



**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA**

**MARIANE APARECIDA PEREIRA**

**VIDRO BIOATIVO OBTIDO A PARTIR DA CASCA DE  
ARROZ FUNCIONALIZADO COM NANOPARTÍCULAS  
DE PRATA PRODUZIDAS POR ROTA BIOGÊNICA:  
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO**

**LAVRAS- MG**

**2021**

**MARIANE APARECIDA PEREIRA**

**VIDRO BIOATIVO OBTIDO A PARTIR DA CASCA DE ARROZ  
FUNCIONALIZADO COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA  
PRODUZIDAS POR ROTA BIOGÊNICA: SÍNTESE E  
CARACTERIZAÇÃO**

Monografia apresentada à  
Universidade Federal de  
Lavras, como parte das  
exigências do curso de  
Engenharia de Materiais,  
para obtenção do título de  
Bacharel.

Profa. Dra. Camila Soares Fonseca  
Orientadora  
Prof. Pós Dr. Juliano Elvis de Oliveira  
Co-orientador

**LAVRAS- MG  
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pereira, Mariane Aparecida.

Vidro bioativo obtido a partir da casca de arroz funcionalizado com nanopartículas de prata produzidas por rota biogênica : Síntese e Caracterização / Mariane Aparecida Pereira. - 2021.

47 p. : il.

Orientador(a): Camila Soares Fonseca.

Coorientador(a): Juliano Elvis de Oliveira.

TCC (graduação) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Resíduo Agroindustrial. 2. Biomateriais. 3. Tomilho. I. Fonseca, Camila Soares. II. Oliveira, Juliano Elvis de. III. Título.

**MARIANE APARECIDA PEREIRA**

**VIDRO BIOATIVO OBTIDO A PARTIR DA CASCA DE ARROZ  
FUNCIONALIZADO COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA  
PRODUZIDAS POR ROTA BIOGÊNICA: SÍNTESE E  
CARACTERIZAÇÃO**

**BIOACTIVE GLASS OBTAINED FROM THE RICE HUSK  
FUNCTIONED WITH SILVER NANOPARTICLES PRODUCED BY  
BIOGENIC ROUTE: SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION**

Monografia apresentada à  
Universidade Federal de  
Lavras, como parte das  
exigências do curso de  
Engenharia de Materiais,  
para obtenção do título de  
Bacharel.

APROVADA em 17 de março de 2021.

Dra. Camila Soares Fonseca, UFLA.

Pós Dr. Juliano Elvis de Oliveira, UFLA.

Pós Dr. Leonardo Sant'Ana Gallo, UFLA.

Profa. Dra. Camila Soares Fonseca  
Orientadora

Prof. Pós Dr. Juliano Elvis de Oliveira  
Co-orientador

**LAVRAS- MG**

**2021**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me guiado até aqui.

Aos meus pais, por dedicarem sua vida a realização dos meus sonhos.

Agradeço imensamente meus professores, especialmente, minha orientadora, por todo o conhecimento compartilhado, apoio e motivação.

Agradeço ao meu namorado, Kevin, por muitas vezes acreditar mais em mim do que eu mesma.

Agradeço aos amigos da minha cidade natal, Campo Belo, que mesmo com a distância e a correria do dia-a-dia nunca deixaram de se fazer presença, de compartilhar momentos e de me motivar nessa caminhada.

Agradeço especialmente à minha amiga de longos anos, Joice, que durante os 4 anos de faculdade dividiu, além do quarto, as inseguranças e felicidades do dia-a-dia.

Agradeço aos amigos que a faculdade me proporcionou conhecer, que estiveram diretamente ao meu lado no dia-a-dia, tornando mais fácil e divertida a vida universitária.

Agradeço especialmente à Laura, que foi minha dupla fiel durante todo o curso e que me sempre inspirou a seguir na Engenharia de Materiais.

Agradeço também à Ana Flávia por ajudar a fazer o período de estágio ser mais leve.

Agradeço ao Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

*“Existe uma coisa que uma longa existência me ensinou: toda a nossa ciência, comparada à realidade, é primitiva e inocente; e, portanto, é o que temos de mais valioso.” (Albert Einstein)*

## RESUMO

Dentre os resíduos agroindustriais, a casca de arroz se destaca pelo seu teor de sílica superior a 90%, principal óxido formador dos vidros bioativos. Este biomaterial apresenta bioatividade e promove a reparação de tecidos ósseos. Porém, durante a implantação podem haver contaminações, sendo interessante a incorporação de substâncias com propriedades bactericidas, como as nanopartículas de prata. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é a síntese de um vidro bioativo com potencial bactericida utilizando cinzas da casca de arroz (CCA) como fonte de sílica e uma rota biogênica a partir do extrato de tomilho para a síntese das nanopartículas de prata. A casca de arroz foi tratada com ácido oxálico e calcinada à 600 °C. Essa temperatura foi determinada a partir de um TGA/DTA e o pó calcinado foi submetido às análises DRX e FRX, comprovando-se a obtenção de sílica amorfa com 96% de pureza. A síntese do vidro bioativo se deu pelo método sol-gel e foi utilizada também uma fonte comercial de sílica, TEOS, para a produção de uma segunda amostra para efeito comparativo. A estrutura química das amostras foi avaliada por Espectrometria RAMAN e ambas apresentaram potencial bioativo. As nanopartículas de prata foram sintetizadas individualmente pela mistura de AgNO<sub>3</sub> com o extrato de tomilho e sua formação foi comprovada a partir de espectro UV-Vis. O pó vítreo foi adicionado à solução de formação das nanopartículas de prata. A estrutura morfológica e química das amostras foi avaliada antes e após a adição das nanopartículas através de MEV-EDS e FTIR-ATR. A amostra produzida a partir das CCA apresentou-se na forma de aglomerados porosos, enquanto a partir do TEOS, apresentou partículas na forma de bastonetes. As nanopartículas se depositaram na superfície das amostras, alterando sua rugosidade e sua incorporação foi comprovada por EDS. As ligações químicas da rede de sílica se mantiveram após a incorporação das nanopartículas, o que não compromete a relação das mesmas com a bioatividade do material. A análise microbiológica pelo teste de difusão em ágar, confirmou a ação inibitória de crescimento bacteriano das nanopartículas para as bactérias *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Logo, o material desenvolvido apresenta grande potencial para aplicações biomédicas em regeneração óssea com redução dos riscos de contaminação, sendo necessárias mais avaliações para sua total validação.

Palavras-chave: Tomilho. Antibacteriano. Sílica.

## LISTA DE SIGLAS

BVC	Vidro bioativo feito a partir da CCA
BVT	Vidro bioativo feito a partir do TEOS
CCA	Cinzas da Casca de Arroz
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DRX	Difração de Raios X
DTA	Análise Térmica Diferencial
EDS	Espectroscopia de Raios X por Dispersão em Energia
FRX	Fluorescência de Raios X
FTIR- ATR	Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NIST	National Institute of Standards and Technology
TEOS	Tetraetilortometassilicato
TGA	Termogravimetria
UV-VIS	Espectroscopia UV-Visível

## SUMÁRIO

1	Introdução.....	1
2	Qualificação do Problema.....	3
3	Objetivos e metas a serem alcançadas.....	4
3.1	Objetivo geral .....	4
3.2	Objetivos específicos.....	4
4	Revisão de literatura .....	5
4.1	Biocerâmicas .....	5
4.1.1	Vidros bioativos.....	6
4.2	Método Sol-gel .....	9
4.3	Casca de arroz.....	11
4.4	Ação Antimicrobiana de nanopartículas metálicas .....	12
4.5	Funcionalização de vidro bioativo com nanopartículas de prata.....	15
4.6	Síntese verde de nanopartículas .....	16
4.7	Extratos vegetais.....	18
5	Material e Métodos.....	20
5.1	Material.....	20
5.2	Métodos .....	20
5.2.1	Obtenção das cinzas da casca de arroz .....	21
5.2.2	Termogravimetria (TGA) e Análise Diferencial Térmica (DTA) para a casca de arroz (CCA) .....	21
5.2.3	Difração de Raios- X (DRX) para a CCA.....	22
5.2.4	Fluorescência de Raios-X (FRX) para a CCA.....	22
5.2.5	Síntese do vidro bioativo.....	22
5.2.6	Síntese biogênica das nanopartículas de prata.....	24

5.2.7	Espectroscopia RAMAN para as amostras de vidro bioativo.....	25
5.2.8	UV-Vis das nanopartículas de prata.....	25
5.2.9	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier com reflexão atenuada (FTIR-ATR) para as amostras produzidas.....	26
5.2.10	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) para as amostras produzidas.....	26
5.2.11	Microbiologia para a amostra de vidro bioativo a partir da cinza da casca de arroz (BVC).....	26
6	Resultados e discussão .....	28
6.1	Termogravimetria (TGA) e Análise Térmica Diferencial (DTA) para a Casca de arroz....	28
6.2	Difração de Raios-X (DRX) para a CCA .....	29
6.3	Fluorescência de Raios- X para a CCA.....	30
6.4	Síntese das amostras de vidro bioativo.....	30
6.5	Espectroscopia RAMAN para as amostras de vidro bioativo.....	31
6.6	Espectroscopia UV-Vis para as nanopartículas de prata.....	33
6.7	FTIR-ATR para as amostras produzidas.....	35
6.8	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Energia Dispersiva (EDS) para as amostras produzidas.....	37
6.9	Microbiologia para a amostra de vidro bioativo a partir da cinza da casca de arroz (BVC) .....	40
7	Conclusão .....	42
	Referências .....	43

## 1 Introdução

Biomateriais para implante no corpo humano são utilizados desde a antiguidade, mas com o avanço da ciência e da sua necessidade de uso foi desejado que, além da bioinércia e biocompatibilidade, os materiais também apresentassem bioatividade e bioreabsorbância (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Esse fato impulsionou o desenvolvimento de uma classe de biomateriais denominada de vidros bioativos, que apresenta essas características. A sua primeira formulação foi criada por Larry L. Hanch, na década de 60, através do Bioglass® 4S5S com a seguinte composição: 45% SiO<sub>2</sub>- 24,5% Na<sub>2</sub>O-24,5% CaO-6% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (%peso), na qual a sílica é o principal óxido formador deste material (MEDEIROS et al., 2017).

A sílica utilizada para a síntese de vidros bioativos geralmente, é obtida a partir do tetraetilortossilicato (TEOS). Uma fonte alternativa de menor custo para a obtenção da sílica amorfa, com teores superiores a 90%, é a casca de arroz (BAKAR; YAHYA; GAN, 2016; STOCHERO et al., 2017). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, a safra de arroz brasileira 2019/20 foi de 11,13 milhões de toneladas, sendo que cerca de 23% do peso total do arroz corresponde à casca e esta pode acumular até 15% em massa de sílica que fica armazenada, principalmente, nas cinzas (CONAB, 2020; FERNANDES; SABINO; ROSSETTO, 2014; STOCHERO et al., 2017). Portanto, a utilização da casca de arroz como matéria prima de novos materiais, como em biovidros, é uma alternativa interessante para a redução de custos e de impacto ambiental.

Diante dessa aplicação citada, um fator que deve ser levado em conta é a possibilidade de infecções durante a implantação do biomaterial que podem levar a sua rejeição. Em aproximadamente 90% dos implantes vários microrganismos patogênicos, principalmente *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, foram identificados (FERNANDES et al., 2017). Quando suspensos em solução aquosa, os vidros bioativos apresentam atividade antimicrobiana com a liberação de seus compostos iônicos ao longo do tempo, demonstrada por estudos *in vitro*, porém, *in vivo*, essa atividade é reduzida devido ao tamponamento do sistema (RIVADENEIRA; GORUSTOVICH, 2016).

Portanto, para o controle dessas contaminações faz-se o uso de substâncias bactericidas. Muitos antibióticos já foram retirados do mercado e a aprovação de novos vêm diminuindo devido à resistência bacteriana desenvolvida pelo uso indiscriminado dos mesmos (FERNANDES et al., 2017; MALEKI et al., 2014). Assim, têm-se descoberto novos materiais com potencial bactericida, como alguns metais – prata, ouro, cobre, titânio e zinco, e sua

utilização na escala nanométrica potencializa esse efeito devido à alta área superficial disponível para a exposição aos micróbios (AHMED et al., 2016). Dentre esses materiais, as nanopartículas de prata chamam a atenção devido às suas propriedades, como estabilidade química, antibacteriano catalítico, antiviral, antifúngico e atividades anti-inflamatórias que podem ser incorporadas a outros materiais (AHMED et al., 2016).

A síntese das nanopartículas geralmente se dá pelo método de redução química, que utiliza agentes redutores geralmente tóxicos, tornando seu descarte prejudicial ao ambiente (DUAN; WANG; LI, 2015). Para contornar essa questão foi desenvolvida a síntese verde, que utiliza extratos vegetais ou microrganismos como meios de produção das nanopartículas. Comparadas com as nanopartículas derivadas físico-quimicamente, as obtidas por rotas biogênicas estão livres de contaminação tóxica de subprodutos que se ligam às nanopartículas durante a síntese físico-química, o que propicia aplicações biomédicas (SINGH et al., 2016). Além disso, extratos vegetais são bastante conhecidos por suas propriedades antimicrobianas contra micróbios patogênicos e deteriorantes devido a sua composição química (GYAWALI; IBRAHIM, 2014). Pensando em aplicações odontológicas do vidro bioativo e em uma possível influência do extrato na atividade bactericida das nanopartículas, um exemplo interessante de extrato vegetal que pode ser utilizado na síntese é o obtido a partir do tomilho, pois, o seu principal componente, timol, é utilizado em exaguantes bucais, tendo eficiência já conhecida contra as bactérias dessa região (GYAWALI; IBRAHIM, 2014).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um vidro bioativo com potencial bactericida, utilizando casca de arroz como fonte de sílica para a produção do biovidro e uma rota biogênica a partir do extrato de tomilho para a síntese de nanopartículas de prata.

## 2 Qualificação do Problema

A casca de arroz é um resíduo agroindustrial de grande escala devido ao alto consumo do grão. Ela é descartada diretamente na natureza ou é reutilizada para geração de energia através da sua queima, o que também gera como resíduo suas cinzas. A composição química desses resíduos dificulta a biodegradação por bactérias, o que torna interessante a sua reutilização na fabricação de novos materiais com maior valor agregado, como em biomaterias, reduzindo o acúmulo desse material na natureza. Além da redução de custos, outra vantagem dessa reutilização advém da composição química da casca de arroz, que contém um alto teor de sílica, principal óxido formador dos vidros bioativos. Estes aceleram a regeneração óssea e possibilitam a integração de próteses com o osso, sendo aplicado na medicina e odontologia. Assim, seu mercado consumidor sempre está em manutenção, já que o tecido ósseo humano está constantemente sujeito a fraturas e o próprio envelhecimento leva ao seu desgaste e a falta de cálcio, o que acarreta doenças como a osteoporose e o reumatismo.

Porém, durante a implantação desse material pode haver o desenvolvimento de infecções bacterianas e a consequente rejeição do organismo. Além disso, o uso constante de antibióticos levou à imunidade do organismo humano a essas substâncias. Ou seja, antibióticos comuns não fazem o efeito desejado, sendo necessário a busca por novas substâncias antibacterianas, como as nanopartículas de prata. Estas, geralmente são sintetizadas a partir de reagentes químicos de alta toxicidade que trazem problemas ao meio ambiente quando descartados. Logo, o uso de rotas de síntese alternativas como a biogênica é um caminho interessante para contornar esse problema.

Quando as nanopartículas de prata são utilizadas com os vidros bioativos é possível somar o seu potencial antibacteriano à capacidade bioativa, reduzindo a probabilidade de contaminações e de rejeição do organismo ao implante.

### **3 Objetivos e metas a serem alcançadas**

#### **3.1 Objetivo geral**

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de um vidro bioativo com potencial bactericida, utilizando casca de arroz como fonte de sílica para a produção do biovidro e uma rota biogênica a partir do extrato de tomilho para a síntese de nanopartículas de prata.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Verificar a presença de sílica na composição química das cinzas da casca de arroz.

Avaliar a utilização das cinzas da casca de arroz na síntese de vidro bioativo em comparativo com o reagente comercial.

Avaliar a utilização do extrato de tomilho como meio reagente para a obtenção de nanopartículas de prata.

Analisar alterações químicas e morfológicas advindas da incorporação das nanopartículas de prata ao vidro bioativo.

## 4 Revisão de literatura

### 4.1 Biocerâmicas

Os biomateriais são materiais utilizados para reparar e reconstruir ossos e/ou tecidos vivos lesionados visando o rápido restabelecimento de suas funções fisiológicas e são aplicados em dispositivos biomédicos, materiais implantáveis, dispositivos para liberação de medicamentos, órgãos artificiais e curativos, etc. (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Eles são utilizados desde a antiguidade em suturas de linho e ouro e dentes artificiais feitos de conchas, ferro, ouro e madeira, porém, seu uso controlado teve início apenas no final do século XVIII em porcelanas para a confecção de coroas dentárias na Odontologia (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015; SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011).

Até, aproximadamente, a década de 50, a única condição desses materiais era que fossem bionertes e biocompatíveis para que tivessem uma mínima resposta biológica durante a substituição do tecido. Com o passar do tempo, a meta passou a desejar que eles apresentassem (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015):

- a) bioatividade, para um aumento da vida do implante pelo estabelecimento de ligações na interface do tecido do hospedeiro;
- b) biorreabsorbância, para a regeneração de um tecido funcional pela biodegradação do material que é absorvido pelo tecido do paciente;
- c) biomimetismo, que visa imitar os padrões biológicos naturais, para que os materiais implantados participem de forma ativa no processo de recuperação, atuando no tecido de forma específica, com estimulação a nível celular.

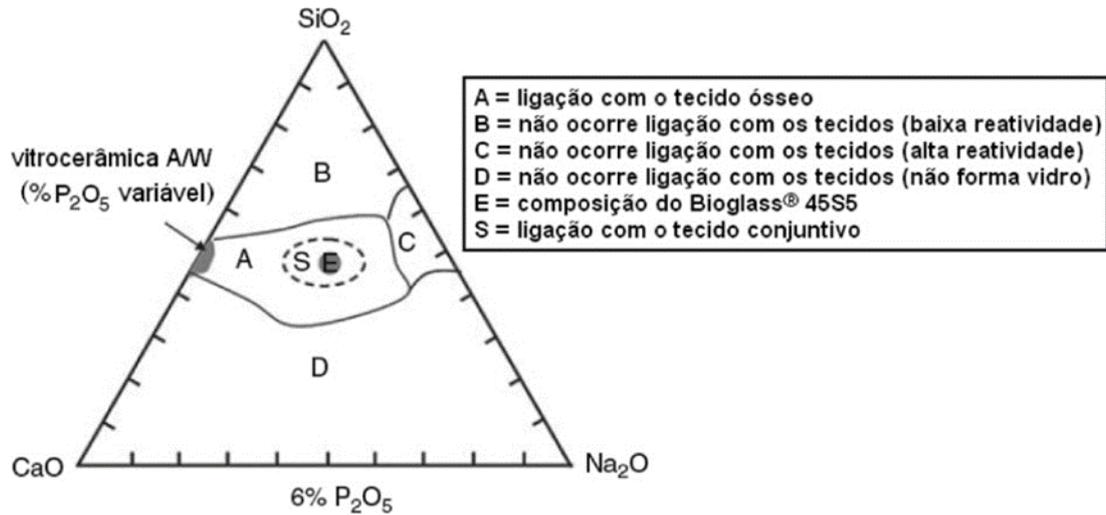
Dentro das classes de biomateriais estão as biocerâmicas, que são encontradas em instrumentos de diagnóstico, próteses ortopédicas, dispositivos para reconstrução odontológica e maxilo-facial, válvulas cardíacas, traqueias artificiais, enxertos para aplicações ortopédicas e odontológicas, matrizes porosas para a engenharia de tecidos e revestimentos bioativos em metais (DE SIQUEIRA et al., 2018). Elas podem ser bioinertes (Ex.:  $\text{Al}_2\text{O}_3$  e zircônia), bioativas (Ex.: hidroxiapatita e biovidros) e bioreabsorvíveis (Ex.: fosfato tricálcico e gesso) (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Biocerâmicas de alta biocompatibilidade e resistência mecânica foram desenvolvidas só depois de 1965, quando a primeira alumina densa ( $\alpha$ -  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) dedicada à reposição de articulações do quadril foi desenvolvida (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011). Também na década de 60, em 1969, aconteceu o advento da descoberta do biovidro por Larry Hench, o Bioglass<sup>®</sup> 45S5. O termo bioatividade foi

utilizado pela primeira vez para descrever a habilidade que esse material apresenta de se ligar fortemente ao tecido ósseo (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011).

#### **4.1.1 Vidros bioativos**

O Bioglass® 45S5 é um vidro bioativo feito a partir do sistema quartenário  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ , com concentração fixa de 6%  $\text{P}_2\text{O}_5$  (% peso) e composições delimitadas no centro do diagrama (Figura 1) para os outros componentes, para que tenha a capacidade bioativa de se ligar ao tecido ósseo. Sua composição inicial era de 45  $\text{SiO}_2$  – 24,5  $\text{CaO}$  – 24,5  $\text{Na}_2\text{O}$  – 6  $\text{P}_2\text{O}_5$  (% peso) (DE SIQUEIRA et al., 2018). Mudanças na composição interferem no processo de reabsorção do vidro bioativo no organismo, como pode ser observado na Figura 1, sendo que concentrações em massa de 52% a 60% de  $\text{SiO}_2$  resulta em taxas mais lentas de ligação com o tecido ósseo e, superiores a 60% não há formação de ligação com o tecido. No entanto, com o aumento da área superficial do material que pode ser conseguido tanto pelo seu processamento em diferentes morfologias e formas como também pela utilização de outra metodologia de síntese, como é o caso do processo sol-gel, esse intervalo de concentração de  $\text{SiO}_2$  pode ser estendido conservando-se elevados índices de bioatividade (LUKOWIAK et al., 2013). Atualmente, outras composições foram desenvolvidas para os vidros bioativos mantendo, de forma geral, natureza amorfa e variando-se a composição de óxidos formadores, modificadores e intermediários de rede, sendo  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$  e  $\text{B}_2\text{O}_3$  os principais formadores (ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Por exemplo, foram desenvolvidas composições sem a presença do  $\text{P}_2\text{O}_5$ , que ainda assim apresentaram bioatividade, já que íons de cálcio, sódio e fósforo também estão presentes na solução fisiológica do nosso corpo, o que possibilita a formação da camada de hidroxiapatita, conforme detalhado abaixo (JONES; EHRENFRIED; HENCH, 2006; NAYAK; KUMAR; BERA, 2010; PALAKURTHY et al., 2020; VERNÉ et al., 2001).

Figura 1 - Diagrama ternário SiO<sub>2</sub> - CaO-Na<sub>2</sub>O com quantidade fixa de 6% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (%peso) mostrando a relação entre a composição e a bioatividade.



Fonte: (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011).

O tecido ósseo é constituído basicamente de colágeno orgânico e hidroxiapatita carbonatada (HCA). Quando o vidro bioativo é implantado no paciente, forma-se uma camada de fosfato de cálcio amorfo que se cristaliza para formar a HCA devido a liberação de íons de Si, Ca, P e Na, responsável pela ligação com o tecido ósseo (YÜCEL et al., 2015). Ele também pode apresentar interação com o tecido conjuntivo, desde que a interface esteja imóvel e que os vidros tenham taxas rápidas de reação superficial. A formação da camada de HCA se dá em 5 estágios (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011):

1º: rápida troca de íons Na<sup>+</sup> e Ca<sup>2+</sup> da superfície do vidro com íons H<sup>+</sup> e H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> na solução, ocasionando aumento do pH e a formação de grupos silanol (Si-OH);

2º: sílica solúvel (SiO<sub>2</sub>) é liberada na forma de Si(OH)<sub>4</sub> para a solução devido à quebra das ligações siloxano (Si-O-Si) e da formação de grupos silanol (Si-OH) na interface;

3º: policondensação dos grupos silanol formando uma camada porosa rica em sílica na superfície do material já deficiente de cátions alcalinos e alcalino-terrosos (Na<sup>+</sup> e Ca<sup>2+</sup>);

4º: íons Ca<sup>2+</sup> e grupos (PO<sub>4</sub>)<sup>3-</sup> migram da superfície formando um filme rico em CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> que cresce de forma amorfa, quando a saturação da solução for atingida. A alta área superficial do filme rico sílica contribui energeticamente para a nucleação heterogênea do filme que continua crescendo pela incorporação adicional de cálcio solúvel e fosfatos da solução fisiológica;

5º: o filme amorfo é cristalizado pela incorporação de íons  $\text{OH}^-$  e  $\text{CO}_3^{2-}$  presentes na solução, dando origem à camada de hidroxiapatita carbonatada. O tamanho dos cristalitos formados tende a ser nanométrico, equivalente à fase cristalina do osso.

A presença de íons de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Na}^{2+}$  como modificadores de rede na estrutura geram uma grande quantidade de oxigênios não ponteantes (NBO), tornando esse material muito reativo, especialmente em soluções aquosas (TAVERI et al., 2021). De forma geral, quando os produtos da dissolução desses materiais entram em contato com os osteoblastos humanos induzem a formação do tecido ósseo. Além disso, o silício tem sido considerado o elemento químico de maior importância para a mineralização do tecido, através do estímulo para a formação de colágeno tipo I e do favorecimento da diferenciação celular envolvida no processo (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011). Em adição a excelente biocompatibilidade e habilidade de se ligar aos ossos, os vidros bioativos também promovem osteoindução, osteocondução, atividade enzimática, vascularização, mantém a adesão osteoblástica, além de regular o crescimento e a diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos (MEDEIROS et al., 2017).

A propriedade bioativa dos vidros bioativos é consequência da ausência de contornos de grão e defeitos cristalinos, que geralmente enfraquecem a resistência e favorecem a corrosão intergranular e sob tensão nos ambientes biológicos (SAPTAJI; GEBREMARIAM; AZHARI, 2018). Essa estrutura também gera baixa resistência mecânica, sendo que sua cristalização a partir de tratamentos térmicos contornaria essa limitação, mas, ela também tende a reduzir a bioatividade (GUIMARÃES et al., 2016; PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Ainda assim, pesquisadores desenvolveram o Biosilicato®, que possui cristalinidade próxima a 100% e elevada bioatividade, com módulo de elasticidade próximo ao do osso cortical (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011). Uma aplicação para essa vitrocerâmica seria para o tratamento da hipersensibilidade dentinária, devido à sua capacidade de selar os túbulos dentinários (WIĄCEK et al., 2018).

Os vidros bioativos são aplicados para reparo e regeneração óssea nas áreas de ortopedia, periodontia, reconstrução maxilo-facial, cirurgia da coluna vertebral e reconstruções otorrinolaringológicas. Além disso, eles podem ser utilizados na profilaxia (por exemplo, dentifrícios) para tratamento de sensibilidade dentinária devido a sua habilidade de remineralizar o esmalte dos dentes e no tratamento da cárie pelo efeito inibidor do crescimento de bactérias (efeito antibacteriano atribuído à sua natureza alcalina) (WIĄCEK et al., 2018).

A metodologia geralmente empregada na síntese de biovidros e vitrocerâmicas é a fusão,

porém, é crescente o estudo da síntese através do método sol-gel.

## 4.2 Método Sol-gel

O processo sol-gel permite a obtenção de materiais altamente homogêneos e quimicamente puros, utilizando temperaturas de processamento mais baixas do que as envolvidas nos métodos tradicionais de fusão de vidro ou de pós cerâmicos, evitando a evaporação de componentes voláteis (BAINO et al., 2018). Além disso, é um método que permite alta reprodutibilidade e pode ser facilmente adaptado de uma produção laboratorial para a larga escala (POLO; JUNOT; CALDAS, 2019).

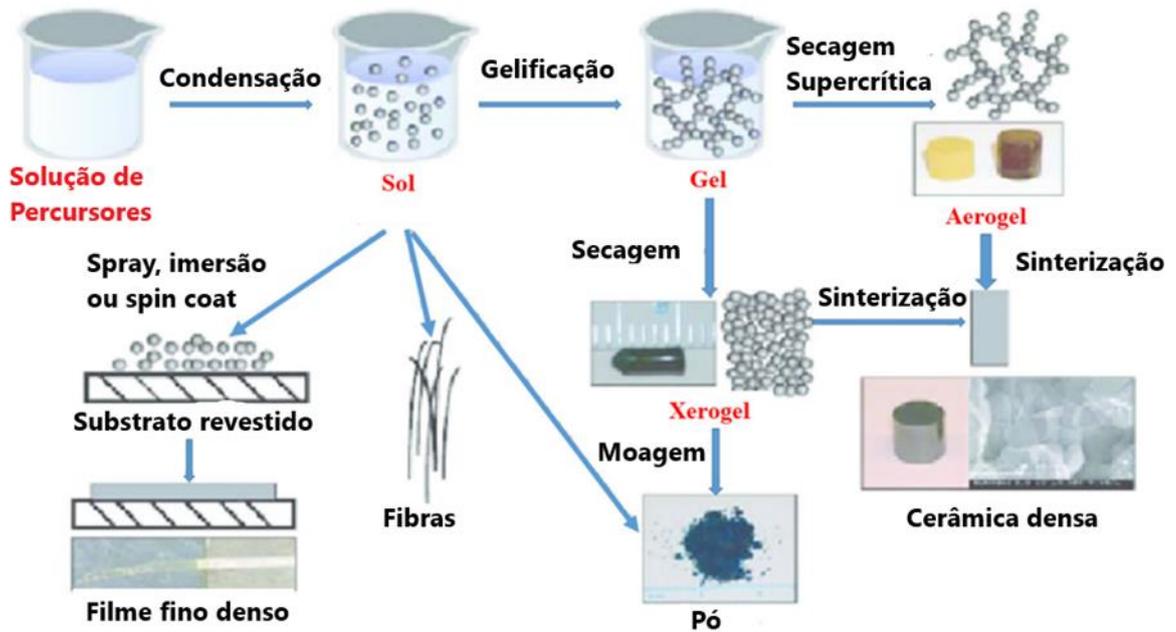
A síntese sol-gel é uma técnica de processamento químico utilizada para produzir materiais cerâmicos que utiliza precursores alcóxidos metálicos, que constituem o sol, para permitir a gelificação da rede através de reações de hidrólise e condensação, seguida por secagem e calcinação para remoção de resíduos orgânicos (LEPRY; SMITH; NAZHAT, 2018). O sol é formado por uma solução precursora coloidal de partículas sólidas (diâmetro na faixa de 1-100 nm) em um líquido e o gel, um material de fase dupla, uma rede rígida altamente interconectada imersa em um solvente, um catalisador básico ou ácido. A solução (sol) se transforma em gel pelo estabelecimento de ligações químicas entre as partículas (polimerização), levando a formação de uma rede sólida tridimensional (BAINO et al., 2018). Quando o solvente é removido, o gel úmido pode se converter a um xerogel ou a um aerogel. Se a secagem for realizada à pressão ambiente, forma-se o primeiro, mas se a secagem for feita acima de uma pressão e temperatura críticas, então forma-se o segundo.

O pH do sol desempenha um papel importante nas reações de hidrólise e condensação, sendo que há autores que relatam que elas dependem mais do pH do que do catalisador (BEN-ARFA et al., 2018a). O tipo de catalisador utilizado afeta diretamente nas propriedades finais, como porosidade, propriedades ópticas e estruturais, sendo que ácidos inorgânicos, como ácido clorídrico, ácido sulfúrico e ácido nítrico são os mais comumente utilizados por serem ácidos fortes, desencadeando a reação de hidrólise rapidamente (BEN-ARFA et al., 2018a).

O processamento do sol gelificado de diferentes maneiras permite que várias morfologias sejam obtidas - monólitos, pós, fibras ou revestimentos - simplesmente modificando parâmetros de processamento, como tempo de gelificação, condições de catálise (ácida ou básica) ou precursores iniciais (NAYAK; KUMAR; BERA, 2010; OWENS et al.,

2016). A Figura 2 mostra as etapas envolvidas no processo sol-gel, com diferentes formas de processamento ligadas a possíveis aplicações.

Figura 2 - Etapas do processo sol-gel e microestruturas finais que podem ser obtidas por diferentes processamentos



Fonte: BAINO et al. adaptado (2018).

Os produtos sol-gel podem ser processados por: (i) gelificação de uma solução de pós coloidais, (ii) hidrólise e policondensação de precursores de alcóxido ou nitrato seguida de secagem hipercrítica do gel, ou (iii) hidrólise e policondensação de precursores de alcóxido seguido de envelhecimento e secagem à atmosfera ambiente (BAINO et al., 2018). Os vidros bioativos geralmente são obtidos pela terceira abordagem, compreendendo 6 etapas necessárias de reação, segundo BAINO et al., 2018:

1. Mistura dos reagentes em temperatura ambiente, levando à formação de fortes ligações covalentes entre os elementos. As reações de hidrólise e policondensação são competitivas durante esse estágio e ocorrem simultaneamente, até a completa homogeneização da solução;
2. Gelificação, que envolve a formação de uma rede 3D acompanhada de aumento progressivo da viscosidade. A variação da viscosidade depende diretamente do tempo, o que torna possível a extração do material em forma de fibras à medida que a gelificação ocorre;
3. Envelhecimento, durante o qual a policondensação continua com uma diminuição na porosidade do material acompanhada por um aumento na resistência devido à

- densificação. Esse passo é fundamental para evitar rachaduras durante a fase de secagem;
4. Secagem, que é realizada para eliminar a fase líquida dos poros. O encolhimento do material durante essa fase pode levar à sua fratura, na maioria dos casos;
  5. Desidratação ou estabilização química, que envolve a remoção de ligações de silanol da rede de poros, levando à uma estabilidade química do sólido;
  6. Densificação do gel por tratamento térmico à altas temperatura, porém, ainda menor que a temperatura do processo de fusão.

Essa técnica aplicada em vidros bioativos permite a produção de scaffolds para a engenharia de tecidos, com a adição de agentes porogênicos ou de polímeros para melhorar propriedade mecânicas; possibilita a fabricação de vidros bioativos mesoporosos para o revestimento de ligas de magnésio aplicadas em implantes biomédicos para proteção contra a corrosão; permite a obtenção de vidros bioativos de outros sistemas cerâmicos, como boratos, e a obtenção de vidros bioativos em escala nanométrica (GUIMARÃES et al., 2016; HUANG et al., 2014; LEPRY; NASERI; NAZHAT, 2017; ABDOLAHY et al., 2016; PEREIRA et al., 2016; ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Nesta, torna-se possível produzir materiais intrinsecamente nanoporosos, com capacidade de melhorar a bioatividade e a resposta celular devido a melhoras nas propriedades texturais, como a elevada área superficial específica, quando comparada aos obtidos pelos métodos tradicionais (BARRIONI et al., 2017).

O processo convencional de sol-gel utiliza precursores de alcoxissilano, como tetraetilortossilicato, tetrametilortossilicato, etc. como precursores de sílica. Porém, esses materiais são caros podendo então ser utilizada a CCA como fonte de sílica para a produção de vidros bioativos e vitrocerâmicas por essa rota (NAYAK; KUMAR; BERA, 2010).

### **4.3 Casca de arroz**

A produção mundial de arroz em prevista em 2019/20 ficou em torno de 494 milhões de toneladas e a safra brasileira ficou em torno de 11 milhões de toneladas, segundo a CONAB (2020). A casca de arroz representa cerca de 23% da massa da planta do arroz e pode acumular até 15% em massa de sílica, assim, das cerca de 2,5 milhões de toneladas de casca geradas no país poderiam ser extraídas 379.000 toneladas de sílica para o mercado através do tratamento adequado (FERNANDES; SABINO; ROSSETTO, 2014; STOCHERO et al., 2017). Além da vantagem econômica, há principalmente a vantagem ambiental da redução de resíduos, já que a casca de arroz não é facilmente decomposta por bactéria devido à sua superfície dura e alto teor

de silício e lignina (SANTANA COSTA; PARANHOS, 2018).

A calcinação desse material é o que produz sílica amorfa com algumas impurezas menores de metal, com mais de 60% de sílica para fins biomateriais (LEENAKUL et al., 2016; YÜCEL et al., 2015). Outros fins para os quais esse produto poderia ser utilizado seria a fabricação de silicatos de potássio para a agricultura, indústria de higiene pessoal e cosméticos, indústria de bebidas, obtenção de peneiras moleculares separadoras para a indústria sucroalcooleira e na indústria cerâmica (FERNANDES; SABINO; ROSSETTO, 2014). Além disso, a casca de arroz também é bastante utilizada para a geração de energia através da incineração. Como resultado, têm-se as cinzas de casca de arroz (CCA), das quais será extraída a sílica, com 20% do peso inicial da casca. Hemicelulose, celulose e lignina são os outros componentes da casca de arroz, além das cinzas (BAKAR; YAHYA; GAN, 2016).

A CCA não lavada contém cerca de 96% sílica, porém, as impurezas metálicas, como ferro (Fe), manganês (Mn), cálcio (Ca), sódio (Na), potássio (K) e magnésio (Mg) podem ser eliminadas por pré-tratamentos com ácidos antes da combustão, obtendo, assim, pureza superior a 99% (BAKAR; YAHYA; GAN, 2016; SANTANA COSTA; PARANHOS, 2018). A temperatura de calcinação pode determinar a estrutura da sílica produzida, sendo que entre 600°C e 1000 °C e, dependendo do tempo, a sílica é amorfa, porém em temperaturas mais altas a sílica cristalina é obtida (BAKAR; YAHYA; GAN, 2016).

BAKAR, YAHYA e GAN (2016), utilizando ácido clorídrico e ácido sulfúrico, obtiveram sílica amorfa com pureza acima de 99% com combustão a 600 °C por 2 horas. FERNANDES, SABINO e ROSSETTO (2014) realizaram tratamentos com ácido cítrico, acético e oxálico, com calcinações entre 600 e 700 °C por 2 horas, obtendo sílica mesoporosa (poros com tamanho entre 2 e 50 nm) com pureza superior a 99% e com elevadas áreas superficiais específicas. COSTA e PARANHOS (2018) analisaram o efeito da temperatura e do tempo de calcinação na obtenção da sílica, concluindo que o melhor parâmetro foi a calcinação a 700 °C por 2 horas e que o tratamento com ácido clorídrico aumentou a pureza do material obtido.

Muitas pesquisas são feitas para o uso da sílica da casca de arroz em materiais cerâmicos, como nas biocerâmicas. Geralmente, fontes de sílica na produção de biomateriais são tetraetilortossilicato (TEOS), precursores de tetrametilortossilicato (TMOS) ou soluções de silicato de sódio (YÜCEL et al., 2015). Porém, há vários estudos do uso da sílica da casca de arroz como uma fonte alternativa para esses materiais, especialmente vidros bioativos (LEENAKUL et al., 2016; NAYAK; BERA, 2010; QUINTERO SIERRA; ESCOBAR SIERRA, 2019;

YÜCEL et al., 2015).

YUCEL et al. (2015) extraíram sílica por lixiviação ácida e extração de álcali, usando-a na fabricação por fusão de biovidros 46S6 e perceberam um aumento na atividade metabólica e na viabilidade quando comparado ao obtido por sílica comercial. CHEN et al. (2017) desenvolveram um biovidro mesoporoso a partir da sílica extraída da casca de arroz, com alta área superficial, alto volume de poros e com capacidade de suportar a formação de uma camada de HCA, além de ter boa capacidade de distribuição de um fármaco anticancerígeno pelo organismo. NAYAK, KUMAR e BERA (2010), produziram vitrocerâmica bioativa do sistema  $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ , concluindo que a CCA pode ser utilizada como matéria-prima de baixo custo através de uma rota sol-gel, já que foram formadas fases precursoras da hidroxiapatita quando em fluido de simulação das condições fisiológicas organismo (SBF).

#### **4.4 Ação Antimicrobiana de nanopartículas metálicas**

O uso generalizado de antibióticos por décadas levou as bactérias a desenvolverem resistência a essas drogas. Dados de vigilância global coletados pela OMS identificaram que aproximadamente 79% das bactérias desenvolveram resistência a um ou mais antibióticos (ZHENG et al., 2018). Além disso, muitos dos medicamentos aprovados nas décadas de 1980 e 1990 foram retirados do mercado por diversas razões, incluindo: segurança, eficácia ou redução de lucratividade (FERNANDES et al., 2017). Mais de 70% das infecções bacterianas são resistentes a um ou mais antibióticos geralmente usados para erradicar a infecção, o que torna necessário o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, porém, esse processo pode ser demorado, de alto custo e que pode levar a futuras resistências bacterianas (ZHENG et al., 2018). Por isso, vêm-se utilizando alguns metais, como prata, ouro, cobre, titânio e zinco, cada um com várias propriedades, potências e espectros de atividade bactericidas, sendo já conhecidos e aplicados há séculos (MALEKI et al., 2014). A utilização desses metais na escala nanométrica potencializa seu efeito antimicrobiano. Assim como o tamanho das partículas, o processamento utilizado para a síntese das nanopartículas também afeta a eficácia antimicrobiana.

O mecanismo antimicrobiano exato das nanopartículas ainda está em debate, embora existam vários mecanismos de ação propostos, incluindo distúrbios da membrana celular, alteração do DNA e proteínas celulares, transporte de elétrons, captação de nutrientes, oxidação de proteínas ou potencial de membrana, ou a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), que levam a morte celular (SINGH et al., 2016). Existem duas propostas de mecanismos mais populares: i) toxicidade de íons metálicos livres resultante da dissolução dos metais da superfície das nanopartículas e ii) estresse oxidativo através da geração de ERO nas superfícies das

nanopartículas (MALEKI et al., 2014). Por exemplo, para as nanopartículas de prata, esses mecanismos estariam ligados a liberação de íons  $Ag^+$  pela oxidação da prata metálica em contato com a água e oxigênio dissolvido (XIU; MA; ALVAREZ, 2011). Além disso, a carga superficial positiva das nanopartículas metálicas facilita a sua ligação à superfície carregada negativamente das bactérias, o que pode resultar em um aprimoramento do efeito bactericida (MALEKI et al., 2014). Porém, não se sabe se a liberação dos íons  $Ag^+$  é responsável por toda a atividade antimicrobiana das nanopartículas ou se as próprias nanopartículas possuem algum efeito específico (XIU; MA; ALVAREZ, 2011). As nanopartículas de prata podem ser acumular na superfície da membrana bacteriana e, posteriormente, penetrariam as bactérias, causando alterações na permeabilidade da membrana, levando a morte celular (ZHENG et al., 2018).

Devido às suas propriedades antibacterianas, as nanopartículas de prata têm sido amplamente utilizadas na indústria da saúde humana e veterinária, indústria alimentícia, entre outras. A prata atua contra mais de 650 cepas de microorganismos, como bactérias gram-negativas e gram-positivas, fungos ou vírus e suas propriedades médicas são conhecidas há mais de 200 anos, sendo mais eficaz e menos tóxica para as células animais do que os outros metais com propriedades antibacterianas (AHMED et al., 2016). Ela é geralmente usada na forma de nitrato de prata para esse fim, porém quando as nanopartículas são usadas há um aumento na área de superfície disponível para a exposição aos micróbios, conseqüentemente, o efeito bactericida é mais eficiente (AHMED et al., 2016). As nanopartículas de prata chamam a atenção devido às suas propriedades, como estabilidade química, boa condutividade, antibacteriano catalítico, antiviral, antifúngico e atividades anti inflamatórias que podem ser incorporadas a outras materiais (AHMED et al., 2016). Assim, elas são larvicidas contra vetores de filariose e malária e demonstraram ser ativas contra patógenos plasmodiais e células cancerígenas, já sendo usadas com sucesso no diagnóstico e tratamento do câncer (KUPPUSAMY et al., 2016).

Em aproximadamente 90% dos implantes, vários microrganismos patogênicos, principalmente *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, foram identificados e muitos desses microrganismos apresentam resistência a antibióticos (FERNANDES et al., 2017). A contaminação bacteriana advém, principalmente, da adesão de bactérias ao dispositivo médico, que produz uma matriz extracelular hidratada (ECM), gerando biofilmes (FERNANDES et al., 2017). Microrganismos que compõem biofilmes são resistentes a agentes antimicrobianos devido a matriz polissacarídica que atua como barreira física, retardando a penetração e difusão de antibióticos (DRAGO; TOSCANO; BOTTAGISIO, 2018). Assim, torna-se interessante a funcionalização desses biomateriais com substâncias bactericidas para que

sejam evitadas infecções e haja redução da probabilidade de rejeição do organismo.

#### **4.5 Funcionalização de vidro bioativo com nanopartículas de prata**

Quando suspensos em solução aquosa, os vidros bioativos apresentam atividade antimicrobiana com a liberação de seus compostos iônicos ao longo do tempo, demonstrada por estudos *in vitro* (RIVADENEIRA; GORUSTOVICH, 2016). Embora se saiba que os efeitos antibacterianos dos biovidros variam com o tipo bacteriano, a composição do vidro e a concentração da amostra, os mecanismos da ação antibacteriana ainda estão em debate (RIVADENEIRA; GORUSTOVICH, 2016). Há hipóteses de que os vidros bioativos apresentem propriedades antibacterianas devido ao aumento de pH ocasionado pela troca de íons de sódio com prótons nos fluidos corporais ou devido ao aumento da pressão osmótica devido a liberação de íons de sílica, cálcio e fosfato (DRAGO; TOSCANO; BOTTAGISIO, 2018). Os mecanismos de ação são descritos em três etapas: i) liberação de íons, particularmente  $\text{Ca}^{2+}$  que aumentam sua ii) osmolaridade e iii) pH no local da reação, desequilibrando o  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular bacteriano, o que resulta em despolarização da membrana celular e sua consequente morte (FERNANDES et al., 2017). Porém, a eficiência desse mecanismo pode ser reduzida *in vivo* devido ao tamponamento do sistema (LINDFORS et al., 2017). Além disso, vários fatores físico-químicos, como rugosidade e porosidade que podem afetar essa capacidade bactericida, sendo que vidros bioativos com superfície irregular normalmente promovem adesão bacteriana, levando ao acúmulo de biofilme, enquanto uma superfície lisa, geralmente inibe a adesão bacteriana e a formação de biofilme (FERNANDES et al., 2017).

Devido a essas possibilidades de perda de potencial bactericida, há uma necessidade clínica do desenvolvimento de dispositivos inovadores que forneçam a dupla funcionalidade de regeneração do tecido ósseo e inibição de microorganismos patogênicos (FERNANDES et al., 2017). A dopagem dos biovidros com metais antibacterianos pode ser realizada por três maneiras comuns: i) adicionando um composto durante a rota de fusão do vidro; ii) adicionando um composto durante o processo de rota sol-gel ou iii) incorporando certos íons na estrutura do vidro através de um processo de troca iônica (GOH et al., 2014; RIVADENEIRA; GORUSTOVICH, 2016). O método de troca iônica é limitado à modificação da composição da superfície, enquanto a fusão requer altas temperaturas de processamento e o método sol gel propicia baixa temperatura de processamento, homogeneidade e maior bioatividade (GOH et al., 2014). O vidro dopado com o metal se dissolve gradualmente na solução aquosa, os íons metálicos incorporados são liberados e inibem o crescimento de bactérias (RIVADENEIRA; GORUSTOVICH, 2016).

A prata tem sido o metal mais estudado para essa funcionalização dos vidros bioativos, seguindo o mecanismo sugerido de que o  $\text{Ag}^+$  reage e interrompe a função das membranas celulares bacterianas e de proteínas e enzimas metabólicas cruciais ao se ligar nos grupos DNA e tiol nas proteínas (FERNANDES et al., 2017; RIVADENEIRA; GORUSTOVICH, 2016). Além disso, o  $\text{Ag}^+$  não desenvolve resistência bacteriana, como muitos antibióticos de uso oral. Scaffolds de biovidros dopados com nanopartículas de prata apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*, sendo que antes da dopagem, não apresentaram nenhuma atividade (OLIVEIRA et al., 2020).

Mariappan e Ranga (2017) sintetizaram um biovidro com prata do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-Ag}_2\text{O}$  pelo método sol gel, verificando-se a incorporação de nanopartículas de prata na matriz vítrea e apresentando boas propriedades antibacterianas contra *E. coli* e *S. aureus*, sem comprometer a formação de hidroxiapatita. Foi observado também que o efeito bactericida era maior para vitrocerâmicas com menor constante dielétrica (MARIAPPAN; RANGA, 2017). Goh et al., 2014, doparam biovidros com nanopartículas de Ag e Cu e ambos impediram a colonização bacteriana efetivamente após 24 horas, além disso, enquanto a Ag é mais rápida para a eliminação de bactérias, o Cu mostrou potencial para propriedades antibacterianas de longo prazo. O uso clínico mais comum para do vidro bioativo incorporado com Ag é o revestimento em suturas médicas, conferindo efeito bactericida e bioativo (GOH et al., 2014).

#### **4.6 Síntese verde de nanopartículas**

Geralmente, existem duas abordagens envolvidas nas sínteses das nanopartículas: top down (no português, de cima para baixo) e bottom up (no português, de baixo para cima) (AHMED et al., 2016). Nesta segunda abordagem a síntese é feita por métodos químicos e biológicos por auto agregação de átomos em novos núcleos que crescem em uma partícula de nanoescala e, na primeira, o material está na forma de bulk que se decompõe em partículas finas por técnicas litográficas, moagem, pulverização e remoção térmica/laser (AHMED et al., 2016).

Na abordagem de baixo para cima, a redução química é o método mais utilizado para a síntese das nanopartículas, obtendo uma solução coloidal estável em água ou solventes orgânicos (MELO, 2015). Esse método permite a síntese de uma grande quantidade de nanopartículas em um curto espaço de tempo (AHMED et al., 2016). São utilizados como agentes redutores, geralmente, boro hidreto de sódio, hidrogênio elementar, N,N- dimetil formamida, hipofosfito e hidrato de hidrazina. (MELO, 2015; MONDAL; ANWESHAN; PURKAIT, 2020). Esses redutores são tóxicos e experimentalmente, o seu volume é superior ao necessário estequiometricamente gerando um remanescente altamente reativo nos produtos finais, o que

compromete seu descarte (DUAN; WANG; LI, 2015). Isso leva a busca por possíveis substitutos de baixa toxicidade, tornando-se uma alternativa sustentável e caracterizando a síntese verde.

Um dos métodos dessa rota de síntese verde é o biológico, que consiste na utilização de extratos vegetais ou microorganismos, sendo o primeiro mais vantajoso devido à maior estabilidade das nanopartículas, a maiores taxas de síntese, ao menor risco biológico e ao processo elaborado de cultivo celular no caso dos microorganismos (DUAN; WANG; LI, 2015; MONDAL; ANWESHAN; PURKAIT, 2020). O avanço da síntese verde em relação a outros métodos químicos e físicos advém do fato de ser favorável ao meio ambiente, econômica, obtenção de grandes quantidade de nanopartículas livres de contaminantes tóxicos e com tamanho e morfologia bem definidos, além de não haver necessidade de altas pressão, temperatura e energia (AHMED et al., 2016; TANASE et al., 2020). Além disso, a utilização de extratos vegetais ou microorganismos para a síntese reduz a possibilidade de aglomeração das nanopartículas, o que é um problema comum da redução química. Isso acontece porque os compostos polifenólicos e as proteínas naturais atuam como estabilizadores e agentes de revestimento sobre as nanopartículas (MONDAL; ANWESHAN; PURKAIT, 2020).

Na síntese com microorganismos, estes possuem a capacidade acumular e desintoxicar metais pesados devido a várias enzimas redutase, que são capazes de reduzir os sais metálicos em nanopartículas metálicas com uma distribuição estreita de tamanho (SINGH et al., 2016). Já na utilização de extratos vegetais, a redução e estabilização dos íons de prata é atribuída a presença de biomoléculas, como proteínas, enzimas, polissacarídeos, fenólicos, taninos, vitaminas e terpinóides presentes nesses extratos, que possuem valores medicinais e benéficos para o meio ambiente (DUAN; WANG; LI, 2015; TANASE et al., 2020). Estes compostos se combinam com o íon metálico adicionado na solução levando à sua redução química. A reação está completa em minutos e essa mistura é incubada para permitir a maior redução dos íons, que pode ser acompanhada por espectros UV-Vis em intervalos regulares e monitorada quanto a mudança de cor (AHMED et al., 2016; SINGH et al., 2016).

O processo de síntese é dividido em nucleação e crescimento e a compreensão delas permite o controle do tamanho, morfologia e polidispersividade das partículas (DUAN; WANG; LI, 2015). Além disso, devido à variedade de plantas e de seus componentes (caule, folhas, frutos) é possível regular o tamanho e a quantidade das nanopartículas (DUAN; WANG; LI, 2015). Várias plantas, como *Alternanthera dentate*, extrato de chá, *Tribulus terrestris*, *Allium sativum*, já foram estudadas para a síntese das nanopartículas de prata, onde estas puderam ser obtidas

em muitos casos em minutos, com formato esférico e tamanhos variando de 4 a 100 nm (AHMED et al., 2016). O controle da polidispersividade das partículas é um desafio, que tem sido vencido pela restrição do seu crescimento no meio de síntese ou pela alteração das moléculas funcionais (SINGH et al., 2016).

As alterações de pH levam a protonação ou desprotonação de grupos funcionais presentes nas moléculas que compõem os produtos naturais, o que afeta ainda mais a sua capacidade de ligação e a redução de íons metálicos durante a síntese, além de afetar a morfologia e o rendimento das nanopartículas (SINGH et al., 2016). Outras condições, como tempo de duração, concentração de sal, temperatura e natureza do extrato podem afetar a taxa de produção das nanopartículas, sua quantidade e características (KUPPUSAMY et al., 2016).

Agentes de tamponamento são utilizados na síntese para a estabilização coloidal das nanopartículas, controlando o tamanho, a morfologia e passivando a superfície de agregação (DUAN; WANG; LI, 2015). Por exemplo, podem ser utilizados hidrocarbonetos de cadeia longa funcionalizados com heteroátomos, exercendo inevitavelmente influência prejudicial ao meio ambiente (DUAN; WANG; LI, 2015). Os extratos vegetais possuem componentes, como proteínas, aminoácidos, ácido orgânico, vitaminas e metabólitos secundários que exercem a função de agentes tamponantes, reduzindo o impacto ambiental (SINGH et al., 2016).

Comparadas com as nanopartículas obtidas por rotas químicas convencionais, as obtidas por rotas biogênicas estão livres de contaminação tóxica de subprodutos que se ligam às nanopartículas durante a síntese físico-química, o que propicia aplicações biomédicas (SINGH et al., 2016). Além disso, elas são mais eficazes devido à fixação de componentes biologicamente ativos na sua superfície, pois elas adsorvem progressiva e seletivamente as biomoléculas quando entram em contato com fluidos biológicos complexos, formando uma camada que interage com os sistemas biológicos (SINGH et al., 2016).

#### **4.7 Extratos vegetais**

Desde a antiguidade o homem já usava plantas para tratar doenças infecciosas comuns e, atualmente, ainda se estuda a atividade antimicrobiana ou antioxidante das mesmas. Os compostos derivados de plantas são principalmente metabólitos secundários, a maioria fenólicos ou seus derivados substituídos por oxigênio e possuem propriedades antimicrobianas contra micróbios patogênicos e deteriorantes (GYAWALI; IBRAHIM, 2014). A análise de 75 espécies com seus espectros antimicrobianos permitiu a observação de que os compostos fenólicos são o químico ativo predominante, sendo as bactérias Gram-positivas os germes mais sensíveis (MOSTAFA et al., 2018).

Os responsáveis pela atividade antimicrobiana das plantas são os seus metabólitos secundários que, além dos compostos fenólicos, englobam os terpenóides e alcaloides (MESQUITA; PINTO; MOREIRA., 2017). A estrutura química e a quantidade desses compostos variam de uma espécie para outra e até mesmo dentro da mesma espécie de acordo com a parte da planta, idade, solo e clima, o que implica em diferentes eficácias antibacteriana nas contra agentes patógenos. Os grupos hidroxila em compostos fenólicos podem interagir com a membrana celular das bactérias, interrompendo estruturas de membrana e causando vazamento de componentes celulares (GYAWALI; IBRAHIM, 2014). Além disso, grupos ativos como a hidroxila promovem a deslocalização de elétrons e reduzem o gradiente através da membrana citoplasmática das células bacterianas, levando ao colapso da força motriz de prótons e ao esgotamento de ATP que culminam na morte celular (GYAWALI; IBRAHIM, 2014). Esse grupo também contribui para propriedades antioxidantes, pois eliminam radicais livres atuando como doadores de átomos de hidrogênio ou como agentes redutores nas reações redox (LIU et al., 2013).

Diversas bactérias e fungos de origem humana e alimentar são suscetíveis a diferentes óleos essenciais e seus constituintes, sendo os mais relevantes os óleos de tomilho, origanum, hortelã, sálvia e cravo, que possuem propriedades antimicrobianas (MOSTAFA et al., 2018). O óleo essencial de tomilho, por exemplo, é extraído da planta de espécie *Thymus vulgaris L.* nativa do sul da Europa. Ele é usado como aromatizante em produtos alimentícios, mas também tem aplicações em cosméticos, perfumes e produtos farmacêuticos, como anti-séptico, em tratamento de infecções intestinais, entre outras (HOSSEINZADEH et al., 2015). Esse óleo possui muitos compostos em sua constituição, mas a atividade antimicrobiana é atribuída principalmente à presença de carvacrol, cinamaldeído, timol, geraniol e eugenol (ADEPU; KHANDELWAL, 2020). Como composto farmacêutico, timol e carvacrol são usados em enxaguantes bucais, sabonetes e cremes, pois a presença do grupo OH nesses compostos desempenha um papel importante nas suas atividades antimicrobianas (GYAWALI; IBRAHIM, 2014). Essa atividade é atribuída à sua capacidade de penetrar e perturbar a estrutura das membranas celulares microbianas, levando a vazamento de íons e outros componentes celulares (MOGHIMI et al., 2016). Sendo assim, pensando em aplicações odontológicas do vidro bioativo, seria interessante a utilização desse extrato vegetal para a obtenção das nanopartículas por já apresentar uso em enxaguantes bucais com potencial bactericida.

## 5 Material e Métodos

### 5.1 Material

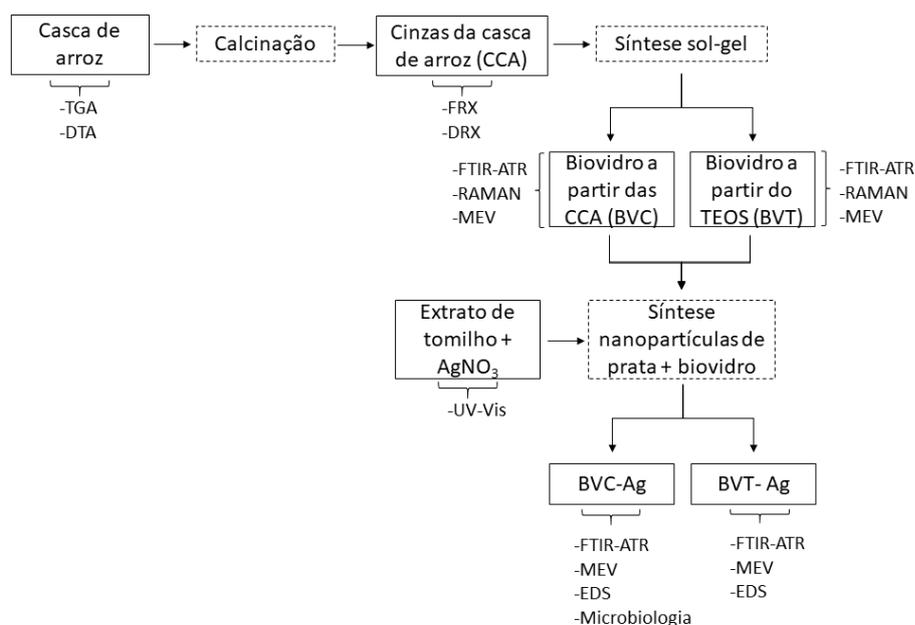
Para a extração da sílica foram utilizadas cascas de arroz cedidas por um produtor de arroz da cidade de Lavras, MG, além de ácido oxálico 10% e água destilada para o tratamento químico. Para a produção do vidro bioativo, foram produzidas duas formulações, sendo que uma foi feita a partir das cinzas da casca de arroz (CCA) e a outra, a partir de tetraetilortossilic ato (TEOS) (Sigma-Aldrich), ambos fonte de sílica. Os demais materiais para a síntese foram NaOH (P.A., P.M. = 40 g/mol, Êxodo Científica),  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (P.A., P.M. = 236,15 g/mol, Êxodo Científica),  $\text{HNO}_3$  (P.A, P.M. = 63,01 g/mol, Êxodo Científica) e água destilada para o preparo das soluções.

Para a síntese biogênica das nanopartículas de prata, foi utilizado tomilho seco fornecido por uma loja de produtos naturais da cidade de Lavras, água deionizada e  $\text{AgNO}_3$  (P.A., P.M.=169,87 g/mol, Dinâmica, P.A.).

### 5.2 Métodos

As etapas de síntese realizadas nesse trabalho são apresentadas de forma resumida na Figura 3, relacionando-se com as respectivas caracterizações. Cada etapa será detalhada nos próximos tópicos.

Figura 3 – Etapas e caracterizações realizadas neste trabalho.



Fonte: Do Autor (2021).

### 5.2.1 Obtenção das cinzas da casca de arroz

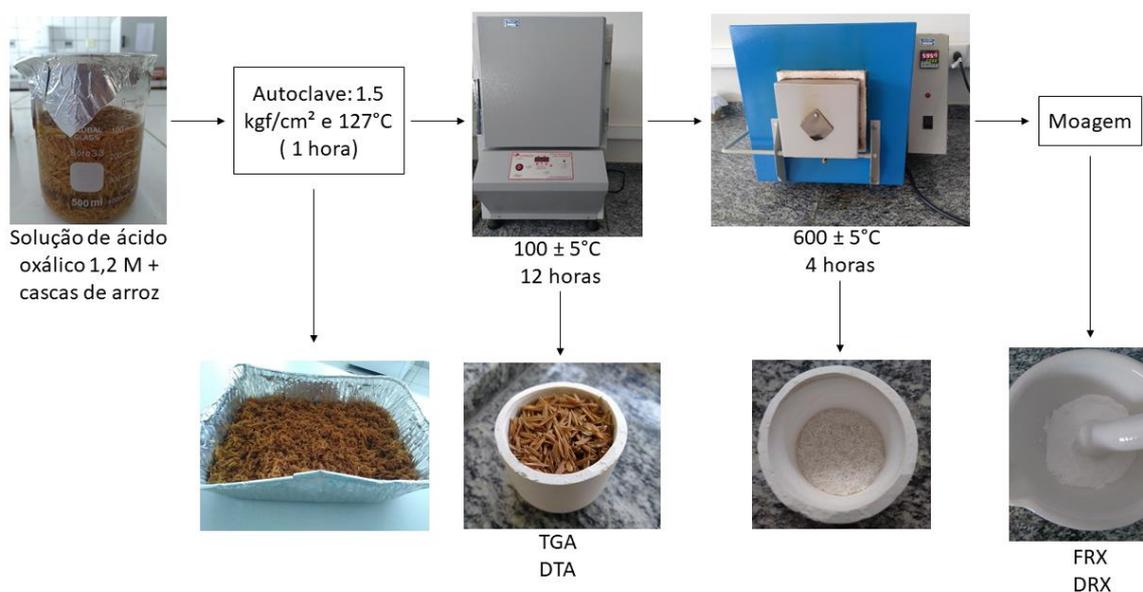
O tratamento da casca de arroz para obtenção das cinzas com alto teor de sílica foi realizado adaptando o processo descrito por Fernandes, Sabino e Rossetto. (2014).

Primeiramente, pesou-se 40,00 g de casca que foi inserida em béquer contendo solução de ácido oxálico 1,2 M, produzida com 36g de ácido oxálico 10% (m/m) em 324 ml de água destilada. O conjunto foi então levado para autoclave SOC. FABBE Ltda., modelo 104, à 1.5 kgf/cm<sup>2</sup> e 127°C, onde permaneceu por 1 hora.

Após o processo, a casca foi retirada, lavada com água destilada e, após, permaneceu em estufa à 100 ± 5°C por 12 horas até completa secagem.

Depois de secas, as cascas foram então colocadas em cadinhos de alumina, seguindo para forno mufla para calcinação à 600 ± 5°C por 4 horas. Essa temperatura foi determinada por análise térmica TGA/ DTA. Por fim, as CCA obtidas foram triturados em almofariz de porcelana e caracterizadas por FRX e DRX para comprovação da obtenção de sílica. O resumo das etapas descritas é apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Etapas para a obtenção das cinzas da casca de arroz (CCA).



Fonte: Do autor (2021).

### 5.2.2 Termogravimetria (TGA) e Análise Térmica Diferencial (DTA) para a casca de arroz

Após o tratamento das cascas com ácido oxálico sem efetuar a calcinação, foi moída uma amostra das mesmas em moinho de bolas para a realização da TGA e da DTA para a observação do seu comportamento de decomposição térmica, justificando a temperatura de calcinação utilizada no processo. Amostras em pó de, aproximadamente, 10 mg foram colocadas

em cadinhos de alumina e submetidas a uma taxa de aquecimento de 5 °C/min até 1000 °C. A análise foi feita sob atmosfera de ar sintético para se aproximar mais das condições de trabalho.

### **5.2.3 Difração de Raios-X (DRX) para a CCA**

Para a verificação da obtenção de sílica a partir da casca de arroz, as CCA (obtidas pelo processo descrito em 5.2.1) foram submetidas a uma análise de difração de raios-x (DRX) para detecção das fases presentes, em equipamento *Shimadzu* SSX-550 do Laboratório de Caracterização e Microscopia do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET- MG.

Os difratogramas foram obtidos em uma operação seguindo os seguintes parâmetros: aceleração de elétrons de 40 kV, corrente elétrica de 30 mA e radiação de cobre. O escaneamento foi realizado a uma taxa de 2θ/min, em um intervalo de 10 a 80°.

### **5.2.4 Fluorescência de Raios X (FRX) para a CCA**

Para a análise química do produto obtido em 5.2.1, realizou-se a análise de espectroscopia de fluorescência em instrumento *Shimadzu* EDX-720 do Laboratório de Caracterização e Microscopia do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET-MG.

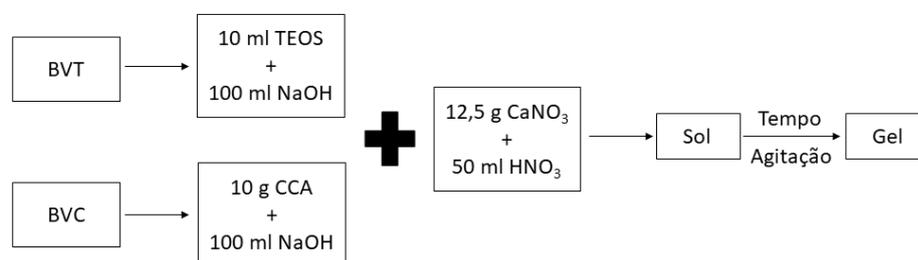
As condições operacionais foram as seguintes: colimador de 10 mm em atmosfera ambiente (ar) e método de aquisição quantitativo FP.

### **5.2.5 Síntese do vidro bioativo**

O vidro bioativo foi produzido na seguinte composição ternária 50 SiO<sub>2</sub> – 25 Na<sub>2</sub>O – 25 CaO (% mol), através do processo sol-gel, segundo o processo descrito por NAYAK et al. (2010) adaptado.

Para o vidro bioativo feito a partir do TEOS, referenciado como BVT, foram misturados 10 ml de TEOS com 100 ml de solução NaOH 1M, para a formação da solução precursora de silicato de sódio. Enquanto que, para o vidro bioativo feito a partir da CCA, BVC, foram fervidos 10g CCA em 100 ml de solução NaOH 1M. Essas quantidades de TEOS e CCA foram calculadas para que se obtivesse a mesma proporção de sílica nos dois casos. Os procedimentos seguintes são iguais para as duas formulações. A segunda solução precursora, foi feita pela dissolução de 12,5g de nitrato de cálcio em 50 ml de ácido nítrico concentrado. A solução de silicato foi adicionada gota a gota à solução de nitrato de cálcio altamente ácida sob agitação constante para evitar a precipitação do gel. Foi observado o tempo gasto na transformação sol-gel, à temperatura ambiente e o pH da solução inicial de silicato de sódio e da solução final. As etapas descritas estão resumidas no fluxograma abaixo (Figura 5) e a especificação da composição das amostras na Tabela 1.

Figura 5 - Etapas para a produção sol-gel dos géis precursores das amostras produzidas a partir do TEOS (BVT) e da cinza da casca de arroz (BVC).



Fonte: Do autor (2021).

Tabela 1 - Composição das amostras de vidro bioativo preparadas para análise.

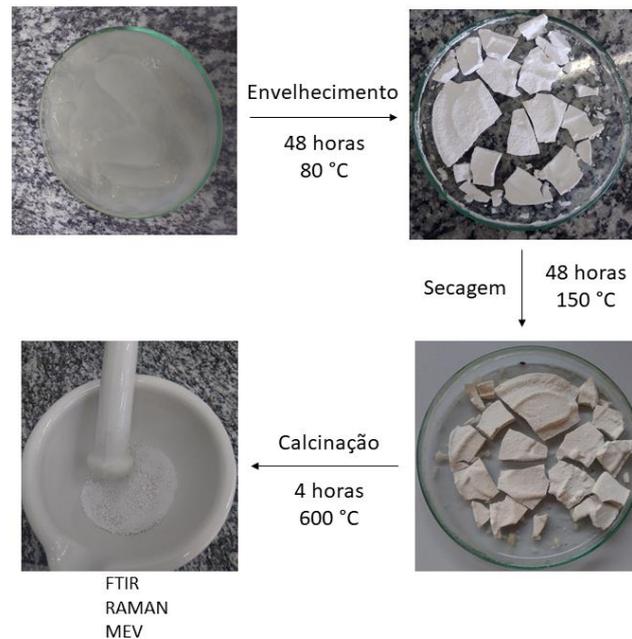
Amostra	TEOS (ml)	CCA (g)	NaOH 1M (ml)	CaNO <sub>3</sub> . 4H <sub>2</sub> O (g)	HNO <sub>3</sub> (ml)
BVT	10	0	100	12,5	50
BVC	0	10	100	12,5	50

Legenda: BVT= Vidro bioativo feito a partir do TEOS; BVC= Vidro bioativo feito a partir das cinzas da casca de arroz.

Fonte: Do autor (2021).

O gel obtido foi então envelhecido por 48 horas à 80 °C, seguido por secagem à 150 °C por 48 horas. O gel seco foi triturado em almofariz de porcelana para a formação de um pó fino, que foi calcinado à 600 °C por quatro horas. Este foi caracterizado através de Espectroscopia RAMAN, FTIR- ATR e MEV. Essas etapas estão descritas na Figura 6, exemplificadas com imagens da síntese do BVC.

Figura 6 - Etapas de produção dos pós de vidro bioativo.



Fonte: Do autor (2021).

### 5.2.6 Síntese biogênica das nanopartículas de prata

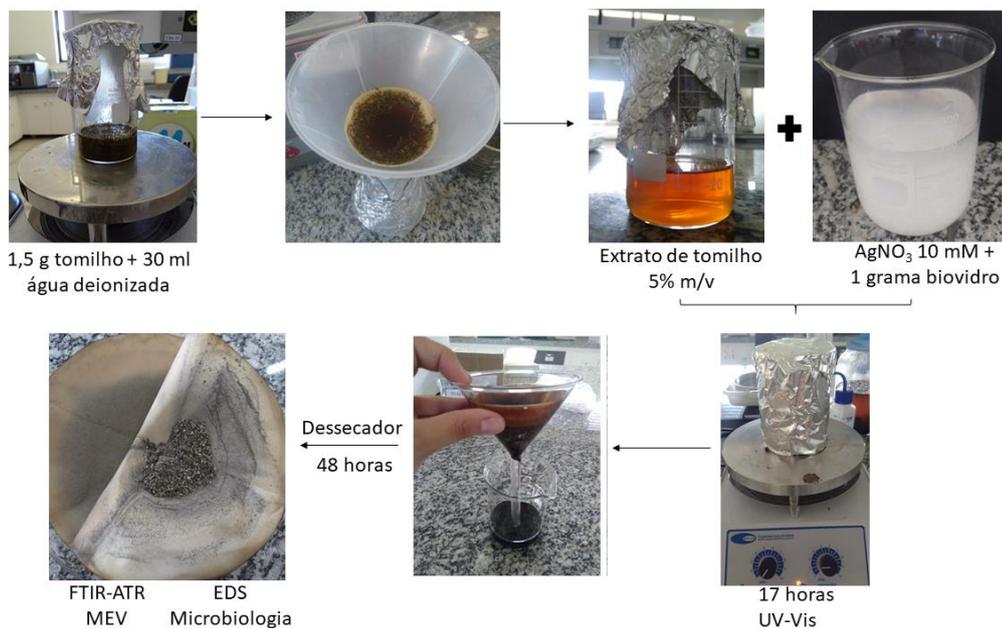
A síntese foi realizada baseando-se no trabalho de Behravan et al. (2019) e adaptando-se alguns procedimentos, já que há diferença no extrato utilizado e na inserção do pó de vidro bioativo.

Inicialmente, foi produzido o extrato de tomilho, misturando-se 1,5 gramas de tomilho em 30 ml de água deionizada fervendo, sob aquecimento e agitação por 20 minutos. Foi realizada a filtração do extrato, completando-se 30 ml com água deionizada devido a evaporação de água durante a extração. Assim, obteve-se uma solução com concentração de 5% m/v. O nitrato de prata foi dissolvido em água deionizada para a produção de uma solução 10 mM (0,17 gramas de  $\text{AgNO}_3$  em 100 ml água). Após a dissolução, foi adicionado 1 grama dos pós vitrocerâmicos nesta solução. O extrato de tomilho foi vertido sobre a solução de nitrato de prata com o pó vitrocerâmico, que se manteve disperso na solução, e instantaneamente foi observada a mudança na coloração da solução, que ficou marrom escuro, indicando a formação das nanopartículas. Essa mistura foi deixada em agitação por 17 horas para que se formasse uma maior quantidade de nanopartículas de prata e para que estas pudessem nuclear de forma homogênea por toda a superfície dos pós vítreos. O béquer com a mistura foi mantido totalmente vedado com papel alumínio durante todo o tempo, pois as nanopartículas de prata são sensíveis a radiação UV.

A mistura do extrato de tomilho com a solução de nitrato de prata, sem a adição do vidro bioativo, foi avaliada por UV-Vis para comprovação da formação de nanopartículas de prata. O pó

final formado pela incorporação das nanopartículas foi avaliado por FTIR-ATR, MEV e Microbiologia. As etapas descritas são apresentadas de forma resumida na Figura 7.

Figura 7 - Etapas de síntese e incorporação das nanopartículas de prata.



Fonte: Do autor (2021).

### 5.2.7 Espectroscopia RAMAN para as amostras de vidro bioativo

Para a identificação das ligações químicas da rede vítrea formadas durante a calcinação das amostras de vidro bioativo produzidas conforme descrito em 5.2.5, foi realizada uma Espectroscopia Raman. Este teste foi realizado em equipamento LabRAM HR Evolution (HORIBA Scientific), do Departamento de Física da Universidade Federal de Lavras.

Foi utilizado laser monocromático verde (532 nm) com potência de 3 mW e resolução espectral de 7 cm<sup>-1</sup>. Foram avaliadas 3 regiões diferentes em cada amostra para compreensão da homogeneidade da síntese.

### 5.2.8 UV- Vis das nanopartículas de prata

Foi feito UV-Vis da mistura entre o extrato e o AgNO<sub>3</sub>, obtido em 5.2.6, para que fosse validada a formação das nanopartículas, já que a mesma provoca alteração na coloração da solução. Foi necessário a dissolução de 25 vezes do extrato, utilizado como branco, e da mistura para que pudessem ser lidas pelo equipamento. O teste foi realizado em equipamento SHIMADZU UV-3600 Plus, com leitura de 400 a 700 cm<sup>-1</sup> e utilizando cubeta de quartzo. Foi feita a leitura 30 minutos após a mistura do extrato com a solução de nitrato de prata e após as 17 horas que foram deixadas para a síntese final. Assim, é possível analisar a formação das nanopartículas com o tempo. Além da indicação de formação de nanopartículas devido ao seu

pico de absorção conhecido, esse teste permite que se tenha uma ideia sobre o formato e estabilidade das mesmas. O vidro bioativo não foi adicionada a mistura para esse teste para que não interferisse no espectro.

### **5.2.9 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier com reflexão atenuada (FTIR-ATR) para as amostras produzidas**

A composição química das amostras de vidro bioativo antes e após a adição das nanopartículas de prata foi avaliada por FTIR-ATR, para que fosse comparada as interações intermoleculares entre as soluções, verificando se houve a formação e/ou alteração de fases precursoras de hidroxiapatita. Este ensaio foi realizado em equipamento *Bomen MB-100C26*, do Laboratório de Espectroscopia no Infravermelho do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras.

A faixa espectral de análise foi de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ , com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e 128 varreduras.

### **5.2.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) para as amostras produzidas**

Para a análise morfológica superficial foi realizada uma MEV com as amostras de vidro bioativo antes e após a incorporação das nanopartículas de prata. O estudo morfológico após a incorporação foi realizado junto com uma análise EDS das amostras para verificação da incorporação da prata ao biovidro.

Esses testes foram realizados em equipamento LEO EVO 40 XVP com sistema EDS XFlash 6160- Bruker do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

As amostras em forma de pó foram metalizadas com ouro para que houvesse condutividade suficiente para obtenção das imagens. Para a realização do EDS foram utilizadas outras amostras sem essa metalização para que não houvesse interferência do ouro na análise composicional.

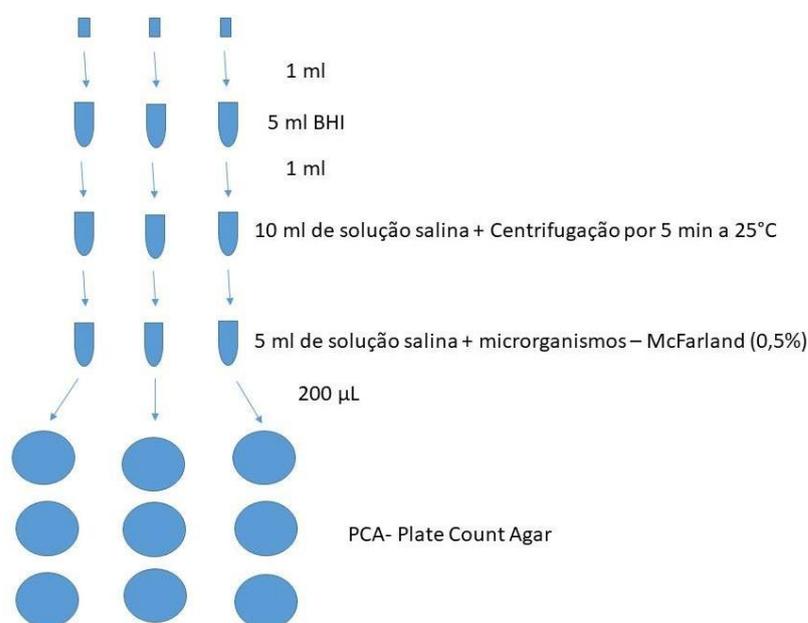
### **5. 2.11 Microbiologia para amostra de vidro bioativo obtida a partir da cinza da casca de arroz (BVC)**

O vidro bioativo obtido a partir da casca de arroz foi avaliado por microbiologia antes e depois da adição das nanopartículas de prata para que fosse verificado o comportamento antimicrobiano destas. Foi utilizado um microorganismo Gram- positivo, *Staphylococcus aureus*, e outro Gram- negativo, *Pseudomonas aeruginosa*, para a análise através do teste de difusão em ágar. Além disso, foram utilizadas dois tipos de cepas de cada uma dessas espécies

para melhor análise biológica de atuação das nanopartículas.

O preparo da cultura celular foi feito a partir de 3 eppendorfs diferentes, para cada uma das bactérias, para que o teste fosse realizado em triplicata, permitindo uma melhor conclusão estatística. Para cada eppendorf, foi retirado 1 ml da bactéria inoculada e colocado em tubo de ensaio contendo 5 ml de Brain Heart Infusion (BHI). Desta solução, 1 ml foi transferido para outro tubo contendo 10 ml de solução salina 0,85%, levado a centrifugação por 5 minutos a 25°C para que se formasse o pellet da bactéria. Posteriormente, os microorganismos foram adicionados a 5 ml de solução salina 0,85% até que se observasse uma concentração equivalente a 0,5% na escala McFarland. 200 µL dessa última solução foi transferido para uma placa de Petri com Plate Count Agar (PCA) e espalhado pela técnica spread-plate. Este procedimento foi repetido para mais duas placas, realizando-se novamente uma triplicata. Os passos citados estão esquematizados na Figura 8, sendo repetidos para cada uma das bactérias utilizadas.

Figura 8 - Etapas de preparo das placas para análise microbiológica.



Fonte: Do autor (2021).

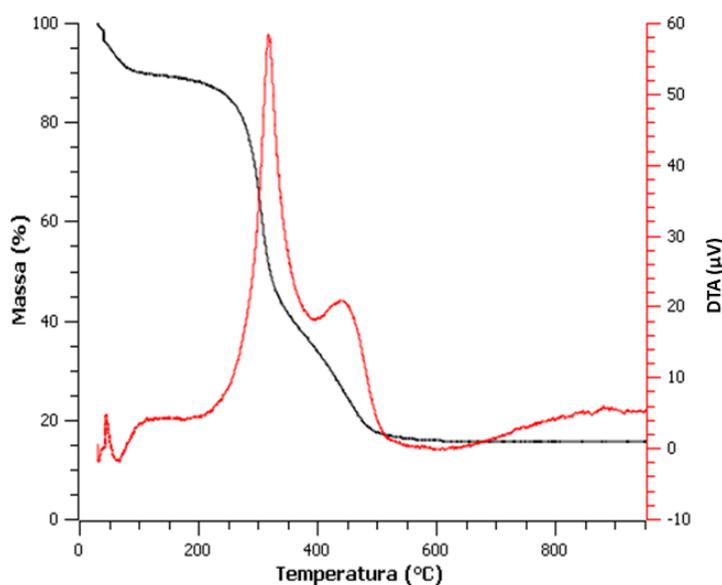
Sobre as bactérias espalhadas foi colocado um disco com clorfenicol 0,02% para atuar como controle, já que é um antibiótico com ação conhecida contra essas bactérias e, em diferentes regiões, foi depositado 0,01 grama do vidro bioativo puro e com as nanopartículas de prata. Assim, foi possível observar qual a ação microbiana das nanopartículas através da formação ou não de halos após 24 horas de incubação a 37 °C.

## 6 Resultados e discussão

### 6.1 Termogravimetria (TGA) e Análise Térmica Diferencial (DTA) para a Casca de arroz

Na Figura 9 é apresentado o comportamento térmico da casca de arroz tratada com o ácido oxálico *in natura*, sem passar pela calcinação.

Figura 9 - TGA e DTA para a casca de arroz tratada com ácido oxálico.



Fonte: Do autor (2021).

É possível observar uma perda mássica inicial, até 100 °C de, aproximadamente 10%, que está relacionada a perda de água física adsorvida na amostra e outras substâncias voláteis. Esse evento endotérmico é verificado na curva de DTA em 63 °C. Entre 200 e 330 °C há uma rápida e intensa perda de massa de 43%, ligada à decomposição térmica da hemicelulose e da celulose que são componentes orgânicos da casca de arroz. A hemicelulose, que é o componente menos estável, se decompõe principalmente entre 150 e 350 °C e a celulose, entre 275 e 350°C (BAKAR; YAHYA; GAN, 2016). A decomposição desses componentes é verificada pelo pico exotérmico em aproximadamente 315 °C. O tratamento da casca de arroz com o ácido oxálico permite a hidrólise ácida da hemicelulose e da celulose, fazendo com que eles sejam degradados termicamente com maior facilidade.

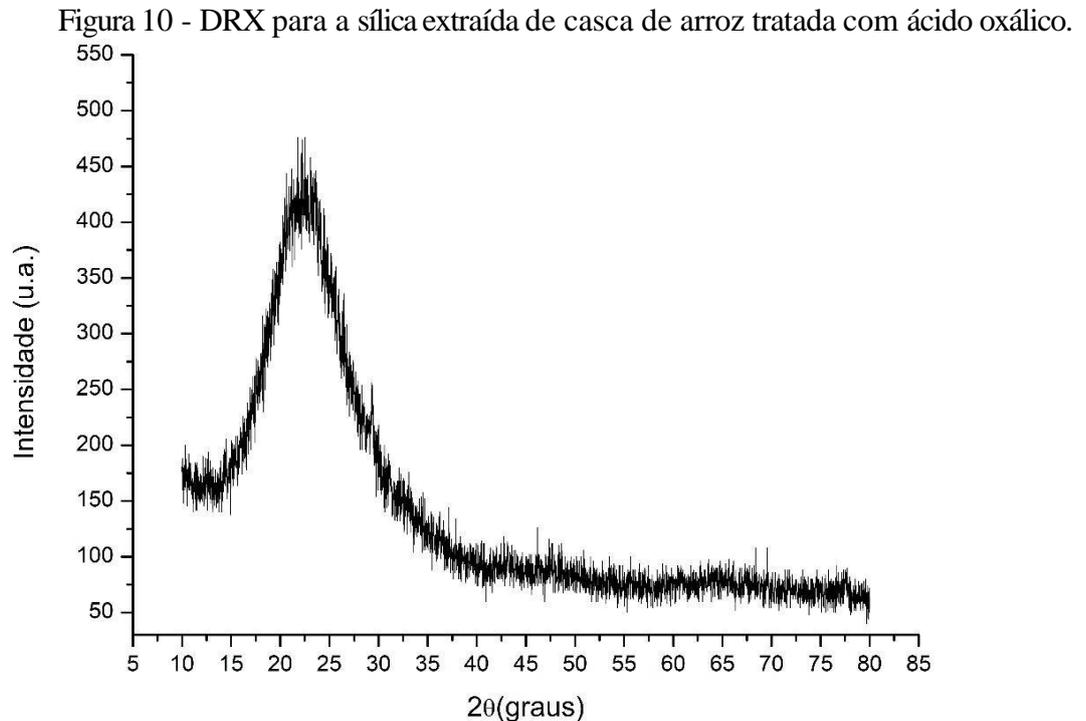
Entre 350 e 550 °C há uma perda de massa de cerca de 29% devido à degradação térmica da lignina que acontece entre 370 e 600°C (BAKAR; YAHYA; GAN, 2016). Esse fenômeno é confirmado pelo pico exotérmico em 440 °C. O resíduo de aproximadamente 16% é composto pela cinza da casca de arroz (CCA), constituída principalmente por sílica.

Para esse trabalho, escolheu-se trabalhar a 600°C para a calcinação da casca de arroz por ser a menor temperatura que promove a decomposição de todos os componentes

orgânicos.

## 6.2 Difração de Raios X (DRX) para a CCA

Na figura 10 é apresentado o comportamento da cinza da casca de arroz obtida após a calcinação quando submetida à análise de DRX.



Fonte: Do Autor (2021).

Com a análise é possível verificar a presença de um halo amorfo entre  $2\theta=15^\circ$  e  $2\theta=31^\circ$ , com intensidade máxima em, aproximadamente,  $2\theta= 22^\circ$ , que está relacionado à sílica amorfa como previsto na análise térmica e conforme o que foi observado por outros pesquisadores para a casca de arroz calcinada à  $600^\circ\text{C}$  (BAKAR; YAHYA; GAN, 2016; HUBADILLAH et al., 2018; SANTANA COSTA; PARANHOS, 2018). A formação de sílica amorfa condiz com a não observação de picos exotérmicos na DTA até a temperatura de  $600^\circ\text{C}$ , utilizada neste trabalho.

Tanto a estrutura cristalina quanto a amorfa da sílica possuem um íon de oxigênio ligando dois tetraedros de silicato, embora haja a formação de um arranjo mais aberto na sílica amorfa (VALLET-REGÍ; BALAS, 2008). Essa estrutura aberta facilita a inclusão de cátions modificadores de rede, o que aumenta a desordem da rede vítrea e, conseqüentemente, sua reatividade, além de permitir a obtenção de uma ampla gama de vidros de sílica (VALLET-REGÍ; BALAS, 2008). Os vidros bioativos são favorecidos por uma rede mais desordenada quando em meio aquoso, já que a alta reatividade favorece a troca iônica necessária a formação da

camada de hidroxiapatita (HENCH; WILSON, 1984).

### 6.3 Fluorescência de Raios- X para a CCA

A partir da espectroscopia de fluorescência é possível obter a composição química da amostra produzida a partir da casca de arroz (Tabela 2). A análise mostra a sílica como a principal componente, com uma baixa quantidade de impurezas que também puderam ser observadas em outros trabalhos (BAKAR; YAHYA; GAN, 2016; HUBADILLAH et al., 2018; SANTANA COSTA; PARANHOS, 2018). Em um trabalho semelhante realizado por Fernandes et al., foi obtida sílica com 99,7% de pureza a partir do tratamento da casca de arroz com ácido oxálico.

Este resultado, associado à análise DRX, mostra que a amostra produzida neste trabalho é constituída por sílica amorfa com 96,6% de pureza.

Tabela 2 - Composição química em porcentagem peso da amostra obtida pela calcinação da casca de arroz tratada com ácido oxálico obtida por EDX

Elemento	Composição (% peso)
SiO <sub>2</sub>	<b>96,60</b>
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	<b>2,48</b>
CaO	<b>0,67</b>
SO <sub>3</sub>	<b>0,14</b>
K <sub>2</sub> O	<b>0,05</b>

### 6.4 Síntese das amostras de vidro bioativo

O pH das soluções de silicato de sódio e após a preparação do sol pela mistura com o nitrato de cálcio altamente ácido está descrito na Tabela 3.

Tabela 3 - pH das soluções de silicato de sódio e do sol sintetizados.

Amostra	pH solução de silicato de sódio	pH do sol
Vidro bioativo feito a partir do TEOS (BVT)	14	4
Vidro bioativo feito a partir da cinza da casca de arroz (BVC)	14	1

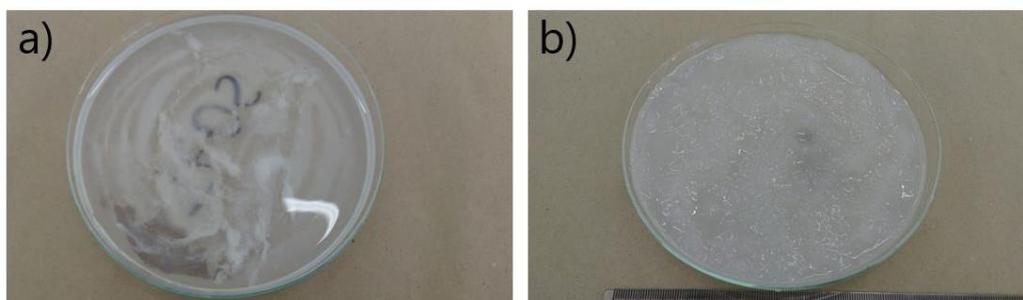
Fonte: Do autor (2021).

Ambas as soluções de silicato de sódio apresentaram pH básico igual, indicando que tanto o TEOS como a CCA reagiram de forma semelhante com a solução de NaOH. O pH final

do sol obtido foi de caráter ácido para as duas amostras, apresentando uma pequena diferença que pode estar relacionada à diferença de reatividade entre a CCA e o TEOS em nitrato de cálcio ácido. Nayak, Kumar e Bera (2010) obtiveram pH=3 para o sol feito a partir de uma composição semelhante à desse trabalho utilizando a CCA tratada com HCl. Porém, mesmo com pequenas diferenças no valor do pH, este foi ácido em todos os casos caracterizando catálise ácida que era a desejada para esse processo sol gel.

O sol precursor do vidro bioativo feito a partir do TEOS (BVT) se transformou em gel após 10 horas à temperatura ambiente, enquanto o precursor do vidro feito a partir da cinza da casca de arroz (BVC) levou apenas 30 minutos. Como o pH do sol feito a partir da CCA foi menor, esperava-se maior velocidade das reações de hidrólise de policondensação responsáveis pela gelificação. Além disso, este gel foi mais viscoso e homogêneo do que o feito a partir do TEOS, como pode ser observado na Figura 11. Como a viscosidade é uma função do tempo, a viscosidade desse último gel poderia se aproximar do primeiro se a reação fosse deixada por mais tempo e se fosse adicionada uma maior quantidade do catalisador ácido  $\text{HNO}_3$ , esse processo provavelmente seria acelerado.

Figura 11 - Géis obtidos após o tempo de gelificação para as amostras: a) a partir do TEOS (BVT) e b) a partir da cinza da casca de arroz (BVC).

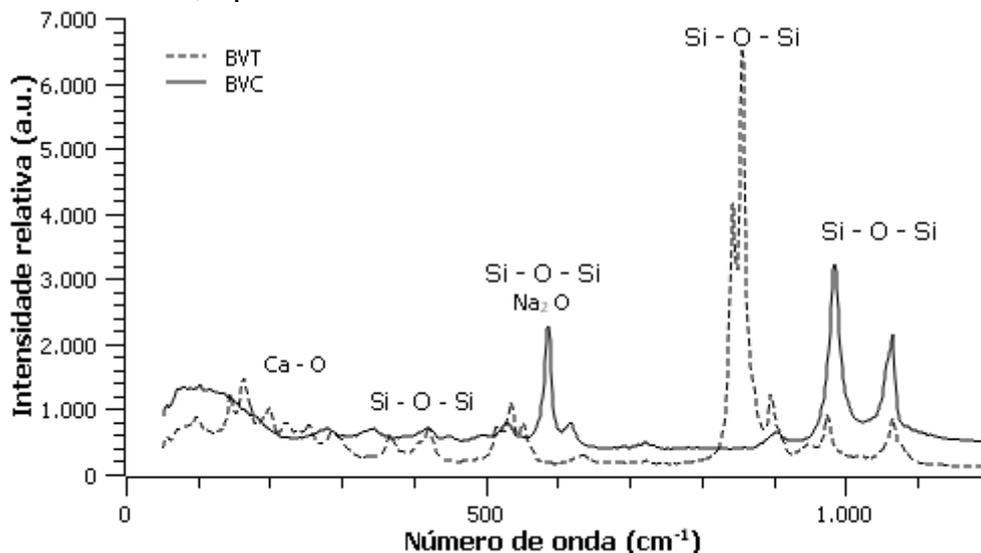


Fonte: Do autor (2021).

### 6.5 Espectroscopia RAMAN para as amostras de vidro bioativo

Na figura 12, são apresentados os espectros RAMAN para as duas amostras em análise, que mostra vibrações de estiramento da ligação Si-O-Si entre 840 e 1065  $\text{cm}^{-1}$  (QUINTERO SIERRA; ESCOBAR SIERRA, 2019).

Figura 12 - Espectro RAMAN para as amostras analisadas- amostra BVT obtida a partir do TEOS e BVC, a partir da CCA.



Fonte: Do autor (2021).

Bandas entre  $1000\text{ cm}^{-1}$  e  $1070\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas às vibrações assimétricas das ligações Si-O-Si e entre  $200$  e  $650\text{ cm}^{-1}$ , às vibrações da ligação Ca-O, onde se observa uma melhor definição de picos para a mostra feita a partir do TEOS (BVT) (FREDERICCI et al., 2016). Bandas na região de  $700$  a  $1100\text{ cm}^{-1}$  são características das vibrações de estiramento Si-O em diferentes tetraedros de  $\text{SiO}_4$ , caracterizando diferentes unidades estruturais  $\text{Q}^n$ , onde  $n$  é o número de oxigênios ponteantes (ligados à rede vítrea) (TIWARI et al., 2013). A banda intensa a cerca de  $860\text{ cm}^{-1}$  para o BVT é atribuída a vibrações de alongamento de unidades de silicato  $\text{Q}_1$  e a banda mais intensa a  $980\text{ cm}^{-1}$  para o BVC, é atribuída a vibração de unidades  $\text{Q}_2$  (TIWARI et al., 2013).

Bandas entre  $500$  e  $620\text{ cm}^{-1}$  podem ser observadas para as duas amostras e correspondem à vibração oscilante Si – O – Si e também podem ser atribuídas à pequena presença de  $\text{Na}_2\text{O}$  (BEN-ARFA et al., 2018b). Os picos localizados em  $420$  e  $1065\text{ cm}^{-1}$  para ambas as amostras indicam a presença de espécies tectossilicatos, que possuem relação Si:O de 1:2, sendo que este último pico é típico de matrizes amorfas ricas em sílica (BEN-ARFA et al., 2018b). Picos em  $1190\text{ cm}^{-1}$  também são característicos de matrizes amorfas, porém, não foram observados nas amostras. Além disso, a presença de bandas em  $420\text{ cm}^{-1}$ , mais pronunciadas para o BVT, indicam a condensação do grupo funcional silanol (Si-OH) a siloxano (Si-O-Si) (QUINTERO SIERRA; ESCOBAR SIERRA, 2019). A ausência de bandas de  $643$  a  $654\text{ cm}^{-1}$  confirmam a total hidrólise da sílica de partida (QUINTERO SIERRA;

ESCOBAR SIERRA, 2019). Assim, os resultados indicam síntese correta de rede vítrea. Além disso, essas ligações identificadas para os grupos referentes à sílica (Si - O - Si e Si - O<sup>-</sup>) proporcionarão a formação de grupos silanóis, que atuam como locais de nucleação da camada de hidrxiapatita quando em contato com os fluidos corporais (FRAJKOROVÁ et al., 2015).

A análise foi feita em triplicata sendo que para o vidro bioativo obtido a partir da casca de arroz (BVC) foram gerados espectros idênticos para as três regiões analisadas, enquanto para o obtido a partir do TEOS (BVT), uma das regiões apresentou espectro um pouco destoante, o que pode estar relacionado ao fato deste ter apresentado uma síntese menos homogênea. Para comprovação desse pensamento seria necessária a análise de mais amostras.

### **6.6 Espectroscopia UV- Vis para as nanopartículas de prata**

A mudança de coloração pode ser observada na Figura 13 para o extrato puro e com as nanopartículas, diluídos 25 vezes.

Figura 13 - Extrato puro e com as nanopartículas, respectivamente, diluídos 25 vezes para espectroscopia UV-Vis.



Fonte: Do autor (2021).

Sem diluição, a formação das nanopartículas deixa a solução com coloração marrom escuro, como pode ser observado na Figura 14 durante a filtração.

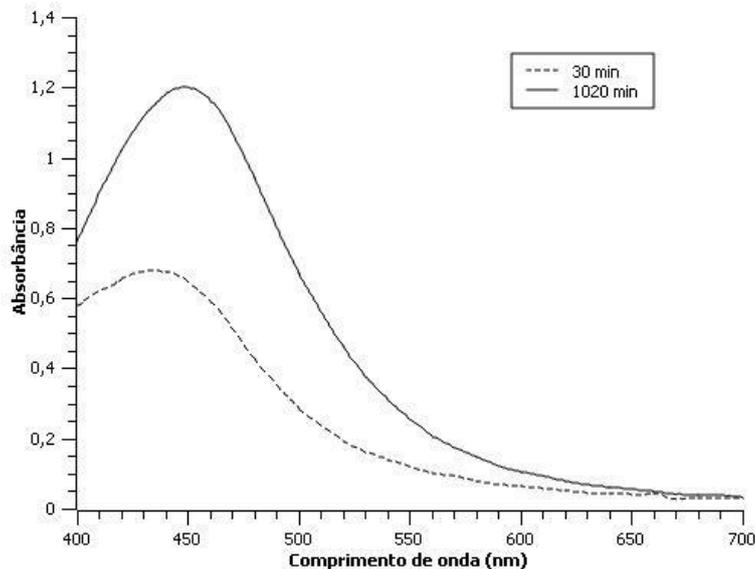
Figura 14 - Filtração das nanopartículas de prata com o vidro bioativo.



Fonte: Do autor (2021).

A coloração marrom das nanopartículas de prata em solução aquosa surge devido à vibração combinada de elétrons livres das nanopartículas em ressonância com ondas de luz, que dão origem a uma banda de absorção de ressonância plasmônica superficial (SPR) na região visível da radiação eletromagnética (AMALADHAS et al., 2012). Assim, a espectroscopia UV-Vis mede essa absorção SPR.

Figura 15 - Espectro UV-Vis para a formação das nanopartículas de prata após 30 minutos e 17 horas.



Fonte: Do autor (2021).

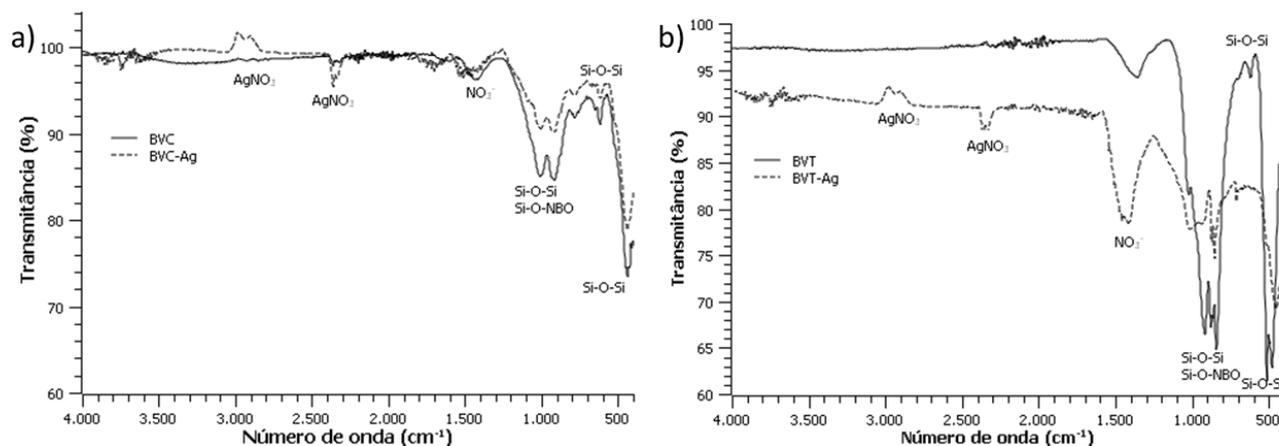
No espectro UV-Vis é possível observar apenas um pico de absorbância para ambos os tempos, sendo centralizado em 433 nm para a leitura feita logo após a mistura do extrato com a solução de nitrato de prata e em 448 nm, após as 17 horas. Geralmente, o comprimento de onda do pico de absorção da ressonância das nanopartículas de prata fica na faixa de 400 a 500 nm, o que indica que houve a formação das mesmas (MO et al., 2015). Além disso, a frequência e a largura

dos picos da interação óptica (SPR) dependem da forma e do tamanho das partículas (HUANG et al., 2011). A centralização dos picos nos comprimentos de onda já mencionados implica que as nanopartículas de prata eram principalmente esféricas (AMALADHAS et al., 2012; HUANG et al., 2011). O aumento na intensidade do pico com o tempo de síntese indica um aumento na concentração das nanopartículas e seu deslocamento de 433 para 448 nm está relacionado a um desvio para a região do vermelho, que acontece quando há aumento no tamanho de partícula (HUANG et al., 2011). Isso acontece porque a biorredução dos íons de prata acontece progressivamente com o tempo e, simultaneamente, acontece o crescimento e aglomeração das partículas, sendo esta devido à instabilidade das mesmas. As amostras antes da adição das nanopartículas apresentavam coloração branca e, após, apresentaram coloração cinza.

### 6.7 FTIR-ATR para as amostras produzidas

Na figura 16, são apresentados os espectros de FTIR-ATR para as duas amostras produzidas, antes e após a adição das nanopartículas de prata.

Figura 16 - FTIR para as amostras sintetizadas a partir a) da casca de arroz (BVC) e b) a partir do TEOS (BVT) antes e após a adição das nanopartículas de prata.



Fonte: Do autor (2021).

Comparando-se as amostras de vidro bioativo antes da adição das nanopartículas de prata, verifica-se que para o BVT existe uma banda em  $1375\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que para o BVC essa banda foi movida para  $1428\text{ cm}^{-1}$ , referentes ao nitrato residual ( $\text{NO}_3^-$ ) (BERTRAN; BUENO, 2014; LI; WANG; CHEN, 2015). O íon nitrato livre apresenta um grupo de simetria  $D_{3h}$  com três bandas de vibração em  $\nu_2(D_{3h}) = 820\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_3(D_{3h}) = 1387\text{ cm}^{-1}$  e  $\nu_4(D_{3h}) = 750\text{ cm}^{-1}$  e outro grupo,  $C_{2v}$ , com bandas  $\nu_1(C_{2v}) = 1054\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_2(C_{2v}) = 840\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_3(C_{2v}) = 1360\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_4(C_{2v})$  e  $\nu_6(C_{2v}) = 670\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_5(C_{2v}) = 1446\text{ cm}^{-1}$  (BERTRAN; BUENO, 2014). O efeito covalente do íon de cálcio, que também está presente nas amostras, sobre as ligações do íon nitrato leva à deformação da geometria trigonal que desloca a simetria de  $D_{3h}$  para  $C_{2v}$ . (BERTRAN;

BUENO, 2014). Esse efeito do íon de cálcio pode ser diminuído pela presença de água que pode interagir com esses íons. Como houve o tratamento térmico das amostras à 600 °C, não foi observada a presença de moléculas de água, apresentando apenas bandas de vibração correspondentes ao grupo  $C_{2v}$ . Assim, o vidro bioativo obtido a partir do TEOS (BVT) apresentou estiramento assimétrico da ligação  $NO_3^-$  do grupo  $\nu_3(C_{2v})$ , enquanto que o produzido a partir da cinza da casca de arroz (BVC) a banda refere-se ao estiramento simétrico em  $NO_3^-$  do grupo  $\nu_5(C_{2v})$ .

Entre 760 e 1044  $cm^{-1}$  é possível identificar ligações para os grupos referentes à sílica (Si-O-Si) e que indicam a existência de oxigênios não ligantes (NBO) formados pela incorporação dos íons modificadores na sílica formando rede. Os íons  $Ca^{2+}$  e  $Na^+$  quebram as ligações Si-O-Si para formar as espécies Si-O- presentes como  $SiO^- - Ca^{2+} - ^-OSi$  e  $SiO^- - Na^+ - ^-OSi$  (BERTRAN; BUENO, 2014). As bandas de absorção em 844, 877 e 917  $cm^{-1}$  para o BVT e em 916 e 773  $cm^{-1}$  para o BVC foram atribuídas ao alongamento dos oxigênios não ligantes na ligação Si-O-NBO (BERTRAN; BUENO, 2014; PALAKURTHY et al., 2020). A banda correspondente ao alongamento assimétrico Si-O-Si estava localizada a cerca de 1040  $cm^{-1}$ , enquanto o alongamento simétrico foi detectado em 617  $cm^{-1}$ , para ambas as amostras (LI; WANG; CHEN, 2015; PALAKURTHY et al., 2020). As bandas entre 430 e 511  $cm^{-1}$  foram atribuídas às vibrações de flexão de ligações Si-O-Si em sílica amorfa (PALAKURTHY et al., 2020).

Essa interação entre a sílica formadora de rede e os íons modificadores indica a formação de rede vítrea. Observa-se também que a amostra feita a partir do TEOS (BVT) teve ligeiros deslocamentos em relação à amostra BVC, além de apresentar diminuição da largura das bandas, o que está relacionado a sua maior cristalinidade. Como a cristalinidade torna o material mais estável termodinamicamente, pode prejudicar a troca de íons entre o implante e a solução, o que reduziria a bioatividade. Logo, teoricamente o BVC poderia apresentar melhor bioatividade que o BVT. Porém, são necessários testes biológicos para comprovar essa hipótese, já que podem haver exceções como o Biossilicato® (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011). Além disso, assim como observado na espectroscopia RAMAN, as ligações identificadas para os grupos referentes à sílica (Si - O - Si e Si - O<sup>-</sup>) proporcionarão a formação de grupos silanóis, que atuam como locais de nucleação da camada de hidroxiapatita quando em contato com os fluidos corporais (FRAJKOROVÁ et al., 2015).

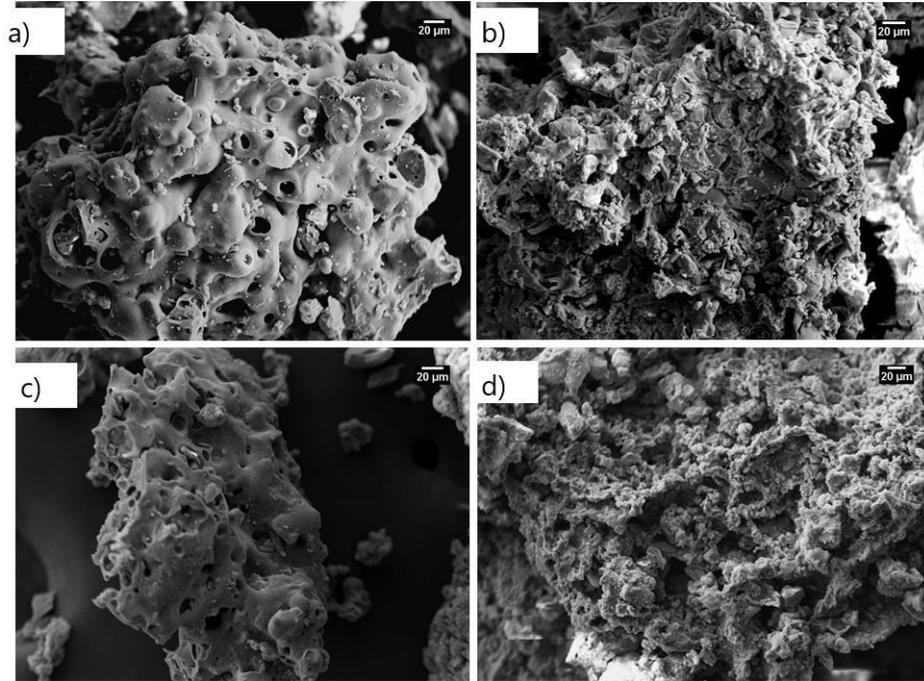
Após a adição das nanopartículas de prata, os picos citados anteriormente se mantiveram, não alterando a formação da rede vítrea e sua consequente relação com a formação da camada de hidroxiapatita durante a implantação. Foram formados novos picos de

forma semelhante para as duas amostras, o que está relacionado à incorporação do metal na rede vítrea. Os picos que surgiram em 2355, 2900 e 2980 para ambas as amostras são característicos do composto  $\text{AgNO}_3$  (NIST, 2021). Outros picos característicos dessa molécula se localizam em  $1470\text{ cm}^{-1}$  referente ao  $\text{NO}_3^-$ ,  $1340$ ,  $840$  e  $810\text{ cm}^{-1}$  que coincidem com os picos referentes às ligações já presentes nos biovidros (NIST, 2021). Assim, as pequenas diferenças observadas nos picos característicos das ligações Si-O-Si e  $\text{NO}_3^-$  demonstram a interação entre os materiais. Como as nanopartículas foram sintetizadas por rota biogênica a partir de extrato vegetal e não houve tratamento térmico posterior à incorporação, poderiam ter sido observadas ligações características de compostos orgânicos presentes no extrato. Porém, conforme analisado em outras literaturas que realizaram a síntese a partir de diferentes extratos vegetais, não foram observados picos semelhantes, apenas os picos próximos a  $2900\text{ cm}^{-1}$  que também podem ser característicos de vibrações da ligação C-H (MO et al., 2015; VALLI; VASEEHARAN, 2012). Assim, conforme observado no banco de dados pela semelhança das bandas deste trabalho com a molécula  $\text{AgNO}_3$ , acredita-se que os compostos orgânicos não se mantiveram de forma significativa nas partículas finais. Além disso, isto indica a presença da prata como íon  $\text{Ag}^+$ , além da sua forma reduzida, o que também contribui para a atividade antimicrobiana (MALEKI et al., 2014; XIU; MA; ALVAREZ, 2011).

### **6.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Energia Dispersiva (EDS) para as amostras produzidas**

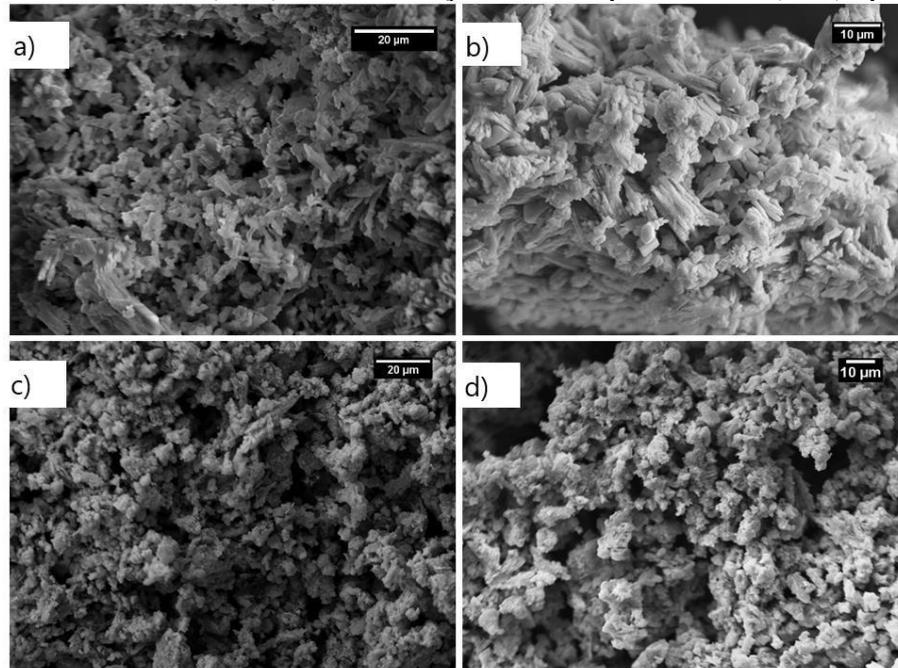
Na figura 17, são apresentadas imagens de Microscopia eletrônica da varredura para a amostra sintetizada a partir da casca de arroz antes e após a incorporação das nanopartículas, enquanto que a figura 18 apresenta as imagens para a amostra feita a partir do TEOS.

Figura 17 - Microscopia eletrônica de varredura para as amostras sintetizadas a partir da casca de arroz, sendo a) e b) antes da adição das nanopartículas e c) e d) após a adição.



Fonte: Do autor (2021).

Figura 18 - Microscopia eletrônica de varredura para as amostras sintetizadas a partir do TEOS, sendo a) e b) antes da adição das nanopartículas e c) e d) após a adição.



Fonte: Do autor (2021).

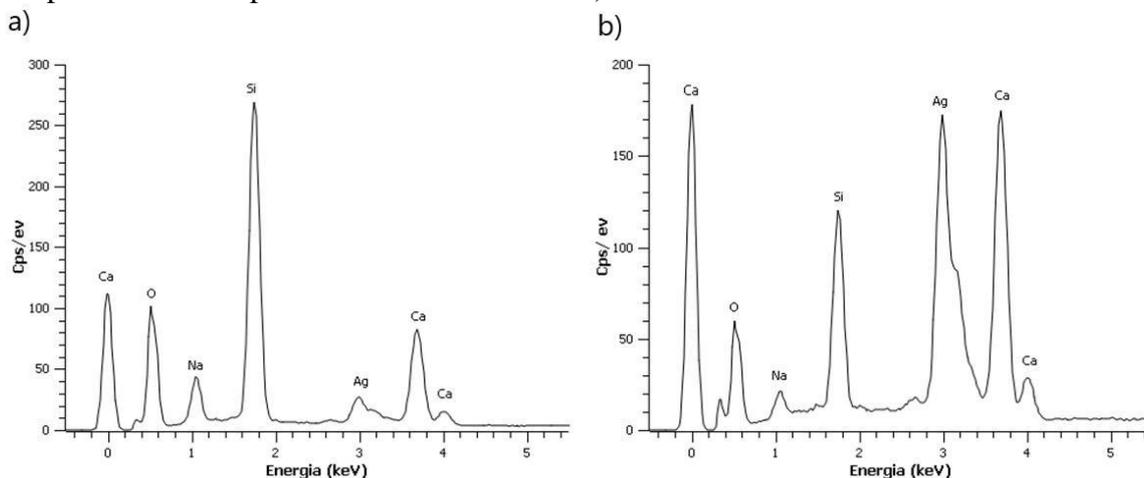
Nas imagens apresentadas antes da adição das nanopartículas, observa-se que a forma das partículas do vidro bioativo feito a partir do TEOS (BVT) é mais definida que a da amostra feita a partir da cinza da casca de arroz (BVC), mostrando-se na forma de aglomerados de bastonetes com superfícies irregulares. As imagens 17.a) mostram o BVC como um aglomerado poroso. Nayak e

Bera, 2010, também observaram estrutura porosa do material bioativo feito a partir da casca de arroz até a temperatura de calcinação de 1000 ° C. Comparando-se as imagens com maior ampliação, 17.b) e 18.b), é possível notar que existem partículas na amostra BVC com morfologia semelhante às apresentadas pela amostra BVT, porém, aderidas a uma superfície porosa. Durante a trituração dos pós- a amostra BVT gerou pós mais finos visivelmente e de mais fácil trituração, enquanto que a BVC apresentou particulados mais rígidos, que dificultaram sua trituração, formando maiores aglomerados. O material poroso apresenta vantagens na liberação de fármacos, além de ter maior reatividade, favorecendo a nucleação da camada de hidroxiapatita (VALLET-REGÍ; BALAS, 2008; ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Já formas não esféricas como bastonetes, com uma alta razão de aspecto, são capazes de aderir às células de forma mais eficaz, o que é vantajoso para o fornecimento direcionado de drogas anticâncer (ZHENG; BOCCACCINI, 2017).

A adição das nanopartículas em ambas as amostras fez com que a superfície se tornasse mais rugosa, provavelmente devido a deposição de prata na superfície. O EDS comprova a incorporação dessas nanopartículas ao material, além da presença dos demais elementos constituintes do vidro bioativo (Figura 19). A rugosidade implica em maior área superficial e, conseqüentemente, maior reatividade do material, o que é interessante para essa aplicação onde se deseja a troca iônica para formação da camada de hidroxiapatita e ação antibacteriana do íon Ag<sup>+</sup> quando houver o contato com os fluidos corporais.

A amostra com nanopartículas de prata feita a partir do TEOS apresentou alteração do formato acicular da superfície dos cristais, provavelmente devido à deposição da prata. Vale et al. (2018) e GOH et al. (2014) observaram microestrutura semelhante- morfologia mais esférica e aglomerada - ao produzirem uma vitrocerâmica com prata incorporada na síntese inicial e utilizando TEOS como fonte de sílica (GOH et al., 2014; VALE et al., 2019). A amostra feita a partir da casca de arroz, ao contrário, apresentou uma morfologia com menores alterações após a adição das nanopartículas de prata, mantendo-se a porosidade.

Figura 19 - EDS para as amostras após a incorporação das nanopartículas de prata, sendo: a) para a síntese a partir da casca de arroz e b) TEOS.



Fonte: Do autor (2021).

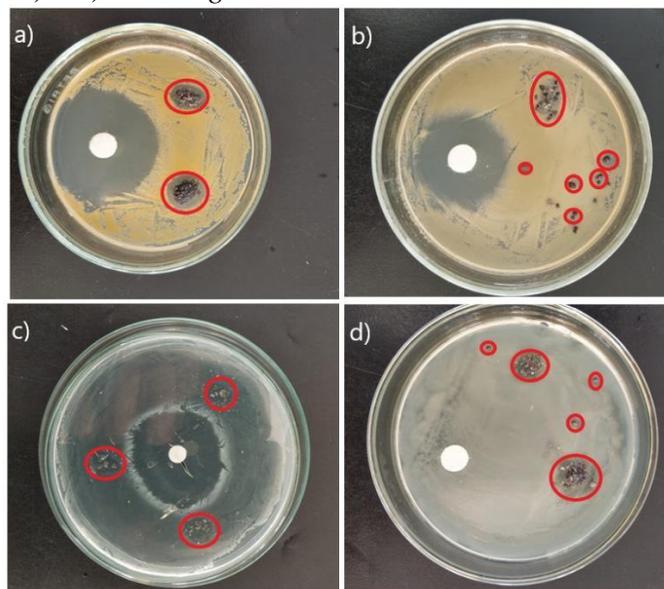
A intensidade dos picos variou entre as duas amostras, porém, como o EDS é uma técnica semi-quantitativa, pode ser equívoco afirmar algo referente a quantidade dos componentes apenas com esse teste. Outros autores também observaram a presença de prata, mantendo-se os elementos constituintes do biovidro produzido e utilizando formas diferentes da utilizada neste trabalho para a incorporação das nanopartículas (GOH et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2020; VALE et al., 2019).

### 6.9 Microbiologia para a amostra de vidro bioativo a partir da cinza da casca de arroz (BVC)

A análise microbiológica do vidro bioativo puro obtido a partir da casca de arroz não inibiu o crescimento bacteriano. A ausência de ação antimicrobiana na ausência das nanopartículas também foi verificada por outros autores (MARIAPPAN; RANGA, 2017; OLIVEIRA et al., 2020). A adição nas nanopartículas de prata inibiu o crescimento de ambas as bactérias analisadas- *P.aeruginosa* e *S. aureus*, o que também foi verificado por Oliveira et al. (2020) ao incorporarem nanopartículas de prata em um scaffold vitrocerâmico. Zurczyk et al. (2016) verificaram ação antimicrobiana da prata contra a bactéria *S. aureus* ao serem adicionadas em um compósito Ti- Bioglass 45S5<sup>(R)</sup>. Como foi verificado comportamento antimicrobiano apenas após a adição das nanopartículas, pode-se atribuir o potencial bactericida às nanopartículas de prata sendo que, as amostras obtidas a partir do TEOS também poderão apresentar esse comportamento quando funcionalizadas com a prata. A ação antimicrobiana das nanopartículas acontece pela liberação do íon  $Ag^+$ , mas o mecanismo de atuação ainda é estudado, sendo considerados estresse oxidativo, toxicidade do metal e alteração da permeabilidade da membrana celular bacteriana (JURCZYK et al., 2016).

Como a amostra estava na forma de pó, sua concentração e distribuição não foi completamente uniforme sobre a placa, o que não permitiu medições precisas do halo em todas, impedindo o cálculo estatístico com todas as amostras produzidas. Mas, a partir da medida das placas que apresentaram melhor concentração do pó foi possível observar um valor de zona de inibição média de, aproximadamente, 7 mm para a *P. aeruginosa* e de 8 mm para *S. aureus*. Essa zona de inibição relativamente pequena também foi observada por outros autores e está relacionada com o mecanismo de difusão controlado da prata que exibe uma redução na taxa de liberação de  $Ag^+$  da matriz vítrea devido a maior eletronegatividade do íon prata (TANASE et al., 2020; VALE et al., 2019).

Figura 20 - Análise microbiológica do vidro bioativo com as nanopartículas de prata, utilizando clorofenicol como solução controle e como bactérias em a) e b) *S. aureus* e c) e d) *P. Aeruginosa*.



Fonte: Do autor (2021).

A dispersão e concentração das partículas de forma não uniforme pela placa, como pode ser observado nas figuras 20.b) e 20.d) permitiu algumas observações. Quando as partículas ficaram dispersas pela placa, regiões com menor quantidade de partículas apresentaram halos menores, ou seja, quanto maior a concentração de prata, maior a ação inibitória (HUANG et al., 2011). Além disso, como o pó apresentava dispersão de tamanho das partículas foi possível observar que quanto menores e mais dispersas, maior a inibição. Isso ocorre devido a maior área de contato que é criada entre as nanopartículas e os microrganismos.

## 7 Conclusão

A produção de cinzas da casca de arroz a partir do tratamento com ácido oxálico foi eficiente devido ao alto teor de sílica amorfa obtido. O vidro bioativo produzido a partir da casca de arroz apresentou maior eficiência no tempo de síntese sol gel quando comparado a fonte comercial de sílica, TEOS. Além disso, a utilização das CCA na síntese não se diferenciou da amostra comercial quanto às ligações químicas formadoras da rede vítrea. Diante das análises realizadas, as duas amostras vítreas se diferenciaram apenas quanto à sua morfologia, o que pode influenciar na definição da aplicação final. A síntese de nanopartículas de prata por rota biogênica utilizando extrato de tomilho foi comprovada neste trabalho. Sua incorporação ao biomaterial foi verificada e não comprometeu a formação inicial de rede vítrea. Apenas a superfície das amostras ficou mais rugosa após a adição das nanopartículas, o que favorece a troca iônica necessária a aplicação desse material. A propriedade antimicrobiana das nanopartículas de prata foi confirmada para dois microorganismos, *S. aureus* e *P. Aeruginosa*. Assim, esse estudo demonstra grande potencial de desenvolvimento de um vidro bioativo utilizando a CCA como fonte de sílica devido a sua maior eficiência no tempo de síntese via sol-gel e características de estrutura vítrea semelhantes às observadas para amostra produzida com o reagente comercial, TEOS. Além disso, a incorporação de nanopartículas de prata a esse material adicionou a propriedade antibacteriana, sendo importante para aplicações em implantes ou revestimentos para regeneração óssea, com menor risco de contaminações.

## Referências

- ABDOLAH, A. et al. Preparation and characterization of the sol–gel nano-bioactive glasses modified by the coupling agent 3-(Trimethoxysilyl) Propyl methacrylate. **Journal of Advanced Materials In Engineering**, v. 35, n. 1, p. 23–33, 2016.
- ADEPU, S.; KHANDELWAL, M. Bacterial cellulose with microencapsulated antifungal essential oils: A novel double barrier release system. **Materialia**, v. 9, p. 100585, 2020.
- AHMED, S. et al. REVIEW A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. **Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 1, p. 17–28, 2016.
- AMALADHAS, T. P. et al. Biogenic synthesis of silver nanoparticles by leaf extract of *Cassia angustifolia*. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 3, n. 4, p. 1–8, 2012.
- BAINO, F. et al. Bioactive sol-gel glasses: Processing, properties, and applications. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 15, n. 4, p. 841–860, 2018.
- BAKAR, R. A.; YAHYA, R.; GAN, S. N. Production of High Purity Amorphous Silica from Rice Husk. **Procedia Chemistry**, v. 19, p. 189–195, 2016.
- BARRIONI, B. R. et al. Sol–gel-derived manganese-releasing bioactive glass as a therapeutic approach for bone tissue engineering. **Journal of Materials Science**, v. 52, n. 15, p. 8904–8927, 2017.
- BEN-ARFA, B. A. E. et al. Effects of catalysts on polymerization and microstructure of sol-gel derived bioglasses. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 101, n. 7, p. 2831–1839, 2018a.
- BEN-ARFA, B. A. E. et al. Synthesis and bioactivity assessment of high silica content quaternary glasses with Ca: P ratios of 1.5 and 1.67, made by a rapid sol-gel process. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 106, n. 2, p. 510–520, 2018b.
- BERTRAN, C. A.; BUENO, O. V. M. Combustion Synthesis of 58S Bioglass Using Sol-Gel Self-Propagating Combustion Method. **Key Engineering Materials**, v. 631, p. 36–42, 2014.
- CHEN, S. Y. et al. Preparation and characterization of mesoporous bioactive glass from agricultural waste rice husk for targeted anticancer drug delivery. **Ceramics International**, v. 43, n. 2, 2017.
- Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira 2019/2020**, CONAB, Brasília, 2020.
- DE SIQUEIRA, L. et al. Highly porous 45S5 bioglass-derived glass–ceramic scaffolds by gelcasting of foams. **Journal of Materials Science**, v. 53, n. 15, p. 10718–10731, 2018.
- DRAGO, L.; TOSCANO, M.; BOTTAGISIO, M. Recent evidence on bioactive glass antimicrobial and antibiofilm activity: A mini-review. **Materials**, 2018.
- DUAN, H.; WANG, D.; LI, Y. Green chemistry for nanoparticle synthesis. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 16, p. 5778–5792, 2015.
- FERNANDES, J. S. et al. Acta Biomaterialia Multifunctional bioactive glass and glass-ceramic biomaterials with antibacterial properties for repair and regeneration of bone tissue. v. 59, p. 2–11, 2017.

FERNANDES, L.; SABINO, M. G.; ROSSETTO, H. L. Método de extração de sílica da casca do arroz. **Cerâmica**, v. 60, n. 353, p. 160–163, 2014.

FRAJKOROVÁ, F. et al. Preparation and characterisation of porous composite biomaterials based on silicon nitride and bioglass. **Ceramics International**, v. 41, n. 8, p. 9770–9778, 2015.

FREDERICCI, C. et al. Aplicação da espectroscopia Raman na identificação de minerais asbestiformes. **Revista IPT - Tecnologia e Inovação**, v. 1, n. 1, p. 13–20, 2016.

GOH, Y. et al. Bioactive Glass : An In-Vitro Comparative Study of Doping with Nanoscale Copper and Silver Particles. v. 266, p. 255–266, 2014.

GUIMARÃES, F. B. A. P. et al. Síntese sol-gel de scaffolds porosos de vidro bioativo com adição de agente porogênico. **Cerâmica**, v. 62, n. 364, p. 328–337, 2016.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412–429, 2014.

HENCH, L. L.; WILSON, J. Surface-active biomaterials. **Science**, v. 226, n. 4765, p. 630–636, 1984.

HOSSEINZADEH, S. et al. The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review of *Thymus vulgaris*. **International Journal of Clinical Medicine**, v. 6, n. 9, p. 635–642, 2015.

HUANG, J. et al. Biogenic silver nanoparticles by *Cacumen Platycladi* extract: Synthesis, formation mechanism, and antibacterial activity. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 50, n. 15, p. 9095–9106, 2011.

HUANG, K. et al. Sol-gel derived mesoporous 58S bioactive glass coatings on AZ31 magnesium alloy and in vitro degradation behavior. **Surface and Coatings Technology**, v. 240, p. 137–144, 2014.

HUBADILLAH, S. K. et al. Fabrication of low cost, green silica based ceramic hollow fibre membrane prepared from waste rice husk for water filtration application. **Ceramics International**, v. 44, n. 9, p. 10498–10509, 2018.

JONES, J. R.; EHRENFRIED, L. M.; HENCH, L. L. Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, n. 7, p. 964–973, 2006.

JURCZYK, K. et al. Antibacterial activity of nanostructured Ti-45S5 bioglass-Ag composite against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)**, v. 26, n. 1, p. 118–125, 2016.

KUPPUSAMY, P. et al. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 2016.

LEENAKUL, W. et al. Effect of sintering temperature variations on fabrication of 45S5 bioactive glass-ceramics using rice husk as a source for silica. **Materials Science and Engineering C**, v. 61, p. 695–704, 2016.

LEPRY, W. C.; NASERI, S.; NAZHAT, S. N. Effect of processing parameters on textural and bioactive properties of sol-gel-derived borate glasses. **Journal of Materials Science**, v. 52, n. 15, p. 8973–8985, 2017.

LEPRY, W. C.; SMITH, S.; NAZHAT, S. N. Effect of sodium on bioactive sol-gel-derived

- borate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 500, p. 141–148, 2018.
- LI, H. C.; WANG, D. G.; CHEN, C. Z. Effect of zinc oxide and zirconia on structure, degradability and in vitro bioactivity of wollastonite. **Ceramics International**, 2015.
- LINDFORS, N. et al. Antibacterial bioactive glass S53P4 for chronic bone infections – A multinational study. In: **Advances in Experimental Medicine and Biology**. [s.l.: s.n.]. p. 81–92.
- LIU, J. et al. In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, n. 1, p. 310–316, 2013.
- LUKOWIAK, A. et al. Bioactive glass nanoparticles obtained through sol–gel chemistry. **Chemical Communications**, v. 49, n. 59, p. 6620–6622, 2013.
- MALEKI, S. et al. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. **Materials Science and Engineering: C**, v. 44, p. 278–284, 2014.
- MARIAPPAN, C. R.; RANGA, N. Influence of silver on the structure, dielectric and antibacterial effect of silver doped bioglass-ceramic nanoparticles. **Ceramics International**, v. 43, n. 2, p. 2196–2201, 2017.
- MEDEIROS, E. L. G. et al. Scaffolds de Vidros Bioativos : Desenvolvimento de Estruturas Bioativas Nanoestruturadas. **Revista eletrônica de Materiais e Processos**, v. 12, n. 3, p. 152–167, 2017.
- MELO, G. B. **SÍNTESE VERDE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA USANDO EXTRATO AQUOSO DE ERVA MATE ( *Ilex paraguariensis* )**  
**SÍNTESE VERDE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA USANDO EXTRATO AQUOSO DE ERVA MATE ( *ILEX PARAGUARIENSIS* )**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.
- MESQUITA, M.; PINTO, T.; MOREIRA., R. Potencial antimicrobiano de extratos e moléculas isolados de plantas da Caatinga: uma revisão. **Revista Fitos**, v. 11, n. 2, 2017.
- MO, Y. Y. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using eucalyptus leaf extract. **Materials Letters**, v. 144, p. 165–167, 2015.
- MOGHIMI, R. et al. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. **Food Chemistry**, v. 194, p. 410–415, 2016.
- MONDAL, P.; ANWESHAN, A.; PURKAIT, M. K. Green synthesis and environmental application of iron-based nanomaterials and nanocomposite: A review. **Chemosphere**, 2020.
- MOSTAFA, A. A. et al. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 361–366, 2018.
- NAYAK, J. P.; BERA, J. Effect of sintering temperature on mechanical behaviour and bioactivity of sol-gel synthesized bioglass-ceramics using rice husk ash as a silica source. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 2, p. 458–462, 2010.
- NAYAK, J. P.; KUMAR, S.; BERA, J. Sol-gel synthesis of bioglass-ceramics using rice husk ash as a source for silica and its characterization. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 356, n. 28–30, p. 1447–1451, 2010.
- National Institute os Standards and Technology- NIST. **Silver Nitrate- FTIR**. Disponível em:

<<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=B6000530&Mask=80>>. Acesso em 15 de fevereiro de 2021.

OLIVEIRA, R. L. M. S. et al. Bioglass-based scaffolds coated with silver nanoparticles: Synthesis, processing and antimicrobial activity. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 108, n. 12, p. 2447–2459, 2020.

OWENS, G. J. et al. Sol-gel based materials for biomedical applications. **Progress in Materials Science**, 2016.

PALAKURTHY, S. et al. A cost effective SiO<sub>2</sub>–CaO–Na<sub>2</sub>O bio-glass derived from bio-waste resources for biomedical applications. **Progress in Biomaterials**, 2020.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: Tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, 2015.

POLO, I. O.; JUNOT, D. O.; CALDAS, L. V. E. SOL-GEL  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> samples: Analysis of the TL kinetics. **Journal of Applied Physics**, v. 125, n. 18, 2019.

QUINTERO SIERRA, L. A.; ESCOBAR SIERRA, D. M. Synthesis and Bioactivity Evaluation of a Rice Husk-Derived Bioactive Glass. **JOM**, v. 71, p. 302–307, 2019.

RIVADENEIRA, J.; GORUSTOVICH, A. Bioactive glasses as delivery systems for antimicrobial agents. **Journal of Applied Microbiology**, 2016.

SANTANA COSTA, J. A.; PARANHOS, C. M. Systematic evaluation of amorphous silica production from rice husk ashes. **Journal of Cleaner Production**, v. 192, p. 688–697, 2018.

SAPTAJI, K.; GEBREMARIAM, M. A.; AZHARI, M. A. B. M. Machining of biocompatible materials: a review. **International Journal of Advanced Manufacturing Technology**, v. 97, n. 5–8, p. 2255–2292, 2018.

SINGH, P. et al. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. **Trends in Biotechnology**, v. 34, n. 7, p. 588–599, 2016.

SIQUEIRA, R. L.; ZANOTTO, E. D. Biosilicato®: Historico De Uma Vitroceramica Brasileira De Elevada Bioatividade. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1231–1241, 2011.

STOCHERO, N. P. et al. Development of refractory ceramics from residual silica derived from rice husk ash and steel fibres. **Ceramics International**, v. 43, n. 16, p. 13875–13880, 2017.

TANASE, C. et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous bark extract of *Picea abies* L. and their antibacterial activity. **European Journal of Wood and Wood Products**, v. 78, n. 2, p. 281–291, 2020.

TAVERI, G. et al. Consolidation of Bioglass® 45S5 suspension through cold isostatic pressing. **Ceramics International**, v. 47, n. 3, p. 4090–4096, 2021.

TIWARI, B. et al. Synthesis and structural studies of multi-component strontium zinc silicate glass-ceramics. **AIP Conference Proceedings**, v. 1512, p. 568-569, 2013.

VALE, A. C. et al. Optimization of silver-containing bioglass nanoparticles envisaging biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 94, p. 161–168, 2019.

VALLET-REGÍ, M.; BALAS, F. Silica Materials for Medical Applications. **The Open Biomedical Engineering Journal**, v. 2, n. 1, p. 1–9, 2008.

VALLI, J. S.; VASEEHARAN, B. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Cissus*

- quadrangularis extracts. **Materials Letters**, v. 82, p. 171–173, 2012.
- VERNÉ, E. et al. Na<sub>2</sub>O-CaO-SiO<sub>2</sub> glass-ceramic matrix biocomposites. **Journal of Materials Science**, v. 36, p. 2801–2807, 2001.
- WIĄCEK, A. E. et al. Wettability of plasma modified glass surface with bioglass layer in polysaccharide solution. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 551, p. 185–194, 2018.
- XIU, Z. M.; MA, J.; ALVAREZ, P. J. J. Differential effect of common ligands and molecular oxygen on antimicrobial activity of silver nanoparticles versus silver ions. **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 20, p. 9003–9008, 2011.
- YÜCEL, S. et al. Production, Characterization and Bioactivity of 46S6 Bioactive Glass from Rice Hull Ash Silica. **Advanced Materials Research**, v. 1120–1121, p. 857–861, 2015.
- ZHENG, K. et al. Antimicrobial silver nanomaterials. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 357, p. 1–17, 2018.
- ZHENG, K.; BOCCACCINI, A. R. Sol-gel processing of bioactive glass nanoparticles: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, 2017.