	superior	171		superior	98		superior	137		superior	137		superior	105
	inferior	260		inferior	95,2		inferior	93,1		inferior	113		inferior	116
	direita	187		direita	86,3		direita	107		direita	132		direita	117
	esquerda	192		esquerda	92,1		esquerda	147		esquerda	117		esquerda	102
	Média	210,6		Média	92,24		Média	115,14		Média	117,16		Média	110,9
N0.6	centro	152	N1.6	centro	101	N2.6	centro	96,5	N5.6	centro	115	N10.6	centro	99,7
	superior	246		superior	100,8		superior	106		superior	92		superior	117
	inferior	138		inferior	98,5		inferior	97		inferior	89		inferior	110
	direita	253		direita	85,5		direita	119		direita	120		direita	94,7
	esquerda	198		esquerda	93,1		esquerda	103		esquerda	101		esquerda	99,1
	Média	197,4		Média	95,78		Média	104,3		Média	103,4		Média	104,1

Planilha 2: Valores da microdureza dos corpos de prova do Grupo 2

0%	POSICAO	VALOR	1%	POSICAO	VALOR	2%	POSICAO	VALOR	5%	POSICAO	VALOR	10%	POSICAO	VALOR
F0.1	centro	165	F1.1	centro	172	F2.1	centro	82	F5.1	centro	109	F10.1	centro	112
	superior	230		superior	139		superior	104		superior	122		superior	108
	inferior	212		inferior	175		inferior	93		inferior	119		inferior	89
	direita	187		direita	162		direita	114		direita	130		direita	75
	esquerda	186		esquerda	165		esquerda	87		esquerda	117		esquerda	94
	Média	196		Média	162,6		Média	96		Média	119,4		Média	95,6
F0.2	centro	170	F1.2	centro	161	F2.2	centro	117	F5.2	centro	115	F10.2	centro	92
	superior	185		superior	171		superior	122		superior	108		superior	87
	inferior	162		inferior	154		inferior	112		inferior	126		inferior	92
	direita	289		direita	134		direita	125		direita	129		direita	87
	esquerda	225		esquerda	144		esquerda	88		esquerda	128		esquerda	71
	Média	206,2		Média	152,8		Média	112,8		Média	121,2		Média	85,8
F0.3	centro	221	F1.3	centro	122	F2.3	centro	89	F5.3	centro	109	F10.3	centro	99
	superior	209		superior	121		superior	81		superior	139		superior	66
	inferior	196		inferior	147		inferior	135		inferior	106		inferior	105
	direita	176		direita	94		direita	96		direita	102		direita	108
	esquerda	219		esquerda	128		esquerda	77		esquerda	93		esquerda	115
	Média	204,2		Média	122,4		Média	95,6		Média	109,8		Média	98,6
F0.4	centro	189	F1.4	centro	97	F2.4	centro	90	F5.4	centro	100	F10.4	centro	90
	superior	219		superior	115		superior	87		superior	103		superior	84
	inferior	237		inferior	194		inferior	111		inferior	96		inferior	90
	direita	225		direita	112		direita	72		direita	115		direita	98
	esquerda	233		esquerda	148		esquerda	94		esquerda	118		esquerda	80
	Média	220,6		Média	133,2		Média	90,8		Média	106,4		Média	88,4
F0.5	centro	210	F1.5	centro	125	F2.5	centro	104	F5.5	centro	125	F10.5	centro	96
	superior	178		superior	101		superior	70		superior	112		superior	81
	inferior	196		inferior	122		inferior	72		inferior	104		inferior	82
	direita	210		direita	114		direita	98		direita	103		direita	101
	esquerda	193		esquerda	117		esquerda	112		esquerda	93		esquerda	90
	Média	197,4		Média	115,8		Média	91,2		Média	107,4		Média	90
F0.6	centro	175	F1.6	centro	120	F2.6	centro	89	F5.6	centro	108	F10.6	centro	90
	superior	223		superior	125		superior	94		superior	95		superior	96
	inferior	187		inferior	140		inferior	68		inferior	95		inferior	87
	direita	172		direita	110		direita	96		direita	112		direita	84
	esquerda	199		esquerda	119		esquerda	119		esquerda	132		esquerda	89
	Média	191,2		Média	122,8		Média	93,2		Média	108,4		Média	89,2

APÊNDICE B Valores da espectrometria na região do infravermelho

Palnilha 1: Valores da espectroscopia na região do infravermelho dos corpos de prova do Grupo 1

Valores da espectroscopia dos corpos de prova do Grupo 1: amostras 0% e 1%						
Grupos de Trabalho - Amostras	Comprimento da banda (cm ⁻¹)	Área da banda (cm ⁻¹)	Resina polimerizada 1638/1608	monomero	Resina monomero 1638/1608	GC%=(1638/1608 enzima pol)/1638/1608 enzima mon)*100
RESULT-NO-1	1608	27,75	0,3808	23,4594	0,5355	71,10216699
	1638	10,5662		12,5629		
RESULT-NO-2	1608	28,6882	0,3786	23,4594	0,5355	70,70164162
	1638	10,8619		12,5629		
RESULT-NO-3	1608	28,2826	0,3767	23,4594	0,5355	70,33499156
	1638	10,6528		12,5629		
RESULT-NO-4	1608	26,8574	0,3785	23,4594	0,5355	70,68548193
	1638	10,1664		12,5629		
RESULT-NO-5	1608	28,0581	0,3795	23,4594	0,5355	70,86115548
	1638	10,6473		12,5629		
RESULT-NO-6	1608	27,5411	0,3803	23,4594	0,5355	71,02379809
	1638	10,4751		12,5629		
RESULT-N1-1	1608	26,6118	0,3837	23,4594	0,5355	71,65009485
	1638	10,2109		12,5629		
RESULT-N1-2	1608	26,6383	0,3826	23,4594	0,5355	71,44141996
	1638	10,1913		12,5629		
RESULT-N1-3	1608	27,4859	0,3794	23,4594	0,5355	70,8525587
	1638	10,4289		12,5629		
RESULT-N1-4	1608	24,1001	0,3777	23,4594	0,5355	70,53228029
	1638	9,1029		12,5629		
RESULT-N1-5	1608	24,7913	0,4350	23,4594	0,5355	81,23511869
	1638	10,7849		12,5629		
RESULT-N1-6	1608	25,0179	0,4361	23,4594	0,5355	81,44055058
	1638	10,911		12,5629		

Valores da espectroscopia dos corpos de prova do Grupo 1: amostras 2% e 5%						
Grupos de Trabalho - Amostras	Comprimento da banda (cm ⁻¹)	Área da banda (cm ⁻¹)	Resina polimerizada 1638/1608	monomero	Resina monomero 1638/1608	GC%=(1638/1608 enzima pol)/1638/1608 enzima mon)*100
RESULT-N2-1	1608	25,5916	0,3751	23,4594	0,5355	70,04589609
	1638	9,5996		12,5629		
RESULT-N2-2	1608	27,9235	0,3504	23,4594	0,5355	65,42949806
	1638	9,784		12,5629		
RESULT-N2-3	1608	26,3053	0,3734	23,4594	0,5355	69,72635023
	1638	9,8223		12,5629		
RESULT-N2-4	1608	26,0714	0,3745	23,4594	0,5355	69,92716704
	1638	9,763		12,5629		
RESULT-N2-5	1608	25,3591	0,3743	23,4594	0,5355	69,8861968
	1638	9,4907		12,5629		
RESULT-N2-6	1608	24,0877	0,3746	23,4594	0,5355	69,94685327
	1638	9,0227		12,5629		
RESULT-N5-1	1608	26,3419	0,3739	23,4594	0,5355	69,82654284
	1638	9,8501		12,5629		
RESULT-N5-2	1608	26,6929	0,3729	23,4594	0,5355	69,63590714
	1638	9,9541		12,5629		
RESULT-N5-3	1608	24,427	0,3738	23,4594	0,5355	69,80700229
	1638	9,1315		12,5629		
RESULT-N5-4	1608	26,2403	0,3744	23,4594	0,5355	69,90903269
	1638	9,8237		12,5629		
RESULT-N5-5	1608	25,5578	0,3749	23,4594	0,5355	70,01505308
	1638	9,5827		12,5629		
RESULT-N5-6	1608	29,596	0,3558	23,4594	0,5355	66,43447061
	1638	10,5293		12,5629		

Valores da espectroscopia dos corpos de prova do Grupo 1: amostras 10%						
Grupos de Trabalho - Amostras	Comprimento da banda (cm ⁻¹)	Área da banda (cm ⁻¹)	Resina polimerizada 1638/1608	monomero	Resina monomero 1638/1608	GC%=(1638/1608 enzima pol)/1638/1608 enzima mon)*100
RESULT-N10-1	1608	27,5081	0,3840	23,4594	0,5355	71,70502167
	1638	10,5629		12,5629		
RESULT-N10-2	1608	27,7189	0,3807	23,4594	0,5355	71,09369052
	1638	10,5531		12,5629		
RESULT-N10-3	1608	27,8101	0,3795	23,4594	0,5355	70,8746478
	1638	10,5552		12,5629		
RESULT-N10-4	1608	26,3456	0,3814	23,4594	0,5355	71,21660085
	1638	10,0476		12,5629		
RESULT-N10-5	1608	27,2915	0,3803	23,4594	0,5355	71,01239843
	1638	10,3785		12,5629		
RESULT-N10-6	1608	28,9178	0,3947	23,4594	0,5355	73,69641192
	1638	11,4126		12,5629		

Planilha 2: Valores da espectroscopia dos corpos de prova do Grupo 2

Valores da espectroscopia dos corpos de prova do Grupo 2: 0% e 1%						
Grupos de Trabalho - Amostras	Comprimento da banda (cm ⁻¹)	Área da banda (cm ⁻¹)	Resina polimerizada 1638/1608	monomero	Resina monomero 1638/1608	GC%=(1638/1608 enzima pol)/1638/1608 enzima mon)*100
RESULT-FO-1	1608	26,1319	0,3899	23,4594	0,5355	72,804418
	1638	10,1883		12,5629		
RESULT-FO-2	1608	27,2574	0,3682	23,4594	0,5355	68,75072111
	1638	10,0354		12,5629		
RESULT-FO-3	1608	23,0722	0,4100	23,4594	0,5355	76,5558925
	1638	9,4589		12,5629		
RESULT-FO-4	1608	10,701	0,3487	23,4594	0,5355	65,10877473
	1638	3,7311		12,5629		
RESULT-FO-5	1608	25,7873	0,3833	23,4594	0,5355	71,58028199
	1638	9,8849		12,5629		
RESULT-FO-6	1608	27,3504	0,3676	23,4594	0,5355	68,6412079
	1638	10,0536		12,5629		
RESULT-F1-1	1608	26,7025	0,3826	23,4594	0,5355	71,44168793
	1638	10,2159		12,5629		
RESULT-F1-2	1608	25,874	0,3595	23,4594	0,5355	67,14006793
	1638	9,3029		12,5629		
RESULT-F1-3	1608	24,801	0,4374	23,4594	0,5355	81,66941366
	1638	10,8468		12,5629		
RESULT-F1-4	1608	29,1781	0,3713	23,4594	0,5355	69,33600588
	1638	10,834		12,5629		
RESULT-F1-5	1608	17,927	0,3896	23,4594	0,5355	72,76092715
	1638	6,9852		12,5629		
RESULT-F1-6	1608	21,1652	0,4056	23,4594	0,5355	75,74430396
	1638	8,5851		12,5629		

Valores da espectroscopia dos corpos de prova do Grupo 2: 2% e 5%						
Grupos de Trabalho - Amostras	Comprimento da banda (cm ⁻¹)	Área da banda (cm ⁻¹)	Resina polimerizada 1638/1608	monomero	Resina monomero 1638/1608	GC%=(1638/1608 enzima pol)/1638/1608 enzima mon)*100
RESULT-F2-1	1608	18,4267	0,4705	23,4594	0,5355	87,86553666
	1638	8,6704		12,5629		
RESULT-F2-2	1608	19,0427	0,3919	23,4594	0,5355	73,17936485
	1638	7,4626		12,5629		
RESULT-F2-3	1608	18,8504	0,4727	23,4594	0,5355	88,27599436
	1638	8,9112		12,5629		
RESULT-F2-4	1608	19,1127	0,4755	23,4594	0,5355	88,79188438
	1638	9,088		12,5629		
RESULT-F2-5	1608	20,0773	0,3979	23,4594	0,5355	74,30711816
	1638	7,9893		12,5629		
RESULT-F2-6	1608	19,3209	0,3935	23,4594	0,5355	73,48648645
	1638	7,6034		12,5629		
RESULT-F5-1	1608	18,5264	0,3889	23,4594	0,5355	72,63035466
	1638	7,2058		12,5629		
RESULT-F5-2	1608	17,7798	0,4331	23,4594	0,5355	80,86748384
	1638	7,6997		12,5629		
RESULT-F5-3	1608	19,40352	0,3920	23,4594	0,5355	73,20534023
	1638	7,6067		12,5629		
RESULT-F5-4	1608	20,8001	0,4025	23,4594	0,5355	75,15441187
	1638	8,3713		12,5629		
RESULT-F5-5	1608	21,1716	0,4053	23,4594	0,5355	75,67642459
	1638	8,58		12,5629		
RESULT-F5-6	1608	23,3555	0,3771	23,4594	0,5355	70,42150022
	1638	8,8078		12,5629		

Valores da espectroscopia dos corpos de prova do Grupo 2: 10%						
Grupos de Trabalho - Amostras	Comprimento da banda (cm ⁻¹)	Área da banda (cm ⁻¹)	Resina polimerizada 1638/1608	monomero	Resina monomero 1638/1608	GC%=(1638/1608 enzima pol)/1638/1608 enzima mon)*100
RESULT-F10-1	1608	28,4165	0,3786	23,4594	0,5355	70,68896415
	1638	10,7571		12,5629		
RESULT-F10-2	1608	28,1858	0,3756	23,4594	0,5355	70,13398583
	1638	10,586		12,5629		
RESULT-F10-3	1608	27,6769	0,3781	23,4594	0,5355	70,59974518
	1638	10,4639		12,5629		
RESULT-F10-4	1608	27,4285	0,3832	23,4594	0,5355	71,55841495
	1638	10,5108		12,5629		
RESULT-F10-5	1608	25,0557	0,3155	23,4594	0,5355	58,91377305
	1638	7,9049		12,5629		
RESULT-F10-6	1608	27,9256	0,3765	23,4594	0,5355	70,3066796
	1638	10,5141		12,5629		