

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE Cu-ZnO E SUA
UTILIZAÇÃO NO REVESTIMENTO DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO POR
DEPOSIÇÃO ELETROFORÉTICA**

FRANCIELLI SILVA GENIÊR

ALEGRE, ES

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE Cu-ZnO E SUA
UTILIZAÇÃO NO REVESTIMENTO DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO POR
DEPOSIÇÃO ELETROFORÉTICA**

FRANCIELLI SILVA GENIÊR

ALEGRE, ES

2017

FRANCIELLI SILVA GENIÊR

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE Cu-ZnO E SUA
UTILIZAÇÃO NO REVESTIMENTO DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO POR
DEPOSIÇÃO ELETROFORÉTICA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Área de Concentração: Engenharia Química

Linha de Pesquisa: Materiais, Bioprocessos e Meio Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Christiano Jorge Gomes Pinheiro

Coorientador: Prof. Dr. Gilberto Augusto de Oliveira Brito

ALEGRE, ES

Julho de 2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Geniêr, Francielli Silva, 1991-
G331s Síntese e caracterização de nanopartículas de Cu-ZnO e sua
utilização no revestimento de superfícies de titânio por deposição
eletroforética / Francielli Siva Geniêr. – 2017.
82 f. : il.

Orientador: Christiano Jorge Gomes Pinheiro.
Coorientador: Gilberto Augusto de Oliveira Brito.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Materiais nanoestruturados. 2. Óxido de zinco. 3. Cobre.
4. Titânio. I. Pinheiro, Christiano Jorge Gomes. II. Brito, Gilberto
Augusto de Oliveira. III. Universidade Federal do Espírito Santo.
Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

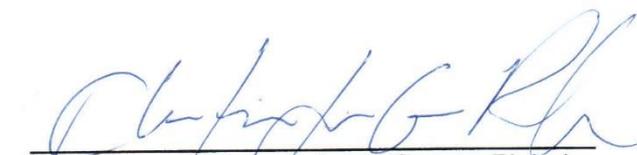
CDU: 66.0

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE Cu-ZnO E SUA
UTILIZAÇÃO NO REVESTIMENTO DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO POR
DEPOSIÇÃO ELETROFORÉTICA**

FRANCIELLI SILVA GENIÉR

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Examinada em 05 de julho de 2017.



Prof. D.Sc. Christiano Jorge Gomes Pinheiro
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. D.Sc. Gilberto Augusto de Oliveira Brito
Universidade Federal do Espírito Santo



Profª. D.Sc. Audrei Gimenez Barañano
Universidade Federal do Espírito Santo



Profª. D.Sc. Damaris Guimarães
Universidade Federal do Espírito Santo

DEDICATÓRIA

A Deus, por me surpreender diariamente com novos desafios e conquistas.
Aos meus pais, por investirem tanto no meu futuro, mesmo quando isso significou
renunciar aos seus próprios sonhos.

A vocês dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas forças renovadas a cada manhã.

Aos meus pais, Josefina e José Raimundo, pelo amor e apoio incondicionais.

Ao Nate, pelas palavras de amor e carinho em todos os momentos dessa jornada.

A esta universidade, corpo docente e corpo técnico-administrativo, por me proporcionar os recursos necessários e um ambiente de aprendizado e crescimento.

Ao meu orientador Christiano Jorge Gomes Pinheiro e coorientador Gilberto Augusto de Oliveira Brito, pelo incentivo constante e confiança no meu trabalho.

Ao professor Amit K. Roy, pelos ensinamentos e pelas oportunidades que me abriram tantos caminhos.

À Garima Bhardwaj, por dividir seu conhecimento comigo e contribuir com meu desenvolvimento acadêmico.

Aos colegas de profissão, técnicos de laboratório desta universidade, cujo suporte foi essencial. Em especial, a Elziane, Flaviane, Davi, Gustavo, Magda, Jerusa, Vanessa, Jairo, Helio e Augusto, sem vocês este trabalho não seria possível.

Aos amigos, por entenderem minhas ausências como parte do processo de realização deste trabalho e ainda assim continuarem ao meu lado.

A todos os que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

GENIÉR, Francielli Silva. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas de Cu-Zno e sua Utilização no Revestimento de Superfícies de Titânio por Deposição Eletroforética**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES. Orientador: Prof. D.Sc. Christiano Jorge Gomes Pinheiro. Coorientador: Prof. D.Sc. Gilberto Augusto de Oliveira Brito.

Grande parte dos insucessos das cirurgias de transplante metálico ocorre devido à rejeição corporal à superfície do material empregado e às infecções pós-operatórias na região implantada. Dessa forma, prevenir o crescimento bacteriano sobre esses materiais e simultaneamente contribuir para a sua adaptação ao organismo são as principais metas de pesquisas recentes em nanomedicina. Como uma forma de alcançar esses objetivos, o revestimento de próteses metálicas com nanopartículas representa uma alternativa viável aos métodos tradicionais de tratamento, como por exemplo, o uso de antibióticos cuja eficácia decresce com o surgimento de cepas resistentes. Nesse trabalho, foi realizada a aplicação de nanopartículas de óxido de zinco dopado com cobre (Cu-ZnO) para o revestimento de superfícies de titânio – metal comumente utilizado em implantes artificiais, a partir da técnica de deposição eletroforética. A escolha das nanopartículas de Cu-ZnO foi pautada em suas características antibacterianas, como demonstrado na literatura. Utilizando as técnicas de caracterização por microscopia (MEV e MET), espectroscopia (*EDS*) e difração de raios-X (DRX), pôde-se confirmar seu formato e os elementos presentes nas nanopartículas bem como o tamanho médio do cristalito (228,24 nm) e os parâmetros de rede. As nanopartículas foram suspensas e depositadas por eletroforese em placas de titânio por 1 minuto sob tensões entre 100 e 180 V a fim de se obter a melhor condição de deposição, sendo esta a de 160 V. O pH e a condutividade elétrica da suspensão também foram avaliados antes e após a *EPD*. Os resultados de *EDS* confirmaram a presença do nanomaterial no depósito e as imagens obtidas por MEV confirmaram o aumento da rugosidade superficial após a deposição eletroforética. Assim sendo, almejou-se nesse trabalho explorar o potencial de dessa técnica para o revestimento em implantes artificiais e, por conseguinte, contribuir para a pesquisa em nanotecnologia e suas aplicações em medicina.

Palavras-chave: nanomateriais, deposição eletroforética, Cu-ZnO.

ABSTRACT

GENIÊR, Francieli Silva. **Synthesis and Characterization of Cu-ZnO Nanoparticles and their Electrophoretic Deposition on Titanium Surfaces**. 2017. Dissertation. (Master degree in Chemical Engineering) – Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES. Adviser: Prof. D.Sc. Christiano Jorge Gomes Pinheiro. Co-adviser: Prof. D.Sc. Gilberto Augusto de Oliveira Brito.

The majority of metallic implant failures is due to body rejection to the material's surface and to postoperative infections. Therefore, preventing bacterial growth on these materials and simultaneously contributing to their body adaptation are the main goals of recent researches on nanomedicine. As a way to reach these objectives, coating metallic prosthesis with nanoparticles represents a viable alternative to traditional treatment methods such as antibiotic administration, whose efficacy decreases as antibiotic-resistant strains of bacteria rise. The present work presents the use of copper doped zinc oxide nanoparticles (Cu-ZnO) to coat titanium surfaces, a commonly used material in medical devices, by electrophoretic deposition. These nanoparticles were chosen due their antibacterial characteristics, as presented on recent publications. Through microscopy (SEM and TEM), spectroscopy (EDS), and X-ray diffraction (XRD), the format and composition of the nanoparticles was confirmed as well as their crystallite size (228.24 nm) and lattice parameters. This material was suspended and deposited by electrophoresis on titanium plates for 1 minute under voltages between 100 and 180 V in order to obtain the best deposition condition, which was 160 V. The pH and conductivity of the suspension was also evaluated before and after the EPD. The EDS results confirmed the presence of the nanomaterial in the deposit. SEM images confirmed the increased surface roughness after electrophoretic deposition. Hence, this work's goal was to explore a new potential coatings process for artificial implants, in the way of contributing to the nanotechnology research field and its applications on medicine.

Keywords: nanomaterials, electrophoretic deposition, Cu-ZnO.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas cristalinas de ZnO.	21
Figura 2. Esquema representando uma célula unitária de óxido de zinco com átomo de cobre como dopante.	25
Figura 3. Ilustração das técnicas de microscopia e seus alcances.	31
Figura 4. Esquema com arranjos típicos para análise de superfícies e alguns métodos com seus respectivos alcances de profundidade.	40
Figura 5. Esquema de um processo de <i>plasma spray</i>	41
Figura 6. Esquema demonstrando a configuração de sistemas de deposição eletroforética.	44
Figura 7. Esquema representativo da formação de dupla camada elétrica em suspensão de partículas.	44
Figura 8. Resultados de MEV para superfícies de titânio revestidas com hidroxiapatita por deposição eletroforética (a), <i>plasma spray</i> (b) e sem revestimento (c).	48
Figura 9. Unidades formadoras de colônias de <i>S. aureus</i> em superfícies revestidas por EPD, plasma spray e sem revestimento.	49
Figura 10. Comparação entre as técnicas de revestimento por <i>plasma spray</i> , deposição eletroforética, deposição física de vapores por evaporação e pulverização catódica quanto à espessura de revestimento (a), tamanho típico de poros (b) e custo relativo (c).	51
Figura 11. Célula para deposição eletroforética de Cu-ZnO em titânio.	56
Figura 12. Imagens obtidas por MET de amostra de nanopartículas de Cu-ZnO.	57
Figura 13. Difratoograma de raios-X da amostra de nanopartículas de Cu-ZnO.	59
Figura 14. Difratoograma de raios-X da amostra de nanopartículas de Cu-ZnO e de ZnO puro com destaque para o deslocamento dos picos principais.	61
Figura 15. Imagens obtidas por MEV das amostras de (a) nanopartículas de Cu-ZnO e (b) PVA.	63
Figura 16. Espectro obtido por EDS da amostra de nanopartículas de Cu-ZnO.	64
Figura 17. Imagens obtidas por microscopia óptica das amostras depositadas a 120 V e a 160 V.	65
Figura 18. Imagens obtidas por MEV da superfície de titânio sem revestimento (a) e revestida com nanopartículas de Cu-ZnO depositadas por EPD por 1 minuto a 160 V (b). ...	68
Figura 19. Espectro obtido por EDS da amostra titânio revestido com nanopartículas de Cu-ZnO sob EPD por 1 minuto a 160 V.	69

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1.	Objetivos	13
1.1.1.	Objetivo Geral	13
1.1.2.	Objetivos Específicos	13
1.2.	Justificativa	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1.	Nanotecnologia	15
2.1.1.	Catálise e Combustíveis	16
2.1.2.	Eletrônicos e Baterias	17
2.1.3.	Biomedicina	18
2.2.	Nanopartículas	19
2.2.1.	Nanopartículas de ZnO	20
2.3.	Síntese de Nanopartículas	26
2.3.1.	Síntese de Nanopartículas de ZnO	27
2.4.	Caracterização de Nanopartículas	29
2.4.1.	Métodos de Microscopia	29
2.4.2.	Espectroscopia de Raios-X por Energia Dispersiva (EDS)	32
2.4.3.	Difração por Raios-X (DRX)	33
2.4.4.	Outras Técnicas Usuais	34
2.5.	Toxicidade de Nanopartículas	35
2.5.1.	Toxicidade de Nanopartículas de Cu-ZnO	36
2.6.	Revestimentos em Implantes	37
2.6.1.	Caracterização de Superfícies Revestidas	39
2.6.2.	Técnicas de Revestimento	40
2.6.3.	Comparação entre as Técnicas de Deposição	49
2.7.	Considerações Finais	52
3	METODOLOGIA	54
3.1.	Síntese de Nanopartículas de Cu-ZnO	54
3.2.	Caracterização das Nanopartículas de Cu-ZnO	54
3.3.	Deposição Eletroforética em Placas de Titânio	55
3.4.	Caracterização das Superfícies Revestidas	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1.	Caracterização das Nanopartículas de Cu-ZnO	57
4.2.	Deposição Eletroforética (EPD) das Nanopartículas de Cu-ZnO em Titânio	65
4.3.	Caracterização da Superfície de Titânio Revestida	67
5	CONCLUSÃO	70
	REFERÊNCIAS	71

1 INTRODUÇÃO

Com o advento de novas técnicas de microscopia e equipamentos de alta precisão, a Nanotecnologia tem sido objeto de pesquisa em basicamente todas as áreas técnicas. Essa é entendida como o estudo e manipulação da matéria de modo a produzir dispositivos com pelo menos uma de suas dimensões entre 1 e 1 000 nm (FERRARI, 2005). Seu caráter interdisciplinar abrange diversos tipos de empregos, tais como o transporte de medicamentos por nanopartículas, eletrodos de células de combustível, sistemas catalíticos, filmes poliméricos automontáveis, entre muitas outras aplicações (PAUL e ROBESON, 2008).

Dentre esses, a síntese e utilização de nanopartículas se destaca devido a alterações nas propriedades dos materiais à medida que seu tamanho atinge a escala nanométrica. Tais modificações provém do fato que, nesses casos, a porcentagem de átomos na superfície do cristal bem se torna significativa a ponto de influenciar a reatividade do material bem como suas características físicas (HORIKOSHI e SERPONE, 2013). Por exemplo, compósitos contendo nanotubos de carbono podem apresentar rigidez superior à certos metais como ferro e alumínio (REICH, THOMSEN e MAULTZSCH, 2004).

Além disso, funções que ocorrem em nanoescala inerentes aos componentes biológicos das células permitem a utilização de nanopartículas como componentes terapêuticos e profiláticos em diversas áreas da medicina, como na oncologia e em tratamentos cardiovasculares (MEDINA *et al.*, 2007). Dessa forma, o termo “nanomedicina” tem sido aplicado pelos Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos para definir o uso de nanotecnologia no desenvolvimento de biomarcadores, diagnósticos moleculares, transporte de medicamentos, entre outros, de modo que as pesquisas médicas em nanoescala estão entre as que mais crescem em relevância e volume de publicações. Incentivos governamentais bem como parcerias entre companhias farmacêuticas e centros de pesquisa são fatores econômicos que também contribuem para o crescimento da nanomedicina em diversos países. O *Transparency Market Research*, importante centro de pesquisa de mercado tecnológico e industrial, publicou em 2015 um artigo no qual estima que o mercado global de nanomedicina irá movimentar cerca de 177,60 bilhões de dólares até 2019 (GHUMARE, 2015).

Entre tantas aplicações de nanopartículas na nanomedicina, destaca-se o uso de revestimentos em transplantes artificiais na prevenção de infecções e respostas inflamatórias. A presença de resposta inflamatória representa uma barreira a ser suplantada em procedimentos de implantação de próteses. Considerando que esse processo é de cunho cirúrgico, uma série de mecanismos é iniciada pelo corpo com o intuito de reparar o dano nos tecidos e manter o nível de homeostase. Desse modo, a inflamação pode ocorrer de várias formas, como em reações de corpo estranho e interações de caráter macrófago. Dependendo da forma e da superfície do dispositivo, essa resposta inflamatória pode ser mais ou menos danosa, o que leva à necessidade de otimização desses equipamentos (ANDERSON, 1988).

De modo similar, o crescimento bacteriano na região da prótese pode comprometer todo o procedimento e até induzir infecções generalizadas. Os métodos tradicionais de tratamento em casos de infecção envolvem a prescrição de antibióticos, cuja eficiência é escassa, como demonstrado por Krishnasami *et al.* (2002). De acordo com esse estudo, a administração de antibióticos sem nenhum outro tipo de tratamento associado apresenta uma eficiência para a cura de infecções sanguíneas de apenas 22% a 37% (KRISHNASAMI *et al.*, 2002). Além disso, a grande desvantagem do uso de medicamentos antibióticos é a possibilidade de aquisição de bactérias resistentes, o que comprometeria ainda mais a saúde do paciente. Mesmo em situações em que o método de administração é mais eficiente, como no caso de medicação estritamente localizada, esse tipo de risco se estende (KNETSCH e KOOLE, 2011).

Dispositivos médicos como próteses metálicas não raramente estão associados a infecções de alta gravidade e custos médicos elevados. Estima-se que 1% de todas as próteses implantadas no mundo apresentam quadros de infecção grave (BERTUCCI e TEDRUS, 2010). Na Europa, por exemplo, dos 800 000 implantes ortopédicos realizados anualmente, pelo menos 1,5% apresentam quadros de infecção periprostética, ou seja, nos entornos do dispositivo. Isso corresponde a 12 000 pacientes infectados e a um custo hospitalar extra em torno de 250 milhões de dólares (HELLMANN *et al.*, 2010).

No Brasil, os dados relativos a infecções em implantes ortopédicos são escassos, embora algumas pesquisas evidenciem taxas que variam de 1,7 a 8,5%, valor muito superior ao global. De acordo com esses estudos, taxas tão altas de infecção em transplantes ortopédicos podem acarretar um aumento dos custos hospitalares de mais de 300%, o que demonstra a necessidade de ampliar a prevenção de infecções desse tipo no país (ERCOLE e CHIANCA, 2002).

Com o intuito de prevenir esse tipo de complicação hospitalar, nanopartículas que apresentam comportamento antibacteriano tem o potencial de revestir as próteses a serem implantadas. Alguns exemplos que estão sendo testados são nanopartículas de prata, óxido de zinco e selênio. Tran e Webster (2013), por exemplo, aplicaram revestimento de selênio em implantes poliméricos e observaram um decréscimo substancial da bactéria *Staphylococcus aureus* na superfície do material (TRAN e WEBSTER, 2013). Nanopartículas de óxido de zinco também demonstraram efeito antibacteriano quanto ao crescimento de uma série de bactérias, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (NAIR *et al.*, 2011).

Diante desse contexto, o aprimoramento de técnicas de revestimento em metais para implantes ortopédicos utilizando nanopartículas pode representar o novo passo para se obter superfícies inteligentes capazes de estimular o crescimento celular e prevenir o risco de infecções.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho foi a síntese e caracterização de nanopartículas de Cu-ZnO e sua aplicação no revestimento por deposição eletroforética em superfícies de titânio, de modo a explorar o potencial dessa técnica na possível melhoria da adaptação de próteses médicas ao corpo humano.

1.1.2. Objetivos Específicos

Primeiramente, sintetizou-se as nanopartículas em laboratório a partir de compostos químicos disponíveis. Além disso, o nanomaterial obtido foi analisado quanto à sua composição e tamanho por Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica por Transmissão (MET), Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS) e Difração por Raios-X (DRX). Após essa etapa, foi realizada a deposição

eletroforética das nanopartículas nas superfícies de titânio, com medições de pH e condutividade elétrica da suspensão a ser utilizada. Por fim, a eficácia do revestimento por MEV e *EDS* foi avaliada, com a intenção de obter superfícies de maior rugosidade e contato em comparação com o titânio puro.

1.2. Justificativa

Poucos estudos foram realizados no Brasil utilizando nanopartículas para revestir superfícies de implantes médicos. Alguns pesquisadores, em parceria com instituições estrangeiras, já utilizaram nanopartículas de prata para revestir peças para próteses metálicas (MAURITTI, 2014) e outros utilizaram condições químicas oxidativas para criar superfícies nanotopográficas nesses metais a fim de melhorar a resposta celular (VETRONE *et al.*, 2009). Entretanto, a utilização de nanopartículas de Cu-ZnO para esse fim ainda não foi reportada por grupos de pesquisa brasileiros (BERTUCCI e TEDRUS, 2010). Mesmo em escala global, há um número reduzido de publicações especificamente com esse composto, o que indica um potencial a ser explorado (CHAIJARUWANICH, 2011). Além disso, tal material apresenta vantagens em relação a outras nanopartículas já estudadas no Brasil. Por exemplo, o custo de produção e obtenção de Cu-ZnO mostra-se muito inferior daquelas de prata sendo que ambos possuem características antibacterianas. Soma-se ainda o fato de que o método de deposição eletroforética a ser utilizado para realizar o revestimento de implantes apresenta resultados superiores em termos de rugosidade e crescimento celular na literatura a outros métodos tradicionais, como demonstrado por Bhardwaj *et al.* (2015) (BHARDWAJ, YAZICI e WEBSTER, 2015). Portanto, pode-se observar a necessidade de estudos relacionados às condições e materiais propostos neste trabalho com o objetivo de inovar a aplicação de nanopartículas para fins medicinais.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Nanotecnologia

Os primeiros escritos científicos envolvendo conceitos do que seria a nanotecnologia surgiram ainda nos anos 1980 com as publicações de Drexler (1986) e nos anos 1990 com trabalhos mais técnicos desenvolvidos por Freitas (1999) (DREXLER, 1986) (FREITAS, 1999). Entretanto, anterior a essas publicações, o Nobel de Física Richard P. Feynman já havia especulado em 1959 sobre as possibilidades de se criar máquinas tão diminutas que seriam capazes de atingir níveis atômicos. Em seu discurso "*There's Plenty of Room at the Bottom*", ele apresentou a ideia de dispositivos médicos que poderiam atuar em células infectadas. Tais conceitos, embora primitivos, não estão distantes da realidade atual em nanotecnologia, especialmente com o crescente desenvolvimento de nanopartículas cada vez mais engenhadas e eficientes (FREITAS, 2005).

Assim, a indústria nanotecnológica engloba uma grande diversidade de produtos e aplicações em potencial, além de muitos outros dispositivos já disponíveis comercialmente. Tal expansão levanta questionamentos quanto aos possíveis riscos à saúde pública e ao meio ambiente que envolvem a produção, uso e disposição de nanomateriais. Nesse sentido, muitos pesquisadores se dedicam a investigar a toxicidade de tais compostos e a buscar formas seguras de aplica-los aos mais diversos setores industriais (KANG, 2010). O objetivo é, portanto, melhorar as propriedades de materiais disponíveis de modo a impactar áreas científicas como Física, Química e Biologia com o intuito de desenvolver produtos mais seguros, duradouros e mais inteligentes para setores como comunicações, medicina, transporte, agricultura, entre muitos outros. Alguns desses campos serão mais explanados no presente trabalho, em especial o uso de nanotecnologias em sistemas catalíticos e produção de combustíveis, melhoramento de dispositivos eletrônicos e baterias, bem como aplicações em biomedicina (KAUR, SINGH e KUMAR, 2012).

2.1.1. *Catálise e Combustíveis*

A catálise se configura como uma tecnologia central em muitos aspectos da economia, incluindo o refinamento de petróleo, geração de energias renováveis, síntese de fertilizantes e controle de poluentes (ERTL, KNOZINGER e SCHUTH, 1997). O uso de nanomateriais como catalisadores se mostra extremamente promissor uma vez que partículas em escala nanométrica apresentam grande área superficial, de modo que a razão de átomos presentes na superfície pelo volume é consideravelmente alta. Como resultado, a eficiência das reações químicas para a transformação dos substratos é aumentada, ou seja, haverá maior atividade nos catalisadores. Além disso, tais materiais podem apresentar nanoporos que beneficiam a difusão de compostos em seu interior, o que colabora com a eficiência de processos catalíticos em que as reações podem ser controladas apenas por difusão (SHARMA *et al.*, 2015). Os principais nanomateriais utilizados como catalisadores podem ser divididos em dois grupos. O primeiro grupo abrange os nanomateriais cuja estrutura se baseia primariamente em compostos inorgânicos de carbono, incluindo grafeno, grafita, fulereno e nanotubos de carbono. Suas principais características incluem seu poder absorvente e a presença de vacâncias em sua estrutura, o que beneficia o andamento reacional (MESTL, 2001). O outro grupo é o que abrange metais e óxidos metálicos, entre eles o óxido de cério, cobalto, ferro e alumínio. Tais materiais possuem a vantagem de apresentarem alta reatividade além de vacâncias de oxigênio, o que permitem a captura dessa espécie e sua utilização nas reações de interesse. Há ainda variações desses nanomateriais combinados a compostos orgânicos, tais como polímeros e surfactantes (YANG *et al.*, 2015).

Com a crescente utilização de processos catalíticos heterogêneos (em que o catalisador se encontra em uma fase distinta dos reagentes), nanomateriais em geral se mostram um avanço nas diversas aplicações da catálise. Entre elas destaca-se o desenvolvimento de células combustíveis que buscam suprir a demanda por meios energéticos mais limpos e seguros (BESRA e LIU, 2007). Nanopartículas de óxido de cério, por exemplo, quando usados como o eletrodo em células combustíveis permitem que a operação se dê a temperaturas inferiores a 800 °C, ao contrário dos eletrodos de zircônio comercialmente utilizados. Outros estudos também mostram o potencial de catalisadores nanométricos de platina em suportes de óxido de cério na reforma autotérmica do isooctano (HU *et al.*, 2015).

2.1.2. Eletrônicos e Baterias

Nas últimas décadas, observa-se um significativo avanço nos dispositivos eletrônicos relacionados à computação, comunicação, automação e muitos outros aspectos da sociedade moderna. Em termos gerais, tal progresso é resultado da miniaturização dos equipamentos e peças eletrônicas, principalmente dos transistores de silício, o que tem levado a circuitos mais eficientes, densos e rápidos. No entanto, a contínua diminuição desses dispositivos de silício apresenta limitações, o que motiva o estudo de novos nanomateriais com características elétricas, magnéticas e óticas desejadas com o intuito de serem aplicadas em componentes eletrônicos (AVOURIS, CHEN e PEREBEINOS, 2007).

Nanopartículas e nanotubos são, portanto, objeto de pesquisa na busca por sua utilização em equipamentos elétricos e eletrônicos, de modo que se observa sua aplicação particularmente em dispositivos de armazenamento, componentes optoeletrônicos e baterias. Devido à alta condutividade de certos metais quando em nanoescala, estudos têm se desenvolvido a fim de utilizar filmes de nanopartículas em sistemas de memória e armazenamento de dados, em especial o uso de nanocristais metálicos capazes de operar satisfatoriamente a baixas capacitâncias. Dentre os equipamentos opticoelétricos que apresentam potencial nanotecnológico, destacam-se células fotovoltaicas (tais como células solares), lâmpadas *LED* (*light emitting diode* ou diodo emissor de luz) e nanocristais de fósforo, nos quais sua eficiência é aumentada conforme o tamanho e a estrutura dos nanomateriais empregados são controlados. Além disso, baterias de lítio, por exemplo, podem se beneficiar significativamente em nanoescala, pois os processos de difusão envolvidos na razão de carga e descarga apresentam maior eficiência e estabilidade em eletrodos nanoestruturados (MATSUI, 2005).

2.1.3. *Biomedicina*

O desenvolvimento de um amplo espectro de tecnologias em escala nano tem mudado as bases de obtenção de diagnósticos, tratamento e prevenção de doenças. Em nanomedicina, estão compreendidos os estudos relacionados às nanopartículas como veículos biológicos no transporte de medicamentos, ao uso de compósitos nanoestruturados em implantes, além do uso de nano sensores e revestimento de biomateriais. Com o desenvolvimento de novas rotas de síntese e equipamentos de alta sensibilidade, espera-se que a nanotecnologia de uma forma geral esteja cada vez mais presente na saúde humana (MOGHIMI, HUNTER e MURRAY, 2005).

Nesse sentido, muitos tipos de nanopartículas, tais como metais, óxidos e estruturas de carbono, têm sido utilizadas na construção de biosensores e marcadores biológicos, primariamente devido às suas características óticas e elétricas. Nanopartículas de ouro, por exemplo, se mostram extremamente eficazes como biomarcadores uma vez que são capazes de transferir elétrons com facilidade entre diferentes espécies eletronicamente ativas e eletrodos sensores. Além disso, suas propriedades óticas, importantes na identificação de sinais biológicos, podem ser modificadas dependendo de seu tamanho e formato, o que facilita o controle dos sensores e, por conseguinte, sua eficiência (LIA, SCHLUESENERB e XUA, 2010).

Outra aplicação recorrente de nanopartículas em diversos estudos é o transporte de medicamentos, focando-se na especificidade do agente ativo bem como na biocompatibilidade do material e do processo terapêutico. Assim, as nanopartículas podem ser usadas como mecanismos de entrega dessas drogas, formando ligações com os componentes químicos das mesmas ou por meio de adsorção. Por exemplo, a junção de nanopartículas com certas proteínas como anticorpos e peptídeos tem apresentado grande potencial na diminuição de efeitos colaterais em tratamentos de caráter imunológico e tumoral. Akerman *et al.* (2002) demonstraram que pontos quânticos (estruturas nanométricas pontuais semicondutoras) com dimensão menor que 10 nm revestidos com peptídeo podem ser utilizados com sucesso no tratamento de tumores pulmonares (ÅKERMAN *et al.*, 2002).

A utilização de nanomateriais no revestimento de implantes e equipamentos médicos também se mostra efetiva na redução de infecções e na adaptação da região implantada. Como uma forma de prevenir o aparecimento de biofilmes (causados pela aderência e proliferação de bactérias) nas superfícies dos implantes, nanomateriais

com propriedades antibióticas, tais como metais, óxidos metálicos e polímeros se mostram uma alternativa viável ao uso exclusivo de antibióticos. Além disso, a modificação da superfície implantada com o intuito de aproximar sua topologia à estrutura nanométrica que caracteriza o tecido ósseo auxilia o crescimento de osteoblastos (células ósseas) sobre o implante. Por exemplo, o revestimento de titânio com nanotubos de TiO_2 demonstrou-se capaz de promover crescimento celular e diminuição de resposta autoimune (ZHAO *et al.*, 2010).

2.2. Nanopartículas

Quando comparados com seus precursores moleculares, cujo tamanho de grãos excede 1000 nm, as nanopartículas apresentam propriedades físicas, químicas e biológicas muito superiores, de modo que a comunidade científica, em um esforço multidisciplinar, tem se dedicado arduamente ao seu desenvolvimento. Dentre essas nanopartículas, destacam-se os óxidos metálicos, uma vez que seu alcance de aplicações é extremamente amplo. Isso se deve principalmente ao fato de que, com a diminuição do tamanho das partículas, esses óxidos demonstram difusividade superior, maior força mecânica, alta reatividade química e baixa resistividade elétrica, além de maior potencial para aplicações biológicas. Como dito anteriormente, isso acontece devido ao aumento da proporção de átomos na superfície do material em relação ao seu volume interno, o que leva à maior reatividade e capacidade de estabelecer conexões elétricas. Dessa forma, nanoestruturas de óxidos metálicos podem ser sintetizados com altas razões superfície/volume, além da possibilidade de se obter diferentes morfologias e cristalografias com variadas aplicações (CIOFFI e RAI, 2012).

Nos últimos anos, um grande número de publicações tem reportado o potencial biológico e médico das nanopartículas de óxido metálicos em diversos campos (CHAIJARUWANICH, 2011). E embora compostos orgânicos também possam ser usados como agentes antibacterianos, os óxidos inorgânicos em escala nanométrica apresentam a vantagem de possuírem alta estabilidade a variações de temperatura e pressão, terem a possibilidade de se aderir à superfície de dispositivos já existentes e possuírem longa durabilidade. Adicionado a isso, muitos dos óxidos metálicos estudados não apresentam riscos significativos à saúde humana, como no caso do

ZnO, CaO, CeO₂ e TiO₂. Desse modo, sua utilização em materiais que estariam diretamente em contato com o corpo de pacientes e até no seu interior (como em próteses ortopédicas) não ofereceriam perigo grave ao usuário (ROSI e MIRKIN, 2005).

2.2.1. Nanopartículas de ZnO

O óxido de zinco é um semicondutor da família II-VI que apresenta propriedades elétricas, químicas e óticas extremamente interessantes, principalmente quando sob banda de energia de 3,1 a 3,4 eV. Sua utilização em sistemas fotocatalíticos é abrangente devido à sua fotosensibilidade elevada e alta estabilidade química. Aliado a isso, o ZnO possui ação antimicrobiana e baixa toxicidade à saúde humana, fato que intensifica a necessidade de se estudar sua aplicação em nanomedicina (WANG, 2004).

2.2.1.1. Características Estruturais

Estruturalmente, o ZnO pode se cristalizar de três formas distintas chamadas *wurtzite*, *zinc-blend* e *rock-salt*, sendo este último menos comum. Nos cristais *wurtzite*, cada átomo de zinco presente no tetraedro está cercado por quatro átomos de oxigênio e vice-versa, formando uma célula unitária hexagonal. Essa é forma mais estável em condições normais de pressão e temperatura, mas os *zinc-blends* e *rock-salts* podem ser estabilizados durante sua cristalização por meio de técnicas de crescimento de cristais. A figura 1 apresenta essas três estruturas, com as esferas pretas representando o oxigênio e as cinzas representando o zinco (SIRELKHATIM *et al.*, 2015).

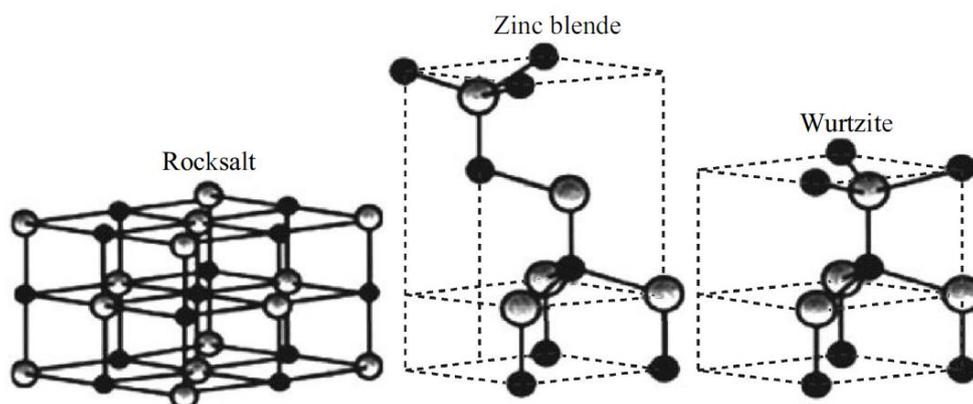


Figura 1. Estruturas cristalinas de ZnO.
 Fonte: SIRELKHATIM *et al.* (2015), p. 223.

A estrutura *wurtzite* apresenta dois parâmetros de rede a e c , com razão $c/a = \sqrt{8/3} = 1,633$ (em uma estrutura *wurtzite* ideal) e pertence ao grupo espacial C^4_6v na notação Schoenflies e $P6_3mc$ na notação Hermann-Mauguin. A estrutura é composta por duas subredes hexagonais compactas, onde há uma alternância em torno do eixo c entre as camadas ocupadas pelos átomos de zinco e as ocupadas por átomos de oxigênio. Assim, o parâmetro u ($3/8$ ou $0,375$ em uma estrutura ideal) é definido como o comprimento da ligação paralela ao eixo c (comprimento da ligação ânion-cátion) dividido pelo parâmetro de rede c . (MORKOÇ e ÖZGÜR, 2009). Em cada subrede estão inclusos quatro átomos por célula unitária, sendo que cada átomo de zinco está coordenado com quatro átomos de oxigênio e vice-versa, de modo que cada tipo de átomo corresponde à metade dos sítios tetraédricos. Devido a essa característica e ao fato da estrutura hexagonal (de empacotamento denso) ajudar a promover repulsão entre os sítios tetraédricos, pode-se dizer que a estrutura do tipo *wurtzite* é relativamente aberta, o que facilita a incorporação de dopantes externos à célula de ZnO (OLIVEIRA, 2009).

Em cristais reais de ZnO, a estrutura *wurtzite* se desvia do arranjo ideal devido a alterações na razão c/a e no valor de u . Usualmente, os valores observados experimentalmente para c/a são menores que o ideal, enquanto o valor de u são superiores ao esperado. Por essa razão, as distâncias entre os átomos no tetraedro permanecem praticamente constantes, mesmo com a distorção dos ângulos da estrutura devido às interações polares. A equação 1 a seguir demonstra a relação entre a , c e u (MORKOÇ e ÖZGÜR, 2009).

$$u = \left(\frac{1}{3}\right)\left(\frac{a^2}{c^2}\right) + \frac{1}{4} \quad (1)$$

Os parâmetros de rede para o óxido de zinco são comumente medidos a temperatura ambiente por meio de difração por raios-X (DRX) utilizando a lei de Bragg. Segundo a literatura, tal técnica se mostra a mais acurada, podendo ainda ser usada para determinar a composição e presença de impurezas na amostra pela detecção de outras fases (LAPRESTA-FERNÁNDEZ *et al.*, 2014). No entanto, alguns fatores devem ser considerados a fim de garantir a exatidão do método, uma vez que os parâmetros de rede dependem da concentração de cargas livres, da concentração de átomos estranhos na estrutura e das suas diferenças de raio iônico com o Zn e O, estresse mecânico externo (por exemplo, gerado pela manipulação do substrato) e alterações na temperatura. A tabela 1 apresenta valores de parâmetros de rede medidos por DRX para cristais reais de ZnO do tipo *wurtzite*, bem como valores calculados da razão c/a e do parâmetro u (FAN e LU, 2005).

Tabela 1. Valores medidos por DRX para parâmetros de rede a e c e valores calculados da razão c/a e do parâmetro u .

a (Å)	c (Å)	c/a	u
		1,6330 (Ideal)	0,3750 (Ideal)
3,2496	5,2042	1,6018	0,3819
3,2501	5,2071	1,6021	0,3817
3,2475	5,2075	1,6035	0,3796
3,2497	5,2060	1,6020	0,3799

Fonte: Morkoç e Özgür (2009), adaptado pela autora.

Observa-se que as constantes de rede a temperatura ambiente se mostram relativamente próximas, com o valor de a variando entre 3,2475 e 3,2501 Å e c variando entre 5,2042 e 5,2075 Å. De modo análogo, a razão c/a apresenta variações entre 1,6018 e 1,6035 e o parâmetro u entre 0,3796 e 0,3819. Tal desvio da idealidade se deve a alterações na estabilidade da rede, causadas pelos fatores já explanados. Como reportado, dentre tais fatores, os que mais afetam essa deformação estrutural são a presença de elétrons livres na estrutura e pontos de defeito na rede, como vacâncias de oxigênio e de zinco (ABDULLAH, KHUSAIMI e RUSOP, 2013).

2.2.1.2. Atividade Biológica

Diversos estudos apontam a ampla ação microbiana do óxido de zinco contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Campylobacter jejuni* (XIE *et al.*, 2011). Quando em escala nano, a atividade antibacteriana do óxido de zinco se intensifica, principalmente contra *E. coli*, *S. aureus* e *B. subtilis* (FANG *et al.*, 2006). Padmavathy e Vijayaraghavan (2008) testaram o efeito de diferentes tamanhos de partículas de óxido de zinco variando de 12 nm a 2 μ m contra *E. coli* e observaram que a ação antimicrobiana se intensificou com a diminuição das dimensões dos cristais (PADMAVATHY e VIJAYARAGHAVAN, 2008). Isso se dá devido a maior área superficial de partículas menores, de modo que essas apresentam maior reatividade e maior capacidade de interação com as membranas celulares dos micro-organismos. Em outro estudo, Jones *et al* (2008) reportaram inibição de 95% do crescimento de *S. aureus* quando em presença de nanopartículas de ZnO de diâmetro aproximado de 13 nm (JONES *et al.*, 2008).

Poucos estudos foram capazes de esclarecer por completo o mecanismo de ação das nanopartículas de ZnO, mas algumas hipóteses já foram levantadas. Uma forma de interpretar esse fenômeno seria o estresse celular causado pela forma e tamanho das nanopartículas, que seriam capazes de se aderir ou até mesmo romper a membrana celular. Outra hipótese é a liberação de compostos oxidantes (como peróxidos e superóxidos) devido à reação do óxido de zinco com compostos intracelulares, em caso de internalização das nanopartículas. Similarmente, especula-se que a presença das nanopartículas desse óxido levariam à formação de espécies reativas de oxigênio, as chamadas ROS (*Reactive Oxygen Species* ou espécies reativas de oxigênio, como OH^\cdot , H_2O_2 , e O_2^{2-} , por exemplo), compostos estes que são fortemente oxidantes e poderiam ser a causa da morte microbiana (JONES *et al.*, 2008).

Como agente antibacteriano, o ZnO apresenta algumas vantagens em relação a outros óxidos de natureza similar. Uma delas é a capacidade de danificar células bacterianas a condições neutras de pH, o que facilita sua manipulação (OHIRA *et al.*, 2008). Além disso, estudos recentes têm demonstrado que a presença de zinco não configura um perigo à saúde dependendo das condições estudadas (grau de ionização, por exemplo), uma vez que se trata de um importante elemento traço no corpo humano (BHUYAN *et al.*, 2015). Soma-se a isso os resultados que apontam

uma ação tóxica seletiva de nanopartículas de ZnO para bactérias, com mínimo efeito em células humanas (HAMEED *et al.*, 2016).

2.2.1.3. Dopagem de ZnO com cobre

A dopagem de materiais é a adição proposital de átomos estranhos à sua estrutura cristalina. O objetivo é a modificação das propriedades físicas dos materiais de modo a obter características desejáveis, dependendo de sua aplicação final. Por exemplo, enquanto o silício puro apresenta pouca condutividade, sua versão dopada com arsênio demonstra alta capacidade de conduzir elétrons. Tal processo é bastante empregado em tecnologias que utilizam semicondutores com a incorporação de impurezas e lacunas em sua estrutura a fim de controlar suas propriedades elétricas, óticas, magnéticas, biológicas, entre outras. Componentes tradicionalmente semicondutores, como transistores, não poderiam operar sem a presença dessas impurezas que permitem o fluxo de corrente por sua estrutura (YOGAMALAR e BOSE, 2013).

A dopagem, especialmente em semicondutores, pode acontecer de duas formas distintas, dependendo da natureza da impureza inserida na rede cristalina. Quando são inseridos na estrutura do material átomos com excesso de elétrons na camada de valência em relação aos outros átomos da rede original, diz-se que o semicondutor é do tipo n. Nesse caso, a condutividade do material é acrescida devido ao trânsito de elétrons livres na sua estrutura cristalina decorrente da inserção das impurezas. São chamados semicondutores do tipo p aqueles em que são inseridas impurezas com deficiência de elétrons na sua camada de valência em relação aos átomos originais. Nessa situação, uma lacuna se formará pela ausência de elétrons na ligação covalente. Uma vez que um elétron de outra ligação só poderá transitar entre as lacunas, tais lacunas se comportam como cargas positivas que podem se movimentar pelo cristal quando uma tensão externa é aplicada (ABDULLAH, KHUSAIMI e RUSOP, 2013).

O óxido de zinco *wurtzite* é um semicondutor do tipo n naturalmente, devido à presença frequentemente observada de “defeitos” em sua estrutura, tais como vacâncias de oxigênio e átomos de zinco intersticiais, ambas situações que facilitam a passagem de elétrons. Nesse caso em que existe metal em excesso, observa-se o

favorecimento da redução do zinco com a finalidade de manter o material eletricamente neutro, o que o faz migrar para uma posição intersticial e, assim, criar uma vacância. Os zínco intersticiais reduzidos atuam como doadores de elétrons para a banda de condução, o que torna o material um semicondutor do tipo n. Como esse processo ocorre naturalmente, a dopagem com elementos que favorecem a formação desse tipo de condutor são mais fáceis de serem obtidas do que para a formação de semicondutores do tipo p (OLIVEIRA, 2009).

Dessa forma, a dopagem de ZnO com metais tais como Pb, Cu, Mn e Fe são exemplos descritos na literatura como satisfatórios na obtenção de materiais semicondutores do tipo n, de modo que as propriedades óticas, magnéticas e elétricas do óxido de zinco puderam ser aprimoradas mediante diferentes concentrações desses metais. Dentre eles, o cobre se destaca como metal dopante devido à sua condutividade eletrônica elevada, além de sua abundância na crosta terrestre, o que o torna pouco custoso (LABHANE *et al.*, 2015). O aumento da condutividade do óxido de zinco pela presença de cobre na sua estrutura promove também o aumento de sua capacidade de reagir com compostos intracelulares das bactérias, aprimorando suas propriedades biológicas. Samavati *et al.* (2016), por exemplo, reportaram que a ação antibacteriana contra *E. coli* se mostrou mais eficaz para amostras em presença de óxido de zinco dopado com cobre do que nas que continham ZnO puro. A figura 2 mostra um esquema da estrutura do óxido de zinco dopado com cobre (SAMAVATI *et al.*, 2016).

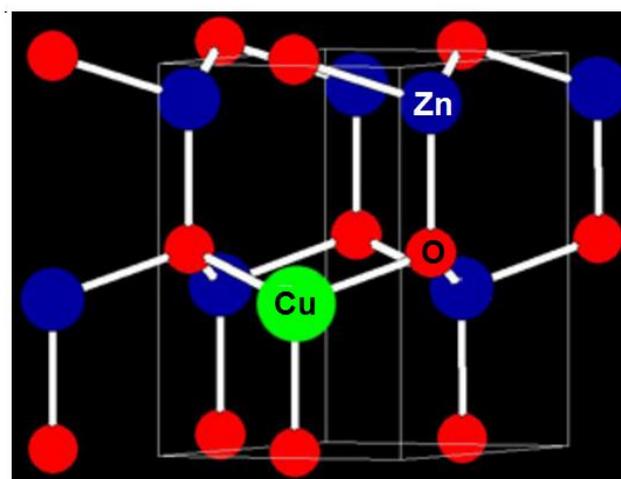


Figura 2. Esquema representando uma célula unitária de óxido de zinco com átomo de cobre como dopante.

Fonte: Zhang *et al.* (2009), adaptado pela autora.

Além disso, o cobre por si só demonstra alta habilidade antimicrobiana mantendo uma baixa toxicidade celular em concentrações moderadas, tais como as atingidas a

dopagens de até 15% (SINGHAL *et al.*, 2012). Huang *et al.* (2015) demonstraram que a aplicação de hidroxiapatita dopada com cobre e com zinco em superfícies de titânio foi efetiva no combate à formação de biofilmes por *E. coli*, além de contribuir com o crescimento de células ósseas (osteoblastos) nas superfícies revestidas. Tais resultados, quando comparados com os obtidos por deposição de hidroxiapatita pura, confirmam que a presença de cobre e zinco foram fundamentais no aprimoramento da ação antibacteriana do revestimento e na promoção do crescimento celular. Isso indica que nanopartículas de óxido de zinco dopadas com cobre são um potencial material a ser explorado no revestimento de implantes metálicos (HUANG *et al.*, 2015).

2.3. Síntese de Nanopartículas

Os diferentes tipos de nanomateriais tais como prata, cobre, zinco e magnésio, podem ser sintetizados de formas diferentes dependendo do material e das características físicas e químicas que desejam ser alcançadas. Densidade, área superficial e morfologia são algumas das propriedades físicas que estão diretamente ligadas ao método de preparo das nanopartículas (CIOFFI e RAI, 2012). Portanto, o controle de tamanho e forma durante a síntese irá ditar a eficiência das nanopartículas em sua aplicação final.

Em geral, as formas mais comumente utilizadas para sintetizar e estabilizar os nanomateriais se dividem em métodos físicos, químicos e biológicos (ou biotecnológicos) (LI *et al.*, 2008). Alguns métodos físicos podem incluir o uso de controle de temperatura para sintetizar os materiais, como é o caso da evapo/condensação. Simchi *et al.* (2007) aplicaram o processo de condensação por gás inerte para sintetizar nanopartículas de prata. Nesse trabalho, a prata foi exposta a altas temperaturas de modo a produzir vapores que foram rapidamente capturados pela superfície de um tanque de nitrogênio líquido. Esse processo se deu em atmosfera de argônio, de modo que a combinação desses elementos se provou efetiva na obtenção de partículas com o tamanho desejado (SIMCHI *et al.*, 2007). Outros métodos físicos podem incluir a ablação por laser, síntese fotoinduzida, irradiação redutora, entre outros (CIOFFI e RAI, 2012).

Dentre as abordagens químicas, a mais usada é a síntese por redução em solução, devido principalmente à sua simplicidade. Dependendo do material, essa redução

pode acontecer em partes, iniciando-se na produção de complexos que serão reduzidos à forma atômica e, então, formando aglomerados coloidais. Nessa etapa, compostos orgânicos são utilizados para desfazer os coloides e evitar que as partículas se aglomerem durante a secagem do material. O tipo de redutor utilizado é responsável pela distribuição dos tamanhos de partícula. Enquanto redutores fortes, tais como borohidreto, levam à formação rápida de partículas com tamanhos maiores, redutores fracos como o citrato resultam na redução lenta de partículas com menores dimensões e aproximadamente uniformes. Quando é necessário um controle maior de tamanho e forma, recorre-se a técnicas mais precisas, como o método de microemulsão reversa e redução eletroquímica. Em ambos os métodos, o risco de agregação de partículas ao final do processo é reduzido em relação à redução em solução (CIOFFI e RAI, 2012).

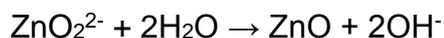
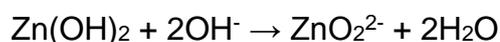
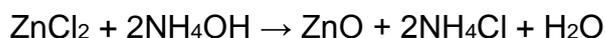
Diferente dos métodos físicos e químicos, os métodos que utilizam processos biotecnológicos tendem a ser menos impactantes ao meio ambiente, uma vez que não utilizam compostos químicos altamente tóxicos nem produzem descartes que possam escapar para a atmosfera. A partir de experimentos relacionados à biossorção de metais pesados por bactérias, foi possível observar o potencial de síntese de nanomateriais por micro-organismos. Esse processo pode se dar por meio de redução biológica, em que a redução ocorre nas reações metabólicas do micro-organismo. As vantagens desse método são inúmeras, incluindo abundância de material disponível, boa dispersão das partículas e condições reativas amenas, além de não gerar resíduos tóxicos. No entanto, sua operação depende de um controle fino das condições operacionais de modo a induzir o metabolismo desejado nos organismos, fato que dificulta a reprodutibilidade do método (SASTRY *et al.*, 2003).

2.3.1. Síntese de Nanopartículas de ZnO

Diferentes fatores como razão de hidrólise, temperatura e pressão têm sido estudados de modo a estabelecer as condições ideais para a síntese de nanomateriais a base de óxido de zinco. Esses incluem nanopartículas, nanoesferas, nanotubos, entre muitos outros. A grande variedade de métodos de preparo de nanopartículas de ZnO pode ser dividida em dois grandes grupos: síntese em fase vapor e síntese em solução.

Nos casos de síntese em fase vapor, o processo se dá em câmaras fechadas cujo ambiente possui gás inerte. As temperaturas de síntese de nanopartículas de ZnO estão entre 500 °C a 1500 °C, temperaturas essas que estão abaixo de seu ponto de fusão (1975 °C). Entretanto, o óxido de zinco de tamanho regular ou zinco metálico se funde devido às condições de baixa pressão dentro da câmara. À temperatura elevada, ocorre a vaporização do material, que é arrastado pelo gás inerte para uma outra câmara coletora de baixa temperatura, onde as nanopartículas se formam. Métodos similares a esse podem ser citados, como deposição química a vapor e decomposição termal com micro-ondas (BARUAH e DUTTA, 2009).

A síntese em fase solúvel ou em solução é assim chamada porque é realizada em soluções aquosas, normalmente a relativamente baixas temperaturas. No método de *sol-gel*, uma solução coloidal é preparada e em seguida convertida em um gel de alta viscosidade contendo sólidos no seu interior por meio de reações poliméricas. Os solventes são então removidos e o material é encaminhado para a secagem. Nanopartículas menores que 5 nm com alta pureza podem ser formadas a partir desse método, porém o custo de produção é elevado se comparado a outros métodos em solução (BARUAH e DUTTA, 2009). Por outro lado, o método de precipitação por pH a temperatura ambiente proporciona custos muito menores comparativamente. Nele, uma solução salina de zinco (como nitrato ou cloreto de zinco) e uma outra de algum composto alcalino (como hidróxido de amônia) são misturadas a temperatura ambiente, o que gera o aparecimento de um precipitado que será filtrado e levado a secagem por várias horas. As reações abaixo são exemplos do que ocorre nesse tipo de síntese:



Após a secagem, o material é exposto à altas temperaturas de sinterização a fim de melhorar as características das nanopartículas, como sua cristalinidade e condutividade elétrica (SENDI e MAHMUD, 2012). Esse método também pode ser usado nos casos em que se pretende dopar nanopartículas de ZnO com outros metais, tais como cobre e prata. Nestes casos, antes da adição da solução alcalina, o metal que se deseja dopar é misturado à solução contendo zinco na proporção de interesse.

Esse é, por exemplo, um dos processos utilizados para sintetizar nanopartículas de Cu-ZnO (SINGHAL *et al.*, 2012).

2.4. Caracterização de Nanopartículas

Como dito anteriormente, as propriedades das nanopartículas estão intimamente ligadas à sua composição, tamanho e morfologia. Portanto, antes ou durante sua aplicação, é necessário analisá-las de modo a obter informações a respeito de suas características. Dessa forma, os nanomateriais precisam ser caracterizados quanto a três aspectos interrelacionados. O primeiro é a natureza do material quanto às suas características físicas, tais como morfologia e tamanho da partícula. Outro aspecto envolve a caracterização química, ou seja, a verificação da composição elementar da partícula, de modo a confirmar sua síntese. E por fim, em termos de sua atuação biológica, seja ela antimicrobiana ou terapêutica. A seguir, são apresentados alguns métodos de caracterização de nanopartículas mais comumente utilizados, focando-se na determinação dos aspectos químicos e físicos dos nanomateriais (PADMAVATHY e VIJAYARAGHAVAN, 2008).

2.4.1. Métodos de Microscopia

Em relação à caracterização física, há uma série de técnicas disponíveis para esse fim. O tipo de metodologia a ser escolhida depende do tipo de nanomaterial e das informações que se deseja observar. No caso de nanopartículas, especialmente as que serão adicionadas a alguma matriz ou serão usadas como revestimento, a avaliação visual por meio de microscopia é essencial, visto que sua morfologia, rugosidade e distribuição de partículas ditam o comportamento do material. Uma vez que nanopartículas usualmente são objetos com todas as suas dimensões externas em escala nanométrica, o limite de detecção de microscópios óticos não abrange o tamanho desses cristais, já que os comprimentos de onda visível (λ) estão na mesma escala que suas dimensões (ALVAREZ e SIQUEIROS, 2010).

Assim, as técnicas de Microscopia Eletrônica incluindo microscopia eletrônica de transmissão (MET ou *TEM*), de varredura (MEV ou *SEM*) e microscopia de força atômica (MFA ou *AFM*) são amplamente utilizadas na visualização e caracterização de nanopartículas. Tais técnicas utilizam feixes de elétrons que interagem com a superfície do material, sendo que o comprimento de onda desses feixes é inferior ao da luz, permitindo alta resolução espacial no limite de células unitárias em alguns casos. Desse modo, enquanto microscópios óticos operam a comprimentos de onda de 400 a 800 nm, microscópios eletrônicos operando a tensões elétricas de aceleração de 100 a 1000 keV podem operar a comprimentos de onda de até 0,0037 nm. É importante ressaltar que estas técnicas de microscopia eletrônica requerem condições de vácuo (aproximadamente 10^{-4} Pa) tanto para facilitar a operação da fonte de elétrons como para minimizar a detecção de objetos diferentes da amostra (JOHNSON *et al.*, 2012).

Embora similares em muitos aspectos, as microscopias MEV, MET e *AFM* apresentam aspectos particulares que influenciam sua resolução e, conseqüentemente, aplicação. Nas caracterizações por microscopia eletrônica de varredura, as nanopartículas precisam estar secas na forma de um pó que será aplicado em um porta-amostras e, em seguida, revestido com um metal condutivo (usualmente o ouro). A amostra é então percorrida por feixe de elétrons, de modo que as características superficiais da amostra são obtidas por meio dos elétrons secundários emitidos pela mesma. Devido a limitações de resolução (entre 1 e 3 nm), sua aplicação para determinar distribuição de tamanho de nanopartículas é limitada, mas essa técnica é amplamente utilizada para observações morfológicas de nanomateriais e nanofilmes (PAL *et al.*, 2011).

No caso da microscopia eletrônica de transmissão, a preparação é mais complexa e demorada, uma vez que é necessário que a camada de amostra seja ultrafina para permitir uma transmissão eletrônica eficiente. Assim, uma dispersão com as nanopartículas é depositada sobre grades ou filmes de suporte e, sobre elas, são aplicados fixadores (como acetato de uranil ou ácido fosfotúngstico, por exemplo) que auxiliam sua estabilidade nas condições de vácuo do equipamento. Um feixe de elétrons é então transmitido através da amostra ultrafina, e a imagem é obtida por meio da interação do feixe conforme ele penetra as nanopartículas. A resolução da MET pode chegar a 0,047 nm, sendo esse, portanto, um método muito utilizado para análise de distribuição de tamanho (PAL *et al.*, 2011).

Na microscopia de força atômica, é possível obter valores mais precisos com alta resolução, já que tal técnica se baseia na varredura do material a nível nanométrico

usando uma sonda que opera em escala atômica. O mapa topográfico da amostra é obtido baseando-se nas interações entre a sonda e a superfície da amostra. Uma grande vantagem desse método é que ele dispensa qualquer revestimento com material condutor, o que facilita a análise de materiais biológicos e poliméricos, por exemplo. Dentre as técnicas citadas, é a que melhor descreve o tamanho de nanopartículas, porém, é também um equipamento extremamente dispendioso e de difícil manutenção (JOHNSON *et al.*, 2012).

Quanto ao tamanho, a figura 3 demonstra o alcance de diversos métodos de microscopia comumente utilizados em análises de nanopartículas e superfícies revestidas com as mesmas. Nela, observa-se a Microscopia Ótica, a Perfilométrica, a Microscopia Eletrônica de Varredura (*SEM*) e com Emissão de Campo (*FESEM*), Microscopia de Força Atômica (*AFM*) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (*TEM*). Mesmo nos casos em que o alcance da técnica é superior à escala nano, tais técnicas se fazem necessárias uma vez que informam sobre a rugosidade e morfologia da superfície contendo nanopartículas (CIOFFI e RAI, 2012).

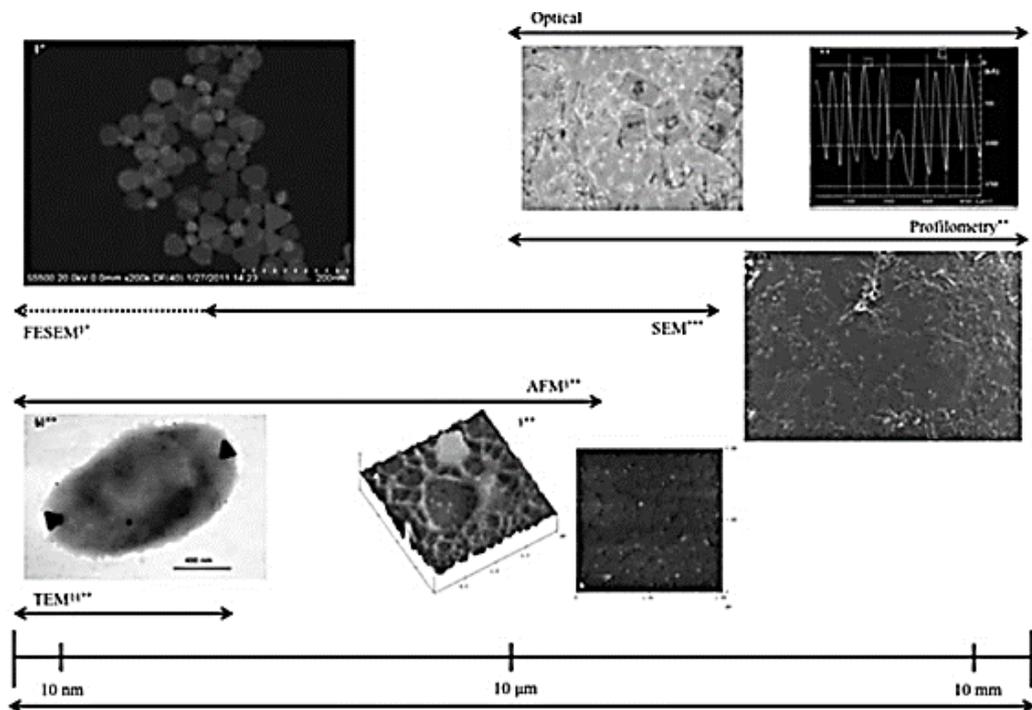


Figura 3. Ilustração das técnicas de microscopia e seus alcances.

Fonte: CIOFFI e RAI, (2012), p. 184

2.4.2. Espectroscopia de Raios-X por Energia Dispersiva (EDS)

Quanto à caracterização química de nanopartículas e de nanofilmes, destaca-se a técnica de Espectroscopia de Raios X por Energia Dispersiva (*EDS*). A técnica de *EDS* utiliza o espectro de raios-X emitido por uma amostra sólida quando bombardeada por um feixe focado de elétrons para determinar os elementos químicos presentes. A princípio, todos os elementos de número atômico entre 4 (Be) e 92 (U) podem ser detectados, embora a detecção de elementos “leves” cujo número atômico encontra-se abaixo de 10 apresente menor exatidão. Isso ocorre devido à baixa energia dos raios-X liberados por esses elementos, em muitos casos insuficiente para atingir a janela do detector. A análise qualitativa por *EDS* envolve a identificação de picos em um perfil em que o eixo Y mostra a intensidade do elemento na amostra na forma de contagem (número de raios-X recebidos e processados pelo detector) e o eixo X representa o nível de energia dessas contagens. Em geral, o próprio equipamento indica os elementos presentes a partir do gráfico gerado, uma vez que a energia do raio-X liberada pela interação entre os elétrons do elemento e os do feixe é característica do elemento presente na amostra, podendo ser relacionado ao seu número atômico (GOLDSTEIN *et al.*, 2003).

Pode-se ainda obter uma análise semi-quantitativa, ou seja, determinar a concentração dos elementos presentes na amostra pela comparação das intensidades de cada elemento da amostra com as intensidades dos mesmos em um padrão calibrado de composição conhecida. Tal técnica apresenta, porém, limitações de sensibilidade e exatidão, principalmente devido as incertezas relacionadas à composição dos padrões e ao ângulo de incidência dos feixes de elétrons em relação à amostra em equipamentos mistos (detectores *EDS* geralmente estão acoplados a microscópios eletrônicos de varredura). Essa técnica é uma das mais utilizadas para caracterização de amostras revestidas com nanomateriais, sendo normalmente usada em conjunto com técnicas de microscopia devido a similaridades na preparação das amostras (SUCI, VRANY e MITTELMAN, 1998).

2.4.3. Difração por Raios-X (DRX)

Outra técnica muito utilizada é a difração por raios-X (DRX), indicada primariamente para identificação das fases de um material cristalino além de prover informações sobre as dimensões de suas células unitárias. Ela se baseia no comportamento das substâncias cristalinas, que atuam como grades tridimensionais de difração para comprimentos de onda de raios-X de modo análogo ao espaçamento de planos em uma rede cristalina. Desse modo, a análise consiste de raios-X gerados por um tubo de raios catódicos que são filtrados para produzir uma radiação monocromática, colimados e direcionados na direção da amostra. A interação dos raios incidentes com a mesma produz interferência construtiva e um raio difratado quando as condições de operação satisfazem a Lei de Bragg, mostrada a seguir na equação 2 (PERKINS e SORENSEN, 2011).

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (2)$$

Essa lei relaciona o comprimento de onda da radiação eletromagnética (λ) com o ângulo de difração (θ) e com espaçamento da rede em amostras cristalinas (d). Assim, os raios-X difratados são detectados, processados e contados. Através do escaneamento da amostra por um certo alcance dado em termos de ângulos 2θ , as possíveis direções de difração da rede cristalina são alcançadas devido à orientação aleatória do material particulado. A conversão dos picos de difração em espaçamentos (d) de rede permite a identificação da amostra, uma vez que cada composto cristalino possui um conjunto único de espaçamentos d . Tipicamente, essa identificação provém da comparação dos resultados com padrões de referência (PERKINS e SORENSEN, 2011).

As aplicações mais comuns da DRX consistem na identificação de materiais cristalinos desconhecidos, tais como minerais, compostos inorgânicos e particulados óxidos. Utiliza-se essa técnica também na determinação dos parâmetros de rede e das dimensões de células unitárias, na caracterização das fases presentes, bem como na avaliação da pureza de uma amostra cristalina. Algumas das maiores vantagens da técnica incluem a rápida e quase inequívoca determinação de compostos cristalinos, possibilidade de determinação do tamanho médio de cristalito, necessidade mínima de preparação de amostra e interpretação de dados

relativamente simples. Por outro lado, algumas limitações são observadas, tais como a possível ocorrência de sobreposição de picos e dificuldade de detecção de amostras com compostos amorfos misturados às espécies cristalinas. Mesmo diante de tais restrições, a utilização da técnica de DRX é amplamente utilizada na caracterização de compostos cristalinos e representa uma importante ferramenta no estudo de nanomateriais inorgânicos (PERKINS e SORENSEN, 2011).

2.4.4. Outras Técnicas Usuais

Outras técnicas podem ser utilizadas na determinação da composição das nanopartículas bem como na sua distribuição de tamanho e atividade biológica. Um exemplo é a Espectroscopia de Emissão em Plasma Induzido por Laser (em inglês, *Laser Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS*), que pertence às técnicas de espectroscopia de emissão atômica e consiste em um pulso curto de laser irradiado na amostra, criando assim um plasma altamente energético. Esse plasma emite luz a um comprimento de onda específico, criando um pico característico do material. Por meio da análise desses picos, pode-se determinar a composição química da amostra. Outras variações dessa técnica envolvem a Fluorescência Induzida por Laser (*Laser-induced fluorescence, LIF*) e a Espectroscopia por Raman, ambas capazes de caracterizar a estrutura molecular das nanopartículas. Com esse mesmo propósito, a Espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier (*Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR*) identifica as ligações químicas presentes na amostra por meio de um espectro característico obtido pela radiação infravermelha que não é absorvida quando passa pela amostra sendo analisada no porta-amostra (LAPRESTA-FERNÁNDEZ *et al.*, 2014).

Para caracterizar nanopartículas quanto à sua atividade biológica, podem ser ainda empregadas técnicas como Concentração Mínima Inibitória, em que se define a menor concentração de nanopartículas com potencial antibacteriano que é capaz de inibir o crescimento da bactéria após determinado tempo de análise. Tal método pode se dar em meio sólido (com o uso de ágar em placas de Petri), onde será observada a formação de outras colônias a partir de uma colônia inicial, bem como em meio líquido, com a cultura aplicada a erlenmeyers sobre rotação (200 rpm) em meio enriquecido e posterior medição da concentração de bactérias. Tem-se ainda o Método de Disco-

difusão, em que um disco de papel-filtro impregnado com uma suspensão contendo as nanopartículas é posicionado em uma placa de Petri contendo ágar, de modo que o material se difunde pelo meio até um certo diâmetro, dependente das características da nanopartícula. Quando a bactéria em análise é então introduzida no ágar, pode-se observar a ausência de crescimento celular ao redor da área em que o material se encontrava, o que determina, então, o chamado diâmetro da zona de inibição, um indicativo da capacidade antibacteriana do nanomaterial (SURESH, PELLETIER e DOKTYCZ, 2013).

Outros métodos podem ser utilizados para avaliar a carga superficial da nanopartícula, importante fator que determina sua interação com meios biológicos além de sua interação eletrostática com compostos bioativos. A técnica mais utilizada para esse fim é a determinação do potencial zeta das nanopartículas, que corresponde à diferença de potencial entre a superfície do colóide formado em uma dispersão e a superfície de cisalhamento. Esse é, portanto, um bom indicativo da estabilidade de dispersões coloidais formadas pelas nanopartículas. Também é usual a determinação da hidrofobicidade superficial de nanomateriais, uma característica importante na determinação da forma de ação farmacológica ou bactericida das nanopartículas. Algumas das técnicas mais comuns incluem cromatografia de interação hidrofóbica, adsorção de sondas, medidas de ângulo de contato, entre outros (JOHNSON *et al.*, 2012).

2.5. Toxicidade de Nanopartículas

Tradicionalmente, toxicidade refere-se ao efeito danoso ou letal de certa quantidade de um composto químico quando em contato com humanos, animais e com o meio ambiente. Dessa forma, dois parâmetros são imprescindíveis para a caracterização de qualquer substância como tóxica ou não, sendo eles concentração e tempo de exposição. A partir desses fatores, é possível quantificar a resposta a certa dose do composto e, assim, determinar níveis sob os quais o produto químico é seguro ou perigoso (ELSAESSER e HOWARD, 2011).

Apesar do vasto conhecimento acerca dos compostos químicos utilizados nos diversos setores industriais, pouco ainda se sabe sobre as características de toxicidade dos mesmos compostos em escala nano. Como dito anteriormente, o

aumento da razão superfície/volume provoca alterações significativas dos nanomateriais comparados aos seus respectivos compostos *in natura*. Além disso, a possibilidade de inalação de nanopartículas durante sua fabricação e até mesmo pela interação com a pele é agravada em escala nano, podendo trazer riscos à saúde humana caso tais substâncias tenham de fato alta toxicidade (ELSAESSER e HOWARD, 2011).

2.5.1. Toxicidade de Nanopartículas de Cu-ZnO

Zinco e cobre são dois elementos-traço essenciais em mamíferos. Diversos mecanismos de diferenciação celular são dependentes de reações envolvendo zinco, além de promover o crescimento de células ósseas (osteoblastos) e estar presente na composição química de certas enzimas e hormônios. O cobre, por sua vez, atua na ligação cruzada de colágeno e elastina presente nas regiões próximas aos ossos e no estímulo de diversas enzimas. No entanto, concentrações elevadas de cobre demonstram alta citotoxicidade, o que estimula seu uso como elemento dopante, ou seja, a baixas concentrações. Portanto, baseando-se em estudos toxicológicos, entende-se a necessidade de avaliar os perigos envolvidos na manipulação e utilização de nanopartículas de ZnO dopado com cobre, mesmo que esses elementos estão presentes naturalmente no corpo humano (HUANG *et al.*, 2015).

A fim de investigar a toxicidade de certos nanomateriais, alguns autores analisaram nanopartículas quando em contato com células humanas. Xia *et al.* (2008) avaliaram três tipos de nanopartículas, a saber TiO₂, ZnO e CeO₂, quanto ao seu efeito em células bronquiais (BEAS-2B) e macrófagos (RAW 264.7). Quando em testes realizados em solução, ZnO se mostrou tóxico para ambas as células, agindo como um oxidante forte e levando parte das amostras à morte celular. Assim, conclui-se que os efeitos tóxicos observados pela presença de nanopartículas de ZnO ocorrem devido a sua solubilização, o que resulta no aumento excessivo da concentração intracelular de Zn²⁺ (XIA *et al.*, 2008). Tal resultado promove estresse oxidativo, citotoxicidade e disfunção mitocondrial. Outros estudos demonstram efeitos semelhantes observados para o cobre e óxido de cobre (VANDEBRIEL e JONG, 2012).

Entretanto, quando em contato com células ósseas, ou seja, em condições em que estariam submetidas quando aplicadas na superfície de implantes artificiais, nanopartículas de ZnO em presença de cobre não demonstram os mesmos efeitos negativos. Memarzadeh *et al.* (2014) demonstraram que osteoblastos das linhagens UMR-106 e MG-63 não apresentaram modificações morfológicas quando expostas a diferentes concentrações de ZnO (0 a 10 000 µg/mL) em superfícies revestidas, o que evidencia que nanopartículas de ZnO imobilizadas em uma superfície podem prover um substrato adequado para crescimento de células ósseas (MEMARZADEH *et al.*, 2014).

Huang *et al.* (2015) utilizaram nanopartículas de hidroxiapatita dopadas com zinco e cobre para revestir superfícies de titânio em um estudo similar, demonstrando também que a presença desses elementos não apresentou toxicidade para osteoblastos. Ao contrário, a densidade celular observada sobre superfícies revestidas com hidroxiapatita dopada com Zn e Cu foi superior à observada naquelas em que o revestimento foi realizado com hidroxiapatita pura em cerca de 24 % (\pm 6%). A estabilidade do material também foi testada, obtendo-se como resultado taxas de liberação de íons por cm² de amostra de 0,12 µg a 0,61 µg para o cobre e 0,09 µg a 0,77 µg para o zinco. A liberação desses íons nessas taxas não demonstrou toxicidade nas células ósseas e aumentou a eficiência do material contra o crescimento de *E. coli*, de modo que tais materiais possuem grande potencial para serem aplicados às superfícies de implantes ortopédicos (HUANG *et al.*, 2015).

2.6. Revestimentos em Implantes

A utilização de nanopartículas com propriedades antibacterianas representa um vasto campo de estudo devido à sua importância do ponto de vista médico, principalmente na prevenção de infecções em atos cirúrgicos e no período pós-operatório. Embora outras técnicas de desinfecção já estejam bem estabelecidas em rotinas hospitalares, como o uso de soluções orgânicas e inorgânicas de caráter bactericida, a utilização de equipamentos capazes de evitar crescimento microbiano oferece vantagens práticas, biológicas e ambientais (CHOI e HU, 2008).

Além disso, nos casos de transplantes artificiais, como próteses ortopédicas e implantes dentários, a aplicação de nanopartículas se faz ainda mais necessária, uma

vez que o risco de insucesso dessas cirurgias associadas diretamente à natureza do material implantado é significativo. Tal risco está relacionado principalmente a três razões: falha mecânica da prótese, rejeição corporal ao implante e infecções na região da cirurgia. Devido ao uso de materiais de alta resistência mecânica, como ligas metálicas de titânio, as falhas por fadiga têm sido evitadas. No entanto, ainda há espaço para aperfeiçoamento das características estruturais dos materiais utilizados, como por exemplo o uso de compósitos com nanotubos, capazes de resistir por longos períodos a testes de fadiga e tensão (BOZIC, KURTZ e LAU, 2010).

Os fatores associados à rejeição ao implante incluem resposta inflamatória na região atingida, podendo essa ser crônica ou aguda, e reações de corpo estranho, normalmente ligadas ao papel das células macrófagos presentes no sistema imunológico. As inflamações que aparecem nos tecidos atingidos se dão pela cirurgia e posteriormente pelo contato com o biomaterial. Isso porque a homeostase da região periférica ao implante é decrescida, o que leva a vascularização da região e possível coagulação. Mecanismos de defesa também são acionados, como liberação de espécies reativas de oxigênio (*ROS*) e o ataque de células macrófagos, o que dificulta o crescimento dos tecidos nas intermediações do implante. Sabe-se que o crescimento de células ósseas na superfície da prótese é essencial para a adaptação do corpo ao material. Caso isso não ocorra, há a possibilidade de se observar necrose nos tecidos ósseos adjacentes ao implante. Nesse sentido, melhoramentos na superfície dos implantes têm sido testados, principalmente quanto à rugosidade do material, já que superfícies rugosas estimulam o crescimento celular, e quanto à natureza do mesmo, visto que certos materiais são capazes de prevenir respostas inflamatórias, como a nano-CeO₂, ou simular a estrutura óssea, como no caso da hidroxiapatita. A utilização desses materiais em escala nano apresenta ainda a vantagem de proporcionar maior área superficial e, conseqüentemente, maior reatividade, além de contribuir para o aumento da rugosidade (ANDERSON, 1988).

Há ainda o risco de infecção causada pela formação de biofilmes na superfície do implante, também conhecida como falha séptica. Essa é a principal causa de remoção de implantes e revisões cirúrgicas, correspondendo a mais de 70% dos casos nos Estados Unidos. Estima-se que o custo de cada procedimento seja de US\$ 70.000, e em alguns casos, essas infecções podem levar à morte do paciente (STANTON, 2010). De modo geral, antibióticos são administrados de modo a conter a infecção, mas esses não apresentam alta eficácia quando já existe a presença de biofilmes na superfície do material. A razão disso é o efeito protetor desses filmes sobre as

bactérias, interferindo na ação imunológica do corpo e impedindo o sucesso da terapia antibiótica. Dessa forma, doses maiores de medicação são utilizadas, o que atrapalha a formação de tecidos saudáveis na superfície do material e pode acionar resistência a antibióticos nas bactérias. Por esse motivo, há um crescente interesse em obter implantes capazes de prevenir o crescimento bacteriano em sua superfície. Sabe-se que um ponto crítico dessa prevenção é impedir que as bactérias se adsorvam no material, o que leva à busca por revestimentos com características que previnam essa fixação. Além disso, a rugosidade do material e seu nível de hidrofobicidade também têm papel importante na redução do desenvolvimento de biofilmes de origem bacteriana, já que também diminuem a aderência de bactérias na superfície dos implantes. Portanto, revestimentos com nanopartículas têm sido testados como uma alternativa ao uso de antibióticos por contribuírem com a diminuição da aderência bacteriana nas superfícies revestidas e, no caso de materiais com propriedades antibióticas, impedirem o crescimento de micro-organismos em sua presença (BHARDWAJ, YAZICI e WEBSTER, 2015).

2.6.1. Caracterização de Superfícies Revestidas

Na maioria das técnicas de análise de revestimentos, uma energia incidente (como elétrons, prótons ou íons) é direcionada para a superfície da amostra. As interações entre a superfície resultam em mudanças nas suas propriedades e, como resultado, partículas são emitidas em direção ao detector para posterior análise. Algumas das propriedades mais relevantes no estudo dos depósitos de revestimento são sua composição, cristalinidade, hidrofobicidade, estrutura, rugosidade e carga superficial. Diferentes métodos podem prover tais informações com níveis variados de exatidão, o que implica a seleção correta do método baseando-se nos seus limites de detecção e nas condições da amostra (HAFNER *et al.*, 2010).

Dentre as técnicas de caracterização de superfícies revestidas em termos estruturais e composicionais, destacam-se as microscopias eletrônicas de varredura e transmissão (MEV e MET, respectivamente), a microscopia de força atômica (AFM), ressonância de plasma de superfície (SPR), espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDX ou EDS), a espectrometria de massa por íons secundários (SIMS) e a espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS). Quando é necessário

analisar estruturas mais profundas na amostra, outras técnicas podem ser utilizadas, como a espectroscopia de reflexão interna total atenuada no infravermelho (*ATR-IR*). Métodos de análise como determinação de ângulo de contato e potencial zeta fornecem ainda informações sobre a energia da superfície revestida. A figura 4 apresenta um esquema com o funcionamento básico de algumas das técnicas mais comuns, bem como seus alcances de profundidade (YASEEN, COWSILL e LU, 2012).

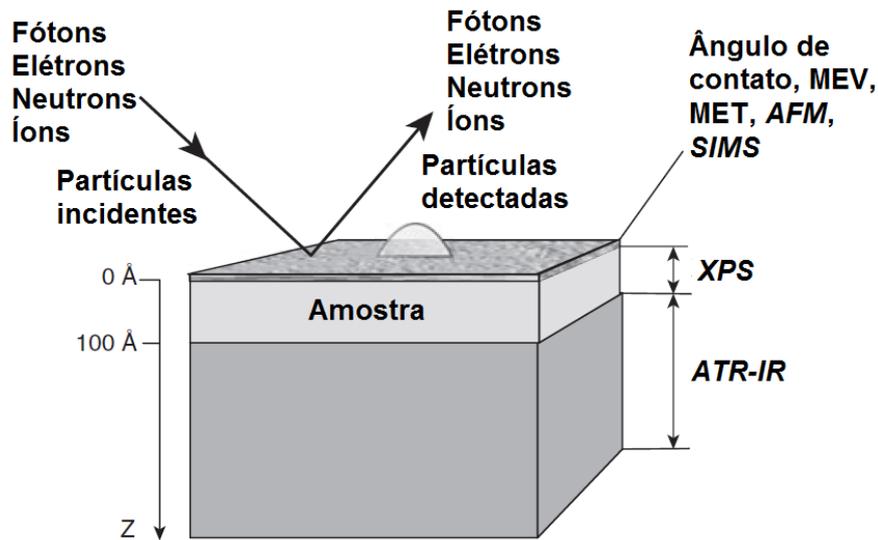


Figura 4. Esquema com arranjos típicos para análise de superfícies e alguns métodos com seus respectivos alcances de profundidade.

Fonte: Yaseen, Cowsill e Lu (2012), adaptado pela autora.

2.6.2. Técnicas de Revestimento

Materiais nanoestruturados já têm sido incorporados a dispositivos médicos com o objetivo de aumentar a funcionalidade de sua superfície, como no caso da hidroxiapatita, material de origem calcária muito utilizado em implantes ortopédicos. No entanto, o desenvolvimento de outras nanopartículas que disponham de características antimicrobianas e previnam respostas inflamatórias se faz necessário, com o intuito de diminuir os riscos associados a transplantes artificiais. Além disso, as propriedades da superfície revestida dependem da adesão desse à matriz, bem como da sua rugosidade, o que implica que a escolha da técnica de revestimento tem um papel importante para atingir os resultados esperados (CHAIJARUWANICH, 2011).

2.6.2.1. Revestimento por *Plasma Spray*

Uma técnica relevante e amplamente utilizada no revestimento de dispositivos biomédicos é o tratamento com plasma, de modo a modificar a superfície do material sem alterar as propriedades internas do mesmo. Comumente nesse processo, uma solução com as nanopartículas é injetada em um jato de plasma para rapidamente se fundirem, formando uma corrente de partículas aceleradas em direção ao substrato que se deseja revestir. Também é comum que essa corrente esteja na forma de *spray*, de modo a garantir que as partículas estejam completamente fundidas. Caso partículas não fundidas sejam lançadas no substrato, há a possibilidade do revestimento se desprender após o resfriamento do mesmo. Com o impacto do líquido na superfície, as gotas normalmente apresentarão formato de disco, mas deve-se considerar que a forma específica das partículas dependerá da tensão superficial, viscosidade, densidade do material, além da velocidade do líquido. Conforme as gotas tocam o substrato, elas se solidificam, mas logo podem sofrer fusão novamente com a chegada de outras camadas de *spray*. Dessa forma, forma-se uma microestrutura colunar na superfície do material sob revestimento (SHAWA *et al.*, 2000). A figura 5 mostra um esquema do processo de deposição por *plasma spray*.

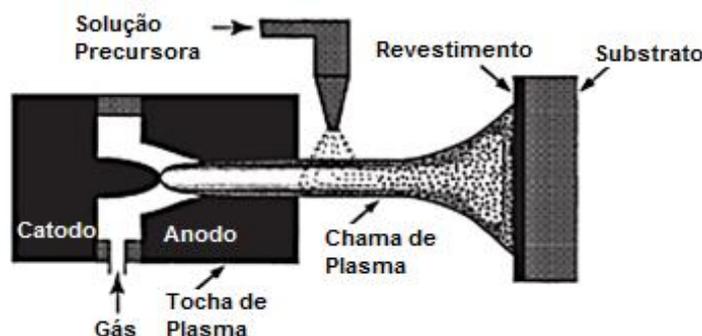


Figura 5. Esquema de um processo de *plasma spray*.
Fonte: PADTURE *et al.*, (2001), adaptado pela autora.

2.6.2.2. Revestimento por Deposição Física de Vapores por Evaporação

No processo de deposição física de vapores, o material a ser aplicado é evaporado de modo a obter-se partículas sub-micrométricas que são transportadas até o substrato a ser revestido, formando um filme fino e resistente em sua superfície. Como uma forma de facilitar a evaporação, a deposição geralmente ocorre em condições de vácuo e pode utilizar como fonte de calor uma resistência, arcos de alta energia ou feixe de elétrons. Nos casos de metais com pontos de fusão relativamente baixos, fontes de resistência podem ser utilizadas para aquecer um cadinho contendo o material em forma de pó (MOORE, ASADI e LEWIS, 2017). Para a evaporação de certos materiais refratários, como aço inoxidável e ligas de níquel, o processo de aquecimento é dado pela exposição a um feixe de elétrons de alta intensidade. Esse método, no entanto, não permite a evaporação de metais com pontos de fusão muito elevados, como molibdênio e tungstênio, além de tratar-se de um processo dispendioso e que demanda alto investimento inicial. Apesar destas desvantagens, os depósitos formados por deposição física de vapores normalmente apresentam alto grau de pureza, além de ser um método que não forma efluentes e permite maior controle da espessura e da taxa de deposição (CHAIJARUWANICH, 2011).

2.6.2.3. Revestimento por Pulverização Catódica, *Sol-gel* e Redução

Há ainda outras técnicas de revestimento utilizadas para nanopartículas, porém menos comuns no caso de implantes ortopédicos. Pode-se citar a pulverização catódica do tipo Magnetron, que segue um princípio similar ao da deposição física de vapores por evaporação. No processo em questão, o material pulverizado é injetado no interior do sistema devido ao bombeamento de íons na superfície a ser revestida. Esse procedimento também ocorre em câmaras a vácuo, geralmente contendo um gás inerte como o argônio. Em materiais que possuem menor resistência térmica, tem-se a opção de aplicar o método de *sol-gel*, citado anteriormente (CIOFFI e RAI, 2012). Mahltig e Textor (2010), por exemplo, utilizaram essa técnica para revestir estruturas têxteis com sílica dopada com nanopartículas de prata (MAHLTIG e TEXTOR, 2010). Além desses, algumas técnicas de redução química já foram utilizadas a fim de revestir o substrato com as nanopartículas enquanto estas são sintetizadas. Nair e

Nair e Laurencin (2007) testaram esse método aplicando uma solução de AgNO_3 com um agente redutor e um estabilizador em superfícies a serem revestidas. Foi observado que as concentrações iniciais de AgNO_3 , do agente redutor e do estabilizador são parâmetros importantes no controle de formação de aglomerados e no tamanho das partículas formadas (NAIR e LAURENCIN, 2007).

2.6.2.4. Revestimento por Deposição Eletroforética (*EPD*)

Uma técnica que têm ganhado destaque em publicações recentes a respeito de revestimentos em implantes ortopédicos é a deposição eletroforética (*EPD - ElectroPhoretic Deposition*). Esse método é realizado em dois passos principais. Primeiramente, as partículas suspensas em solução são impelidas a se moverem na direção de um eletrodo de carga oposta por meio da aplicação de um campo elétrico espacialmente uniforme na suspensão, processo chamado de eletroforese. Após essa etapa, as partículas coletadas em um dos eletrodos formam em sua superfície um depósito coeso. Se as partículas estão carregadas positivamente e, portanto, são atraídas para o catodo carregado negativamente, tem-se uma deposição eletroforética catódica. Em caso oposto, a *EPD* é chamada anódica (BESRA e LIU, 2007).

Nessa técnica, os materiais a serem depositados precisam estar na fase sólida em forma de pó, requisitos esses que nanopartículas possuem. Não se deve confundir a deposição eletroforética com a deposição eletrolítica, processo similar em que soluções iônicas são utilizadas no lugar de suspensões de partículas. Algumas das vantagens da *EPD* incluem baixa temperatura de processamento, alta pureza da deposição em geral e a possibilidade de controle da espessura da camada através da intensidade do campo gerado, além da ausência de reações entre o eletrodo e as partículas, o que ameniza a possibilidade de que processos corrosivos ocorram paralelos à deposição (VAN DER BIEST e VANDEPERRE, 1999). A figura 6 apresenta um esquema de célula padrão de deposição eletroforética.

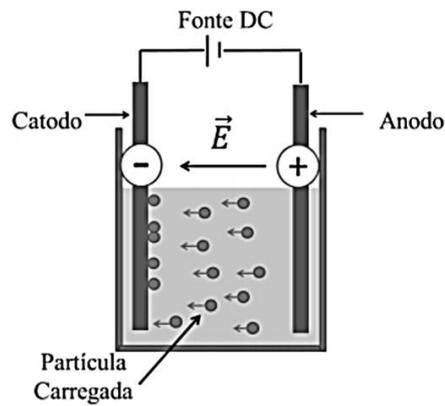


Figura 6. Esquema demonstrando a configuração de sistemas de deposição eletroforética.
Fonte: Zica (2013), p 6.

Uma vez que as partículas irão se mover em resposta ao campo elétrico formado apenas se estiverem eletricamente carregadas, estabelece-se quatro mecanismos pelos quais esse fenômeno pode ocorrer. São eles: a adsorção de íons oriundos da solução na superfície da partícula; dissociação de íons da fase sólida para a fase líquida da suspensão; adsorção ou orientação de moléculas dipolares na superfície da partícula; e transferência de elétrons entre as fases sólida e líquida por diferença de potencial. Quando as partículas estão eletricamente carregadas, seja por sua composição ou por um momento dipolar, cargas presentes na solução a circundam, conforme mostrado na figura 7. Esse arranjo é conhecido como dupla camada elétrica (VAN DER BIEST e VANDEPERRE, 1999).

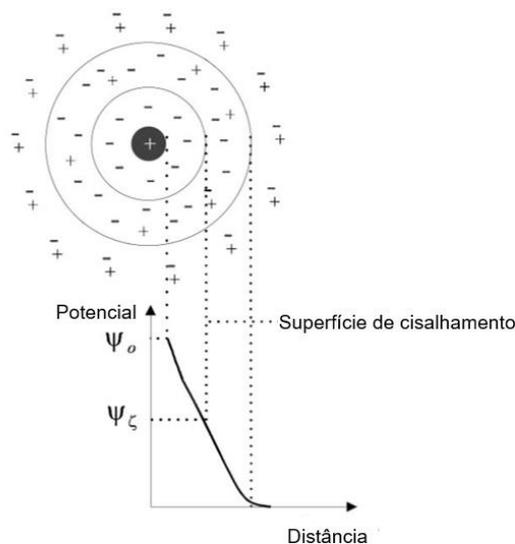


Figura 7. Esquema representativo da formação de dupla camada elétrica em suspensão de partículas.

Fonte: Van Der Biest e Vandeperre (1999), adaptado pela autora.

Quando o campo elétrico é aplicado, as cargas e as partículas deveriam se mover em direções opostas, o que não acontece uma vez que eles ainda estão atraídos mutuamente. Portanto, a velocidade da partícula não é apenas determinada por sua carga, mas pela rede de cargas que a circunda e direciona sua movimentação. O potencial na superfície de cisalhamento é dado pelo seu potencial zeta ou potencial eletrocinético, que decai em camadas de íons mais distantes da partícula. Tal potencial é essencial na avaliação da estabilidade da suspensão, uma vez que quanto maior seu valor, mais intensa será a repulsão entre as partículas carregadas, o que supera sua tendência natural à agregação (VAN DER BIEST e VANDEPERRE, 1999).

Os principais fatores que influenciam o processo de deposição eletroforética são a carga da partícula e sua mobilidade no solvente. Portanto, deve-se atentar a parâmetros físicos tais como tensão aplicada e tempo de deposição; e a parâmetros relacionados à natureza da suspensão, como tamanho de partícula, características do solvente, entre outros. Dentre os parâmetros físicos, destaca-se o tempo de deposição, cuja relação com a taxa de deposição é diretamente proporcional quando sob tensão fixa, conforme demonstrado por Basu *et al.* (2001). No entanto, o mesmo autor ressalta que após tempos de deposição muito elevados, a taxa de deposição atinge a fase platô, o que é explicado pela formação de uma densa camada isolante de partículas na superfície do eletrodo (BASU, RANDALL e MAYO, 2001).

Para o mesmo tempo de deposição, o aumento da tensão aplicada normalmente induz uma maior massa de material depositado, mas a qualidade do depósito deve ser observada. Filmes depositados a tensões elétricas mais brandas tendem a ser mais uniformes, o que não ocorre em filmes obtidos a altas tensões elétricas. Nesses casos, campos elétricos de alta magnitude causam turbulência na suspensão, de modo que o revestimento sofre a ação de fluxos volumétricos no meio durante a deposição. Desse modo, testes com diferentes tensões elétricas são essenciais para se determinar as melhores condições de deposição (BASU, RANDALL e MAYO, 2001).

Os parâmetros ligados à suspensão também devem ser observados, uma vez que a estabilidade do sistema, bem como a mobilidade das partículas dependem muito da interação dos elementos suspensos e seus solventes. Em geral, uma suspensão é estável se essa apresenta baixa taxa de precipitação e tendência a evitar floculação ou aglomeração. Para tal, o raio da dupla camada deve ter tamanho equiparável ao raio da partícula, a fim de que as cargas sejam suficientes para promover sua mobilidade e mantê-las suspensas (BESRA e LIU, 2007). Além do potencial zeta já mencionado, tem-se o tamanho das partículas, por exemplo, que é fator fundamental

para a estabilidade da suspensão, pois partículas grandes tendem a se depositar no fundo do recipiente por ação gravitacional, além de formarem depósitos com rachaduras mais facilmente (HEAVENS, 1990). Além disso, fluidos com alta viscosidade tendem a ser evitados em suspensões que serão submetidas a *EPD*, já que afetam a mobilidade do particulado e, conseqüentemente, a qualidade dos depósitos obtidos. Castro *et al.* (2004) demonstraram que suspensões em sistemas *sol-gel* cuja viscosidade observada foi baixa, os depósitos apresentaram maior espessura sem que rachaduras fossem formadas (CASTRO *et al.*, 2004).

Outro fator a ser considerado é a constante dielétrica (ϵ) do solvente, número adimensional que indica o quão facilmente o líquido dielétrico pode ser polarizado pela imposição de um campo elétrico. É, portanto, a razão entre a habilidade real do material de carregar uma corrente pela mesma habilidade em condição de vácuo. Negishi *et al.* (2002) destacam que, quando a suspensão apresenta valores de ϵ muito baixos (abaixo de 12), as partículas não permanecem suspensas, e que quando atinge valores muito altos (superiores a 26), a alta concentração iônica no líquido reduz o tamanho da região de dupla camada ao redor da partícula, o que diminui sua mobilidade eletroforética. Solventes como o t-butanol ($\epsilon = 12,4$) e o etanol ($\epsilon = 24,6$) estão dentro dessa faixa ótima de constante dielétrica, o que não impede que compostos orgânicos com maiores valores de ϵ possam ser adicionados em pequena quantidade a fim de provocar um aumento na constante dielétrica do sistema. Um exemplo é a adição de dimetilformamida (DMF), cuja constante é igual a 36,7 (NEGISHI, YANAGISHITA e YOKOKAWA, 2002).

Assim como no caso da constante dielétrica, a condutividade elétrica da suspensão também deve ser mantida em valores ótimos de operação. Caso a condutividade seja muito alta, a mobilidade das mesmas também será diminuída pelo efeito de redução da dupla camada, e caso seja muito baixa, a estabilidade da suspensão durante o processo de *EPD* é comprometida pela resistência do meio. Valores ideais de condutividade dependem do sistema em estudo, mais especificamente da natureza dos solventes e do processo de carregamento das partículas (FERRARI e MORENO, 1996).

Quanto à natureza do solvente, pode-se dividir as suspensões em aquosas e não-aquosas, de modo que ambas apresentam vantagens e desvantagens quanto à sua utilização. Suspensões aquosas normalmente necessitam de tensões elétricas mais baixas durante a deposição, apresentam menores riscos ambientais e baixo custo. Entretanto, a eletrólise da água – que ocorre mesmo a baixas tensões elétricas –

produz bolhas de gás na superfície do eletrodo, o que prejudica a uniformidade do depósito. Além disso, devido à alta densidade de corrente observada em sistemas aquosos, a temperatura tende a aumentar na suspensão, gerando instabilidade no filme depositado. Outro problema encontrado em suspensões aquosas é a possibilidade de oxidação de eletrodos metálicos na presença de água, fato que acontece quando o potencial de equilíbrio do eletrodo é ultrapassado. Tal fenômeno produz impurezas que invariavelmente irão permanecer no depósito. Desse modo, a utilização de suspensões aquosas deve ocorrer sob condições cuidadosamente controladas de temperatura e campo aplicado a fim de evitar ou diminuir os problemas eletroquímicos mencionados (MORENO e FERRARI, 2000).

Geralmente, compostos orgânicos são os mais utilizados no preparo de suspensões para deposição eletroforética. Mesmo que em muitos casos tais líquidos apresentem baixa constante dielétrica, o que pode limitar a formação de cargas nas partículas devido à sua baixa capacidade de dissociação, isso é compensado pela quase inexistência de problemas observados em suspensões aquosas como geração de gás, aumento da temperatura e ataque eletroquímico dos eletrodos. No entanto, algumas questões na utilização de solventes orgânicos devem ser consideradas, como seu custo, toxicidade e inflamabilidade, além da necessidade de tensões elétricas mais altas durante a deposição (BESRA e LIU, 2007). Outro fator a ser considerado é a formação de cargas na superfície das partículas. Enquanto em suspensões aquosas a presença de íons é abundante e suficiente para carregar as partículas, as cargas presentes em compostos orgânicos geralmente são escassas. As cargas formadas são, portanto, uma consequência da tendência do solvente de doar elétrons, o que depende de seu potencial redox e grau de ionização. Desse modo, o próprio solvente pode ser a fonte de cargas em suspensões orgânicas. Como uma forma de aumentar as cargas presentes no meio, pode-se adicionar compostos ácidos ou básicos às suspensões, ou ainda outros compostos orgânicos de maior polaridade e tendência à doação de elétrons (LABIB e WILLIAMS, 1986).

Com o intuito de aumentar a estabilidade das suspensões, é comum a utilização de ligantes poliméricos. Esses podem ser definidos como polímeros cuja presença auxilia o transporte da partícula até o eletrodo e reduz a aglomeração das partículas, agindo assim como um dispersante. Isso ocorre porque certos grupos funcionais da molécula polimérica se ligam à superfície da partícula, enquanto a outra extremidade se liga a outras espécies polares presentes na suspensão, de modo que a dupla camada se expande e, conseqüentemente, o potencial zeta é aumentado. Portanto, é necessário

que o polímero apresente boa aderência à superfície da partícula, o que é comumente observado no caso de óxidos. Por outro lado, deve-se atentar para a quantidade de ligantes poliméricos adicionados à suspensão, pois uma grande densidade desse material pode tornar seu efeito contrário ao desejado, induzindo assim a floculação e ainda promovendo adsorção competitiva. A quantidade ideal de ligantes depende de cada sistema, logo, faz-se necessário buscar fontes bibliográficas que informem ou direcionem a massa a ser adicionada (BESRA e LIU, 2007).

Alguns autores já utilizaram essa técnica para revestir implantes metálicos com nanopartículas. Song *et al.* (2008) utilizaram *EPD* para revestir ligas de magnésio usadas em implantes artificiais com hidroxiapatita, obtendo uma superfície com alta rugosidade e alta resistência a corrosão quando exposta a fluidos corporais estimulados (*SBF*) (SONG, SHAN e HAN, 2008). Wei *et al.* (2000) revestiram placas compostas por ligas de titânio e de aço inoxidável com duas camadas de hidroxiapatita por *EPD*, obtendo superfícies com forças de ligação próximas às encontradas em superfícies ósseas (WEI *et al.*, 2000).

Bhardwaj *et al.* (2015) compararam a eficiência de superfícies de titânio revestidas com hidroxiapatita pelo método *plasma spray* e por *EPD*. Os parâmetros utilizados foram a rugosidade das superfícies, redução do crescimento bacteriano e diminuição da densidade de macrófagos na superfície revestida. Na figura 8, estão os resultados de MEV para a superfície revestida por *EPD* (a), por *plasma spray* (b) e para a superfície de titânio sem nenhum revestimento (c). É possível observar que as superfícies submetidas a *EPD* apresentam rugosidade superior às revestidas por *plasma spray* (BHARDWAJ, YAZICI e WEBSTER, 2015).

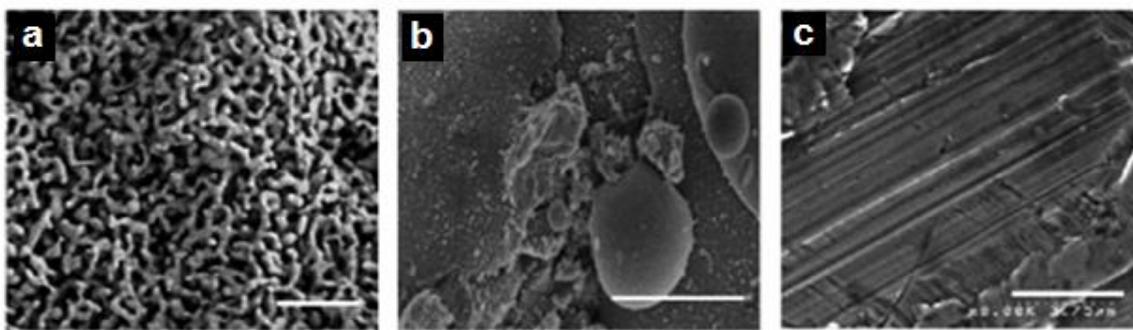


Figura 8. Resultados de MEV para superfícies de titânio revestidas com hidroxiapatita por deposição eletroforética (a), *plasma spray* (b) e sem revestimento (c).

Fonte: Bhardwaj *et al.* (2015), adaptado pela autora.

Protocolos de crescimento bacteriano e de aderência de macrófagos também foram realizados de modo a prever a capacidade antibacteriana e de adaptação corporal da

superfície. Foi observada menor aderência de células macrófagos em amostras de *EPD*, cuja viabilidade celular foi em média 20% menor que em titânio não-revestido e 15% menor que nas amostras de *plasma spray*. Também pode-se notar uma densidade de bactérias 5 vezes menor nas amostras de *EPD* quando comparadas com as de *plasma spray* e 2 vezes menor que as superfícies sem revestimento. A figura 9 apresenta uma comparação entre as quantidades de unidades formadoras de colônias de *S. aureus* obtidas em diversos tamanhos de partícula depositadas por *EPD* e as referentes às amostras sem revestimento e revestidas pelo método de *plasma spray* (BHARDWAJ, YAZICI e WEBSTER, 2015).

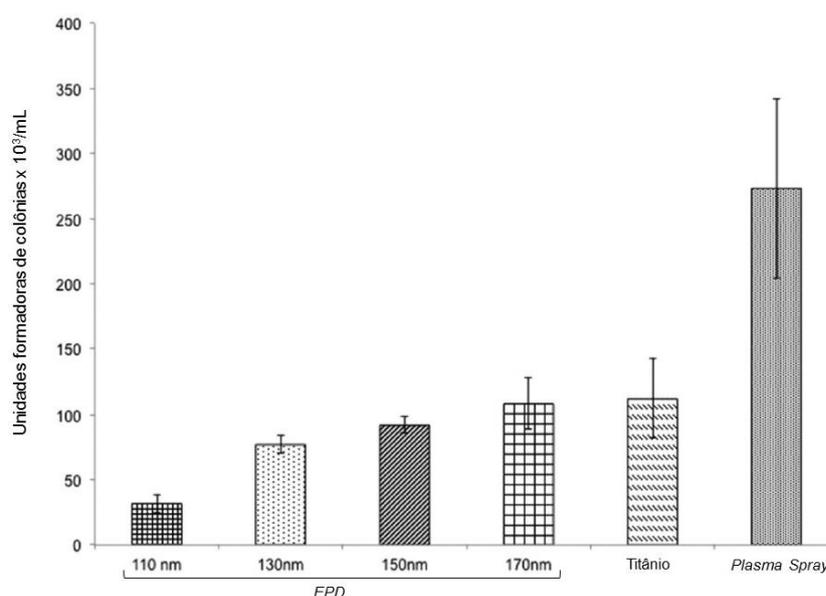


Figura 9. Unidades formadoras de colônias de *S. aureus* em superfícies revestidas por *EPD*, plasma spray e sem revestimento.

Fonte: Bhardwaj *et al.* (2015), adaptado pela autora.

2.6.3. Comparação entre as Técnicas de Deposição

Conforme mencionado anteriormente, é imprescindível que o revestimento de implantes ortopédicos seja capaz de reduzir os riscos a infecções e de estimular o desenvolvimento ósseo na região implantada. Nesse sentido, diversos materiais têm sido testados quanto às suas características antibacterianas, propriedades mecânicas e biocompatibilidade. Tão importante quanto esses parâmetros é a topografia do revestimento, conforme demonstrado por diversos estudos. Taniguich *et al.* (2016) estudaram o efeito do tamanho dos poros em implantes de titânio e concluíram que, para as mesmas condições, tamanhos de poro de 600 μm apresentaram melhores

resultados em termos de aderência celular que aqueles a 300 μm (TANIGUCHI, FUJIBAYASHI e TAKEMOTO, 2016). Khang *et al.* (2008) avaliaram o efeito do tamanho de grão depositado e observaram que a aderência de osteoblastos foi 51% maior em revestimentos com partículas de 24 nm do que naqueles com 167 nm (KHANG *et al.*, 2008). Portanto, entende-se a importância de controlar os parâmetros topográficos dos depósitos para se obter depósitos mais eficientes e, para tal, o processo de revestimento deve ser cuidadosamente escolhido.

Moore *et al.* (2017) compararam algumas técnicas dentre as mais utilizadas no revestimento de implantes baseando-se em estudos recentes. Os parâmetros de comparação observados foram espessura do revestimento, tamanho típico de poros e custo relativo (MOORE, ASADI e LEWIS, 2017). A figura 10 apresenta estas comparações, relacionando as técnicas de *plasma spray*, deposição eletroforética, deposição física de vapores por evaporação e pulverização catódica.

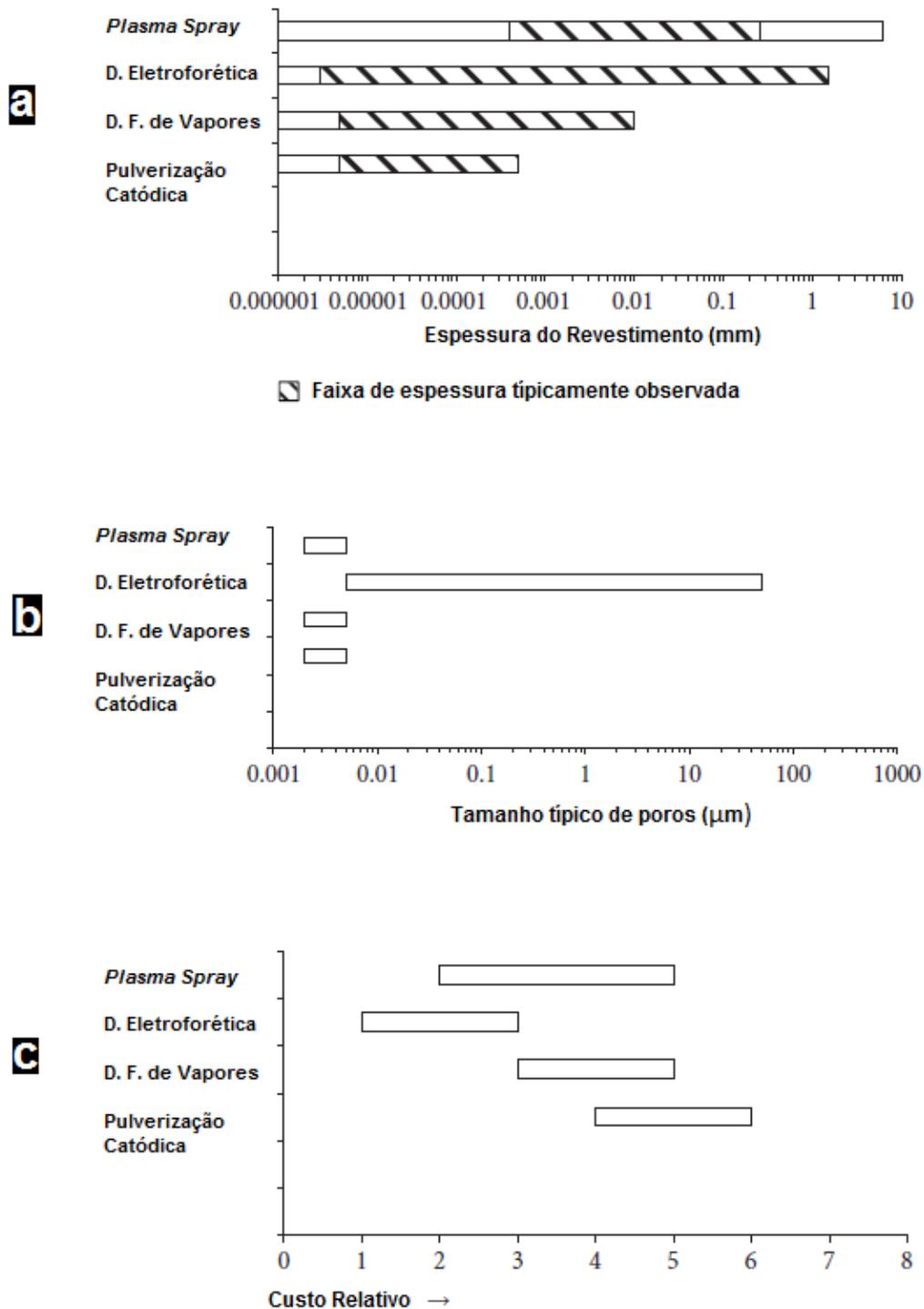


Figura 10. Comparação entre as técnicas de revestimento por *plasma spray*, deposição eletroforética, deposição física de vapores por evaporação e pulverização catódica quanto à espessura de revestimento (a), tamanho típico de poros (b) e custo relativo (c).

Fonte: Moore *et. al.* (2017), adaptado pela autora.

Na figura 10 (a), em que estão sumarizados os valores típicos de espessura de revestimento para os processos em estudo, pode-se observar que a deposição eletroforética é a que apresenta a maior abrangência, com a espessura variando entre

5 nm até valores superiores a 1 mm. As técnicas de deposição física de vapores e de pulverização catódica também se mostraram capazes de atingir valores nanométricos consideravelmente baixos, porém com menor alcance quando comparados à *EPD*. Os tamanhos típicos de poros observados para estas técnicas estão apresentados na figura 10 (b). Dentre os métodos mostrados, o único que resulta em porosidade considerável a nível submicrométrico é a deposição eletroforética, enquanto as outras técnicas formam depósitos de alta densidade e baixa porosidade, o que inibe a penetração de células osteogênicas e sua integração com a superfície implantada (MOORE, ASADI e LEWIS, 2017).

O custo relativo de cada procedimento pode ser analisado na figura 10 (c). Para a determinação desses custos foram considerados o investimento inicial, custo de processamento e custo de materiais de consumo. As técnicas de deposição física de vapor e de pulverização catódica requerem um alto investimento inicial, uma vez que demandam o uso de câmaras de vácuo. No caso da deposição eletroforética e da deposição por *plasma spray*, o custo de materiais de consumo é elevado devido ao uso de nanopartículas. Entretanto, conforme demonstrado na figura 10 (c), a deposição eletroforética é a que se mostra mais eficiente economicamente. A comparação entre tais aspectos demonstra que a técnica de deposição eletroforética apresenta vantagens significativas com relação à sua utilização no revestimento de implantes ortopédicos, o que indica seu potencial uso no aprimoramento das superfícies implantadas (MOORE, ASADI e LEWIS, 2017).

2.7. Considerações Finais

Os estudos supracitados demonstram que revestimentos por *EDP* possuem um grande potencial de melhoramento de superfícies metálicas. Além de sua eficiência em modificar as superfícies do substrato, as condições operacionais amenas permitem que sua aplicação seja menos custosa quando comparada com outras técnicas já estabelecidas. Embora um número considerável de trabalhos apresente dados relevantes sobre a técnica de deposição eletroforética, poucos são aqueles focados especificamente em implantes de titânio, e menor ainda é a disponibilidade de trabalhos que utilizem outras nanopartículas que não a hidroxiapatita. Tendo em vista que outros nanomateriais são capazes de apresentar biocompatibilidade e

diminuir o risco de infecção, faz-se necessário diversificar as opções de revestimento a fim de obter superfícies cada vez mais inteligentes e capazes de interagir positivamente com o organismo dos pacientes. Portanto, a pesquisa de outros nanomateriais para revestimento utilizando *EDP* é um campo ainda pouco explorado com potencial de aprimorar a tecnologia de implantes de titânio.

3 METODOLOGIA

3.1. Síntese de Nanopartículas de Cu-ZnO

A síntese de ZnO dopado com cobre foi realizada a partir de ZnCl₂ (Dinâmica Química Contemp. Ltda[®]) e CuCl₂ (Dinâmica Química Contemp. Ltda[®]) diluídos em água, com proporção de Cu a 5% (molar) e em meio básico sob agitação por 2 horas. Para manter o pH aproximadamente igual a 8, NH₄OH com teor de 28 a 30% (Dinâmica Química Contemp. Ltda[®]) foi adicionado lentamente ao meio reativo. Posteriormente, o produto foi filtrado a vácuo e levado à estufa a 100 °C por 4 horas. Por fim, o produto foi calcinado em mufla a 600 °C por 2 horas e depois reservado à temperatura ambiente em recipiente fechado. Óxido de zinco puro também foi sintetizado seguindo os mesmos procedimentos descritos para a síntese de Cu-ZnO (sem a adição de CuCl₂) para fins de comparação por DRX.

3.2. Caracterização das Nanopartículas de Cu-ZnO

Amostras das nanopartículas de Cu-ZnO sintetizadas foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) nos microscópios MEV e MET disponíveis no Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (LUCCAR), localizado no *campus* de Maruípe da Universidade Federal do Espírito Santo (Vitória-ES). Para a obtenção das imagens por MEV, o preparo da amostra consistiu na metalização com ouro para aumento da condutividade elétrica na superfície do material, sendo essa a única etapa necessária por tratar-se de um composto inorgânico em pó. O preparo da amostra antecedente à análise por MET consistiu na suspensão da mesma em etanol absoluto e posterior secagem sobre a grade de carbono (porta-amostras).

Análises por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) em microscópio eletrônico de varredura e Difração por Raios-X (DRX) em um difratômetro também foram aplicadas às amostras de Cu-ZnO. Os equipamentos utilizados foram

disponibilizados pelo Laboratório de Materiais Carbonosos e Cerâmicos (LMC), localizado no campus de Goiabeiras da Universidade Federal do Espírito Santo (Vitória-ES). Para a DRX, o pó foi prensado sobre o porta-amostras e levado ao difratômetro. Apenas a metalização com ouro foi necessária para a preparação das nanopartículas antes da análise por *EDS*. Analisou-se por DRX uma amostra de óxido de zinco puro também para fins de comparação.

3.3. Deposição Eletroforética em Placas de Titânio

A fim de realizar a deposição das nanopartículas na superfície de titânio, um eletrólito foi preparado a partir de uma mistura de dimetilformamida (DMF) (Dinâmica® Química Contemp. Ltda) e álcool butílico terciário absoluto (Proquimios Comércio e Indústria Ltda.®) na proporção volumétrica de 1:500. A massa de 1 g de Cu-ZnO foi adicionada a essa mistura juntamente com 50 mg de álcool polivinílico (PVA) (Sigma-Aldrich®) – proporção mássica 20:1, permanecendo sob agitação por pelo menos 12 horas. Antes da deposição, a suspensão foi levada a um banho ultrassônico (Sanders Medical®, modelo SoniClean 2 PS) por 30 minutos, tendo em seguida sua condutividade elétrica determinada com o auxílio de um condutivímetro (Digimed® Instrumentação Analítica, modelo DM-32) e seu pH obtido com um pHmetro microprocessado de bancada (Quimis® Aparelhos Científicos LTDA, modelo Q400MT). Após a deposição eletroforética, o mesmo procedimento de medição de condutividade e pH foi realizado. O titânio utilizado é regulamentado pela norma ASTM F-67, que estabelece os parâmetros de produção de titânio com 99,325% de pureza especificamente para implantes cirúrgicos (Realum®). A partir da chapa obtida, pequenas placas de dimensões 1 mm x 2 cm x 2 cm foram submersas em etanol por 30 minutos em banho ultrassônico a fim de remover possíveis impurezas. Após esse passo, uma das placas foi adicionada com um conector ao polo positivo (ânodo de titânio) da fonte e a outra ao polo negativo (cátodo de titânio). A fonte foi ligada com tensões elétricas de 100 V, 120 V, 140 V, 160 V e 180 V, sendo cada experimento com duração de 1 minuto. As nanopartículas foram então transportadas pela suspensão até a superfície do catodo, de modo que o circuito se fecha, conforme mostrado na figura 11.

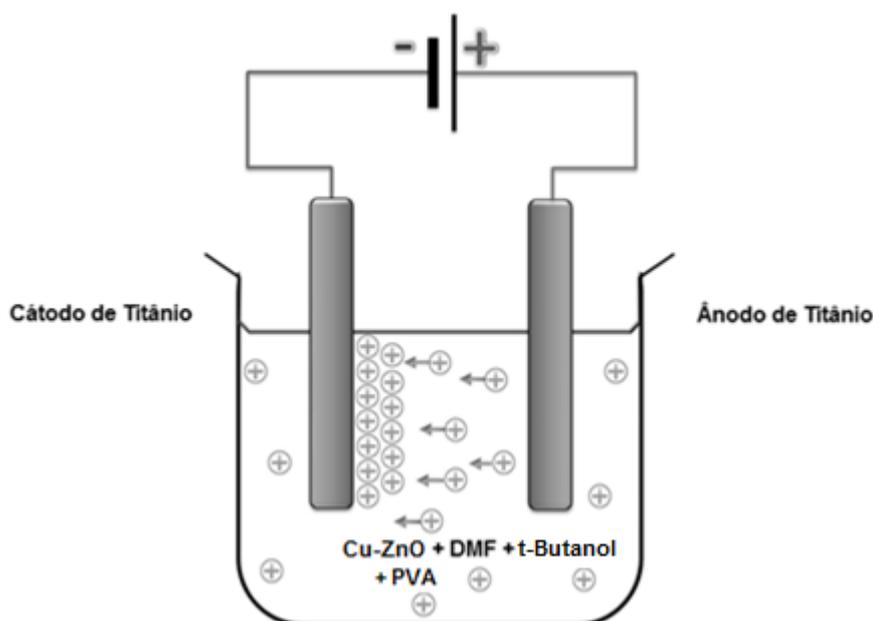


Figura 11. Célula para deposição eletroforética de Cu-ZnO em titânio.
Fonte: Bhardwaj *et al.* (2015), adaptado pela autora.

Ao final da deposição, as amostras foram mantidas a temperatura ambiente por 12 horas e levadas à mufla a 500 °C por 1 hora. Após esfriarem no interior do equipamento, as amostras foram preservadas a temperatura ambiente. Depois dessa etapa, as amostras foram analisadas em microscópio ótico digital (HIROX, modelo KH7700) localizado no Laboratório de Engenharia Química 1 da Universidade Federal do Espírito Santo (Campus de Alegre, ES) para determinar por inspeção visual aquela que demonstrar o melhor revestimento em termos de uniformidade e espessura do depósito. Essa mesma amostra foi, então, levada à próxima etapa de caracterização.

3.4. Caracterização das Superfícies Revestidas

A caracterização da amostra de titânio revestida foi feita por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), a fim de avaliar a rugosidade da superfície revestida, e por meio de Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS), de modo a obter a composição do revestimento. Ambas as análises foram realizadas no Laboratório de Materiais Carbonosos e Cerâmicos (LMC), com preparo da amostra consistindo apenas da metalização com ouro. Uma amostra de titânio puro previamente lavada com etanol também foi analisada por MEV e EDS para fins de comparação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização das Nanopartículas de Cu-ZnO

As amostras de nanopartículas de Cu-ZnO sintetizadas foram caracterizadas por quatro métodos: Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Difração de Raios-X (DRX) e Espectroscopia de Raios-X por Energia Dispersiva (EDS).

O objetivo da utilização da técnica de microscopia de transmissão (MET) foi avaliar o tamanho do nanomaterial sintetizado, bem como seu formato e possível aglomeração. A figura 12 (a) e (b) mostra duas imagens obtidas por MET das nanopartículas de Cu-ZnO.

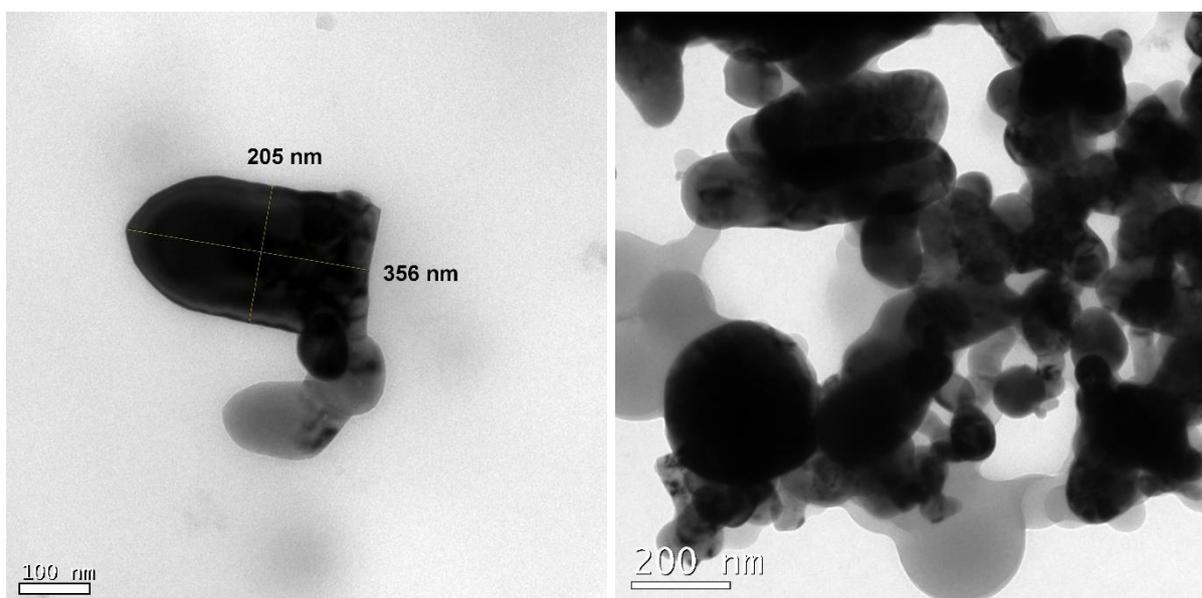


Figura 12. Imagens obtidas por MET de amostra de nanopartículas de Cu-ZnO.

Fonte: Autora.

Utilizando o software *ImageJ*[®], pode-se determinar as dimensões da maior partícula presente no *cluster* na figura 12 (a), cujo comprimento é igual a 356 nm e largura igual a 205 nm, dados esses que fornecem uma estimativa das dimensões das partículas sintetizadas. Por métodos similares de precipitação, outros grupos de pesquisa reportaram partículas com tamanhos similares aos encontrados. Kołodziejczak-Radzimska *et. al.* (2010) obtiveram nanopartículas de óxido de zinco com tamanhos variando entre 160 a 500 nm por meio de precipitação em meio alcalino. O mesmo estudo apontou que partículas sintetizadas a temperaturas mais próximas à ambiental

apresentaram diâmetros menores em comparação às aquelas produzidas a temperaturas mais altas (60 a 80 °C) (KOŁODZIEJCZAK-RADZIMSKA, JESIONOWSKI e KRYSZTAFKIEWICZ, 2010). Uma vez que buscou-se nesse trabalho sintetizar partículas cujas dimensões fossem as menores possíveis dentro das limitações do método, tal estudo corrobora a escolha da temperatura de operação como sendo a ambiente. Além de se tratar de um método simples e pouco custoso pelo uso de poucos reagentes, a precipitação em meio aquoso também possui a vantagem de ser realizada em temperatura ambiente. No entanto, algumas ressalvas precisam ser levantadas, principalmente caso busque-se nanopartículas com dimensões menores que 50 nm, por exemplo. Além disso, a figura 12 (b), onde se observa uma amostra maior de partículas, indica a formação de *clusters*, cuja causa pode estar relacionada ao método de síntese, que permite que as partículas se aglomerem durante seu crescimento em solução. A utilização de polímeros capazes de manter as partículas alojadas em sua rede polimérica e, assim, afastadas entre si, seria uma forma de dificultar a formação de *clusters* e de obter partículas menores (YOGAMALAR e BOSE, 2013). Para fins de deposição eletroforética, entretanto, as dimensões das nanopartículas sintetizadas neste trabalho não ofereceram empecilho ao processo de revestimento.

A técnica de Difração de Raios-X (DRX) foi utilizada para caracterizar o produto de síntese quanto às suas propriedades cristalinas, tais como estrutura cristalina e tamanho médio do cristalito. A figura 13 apresenta o difratograma obtido a partir da análise de DRX com incidência de raios-X gerados por alvo de cobre (comprimento de onda igual a 1,540562 Å). A fase cristalina foi identificada usando o *International Center for Diffraction Data (ICDD)* (DEAN, 1999).

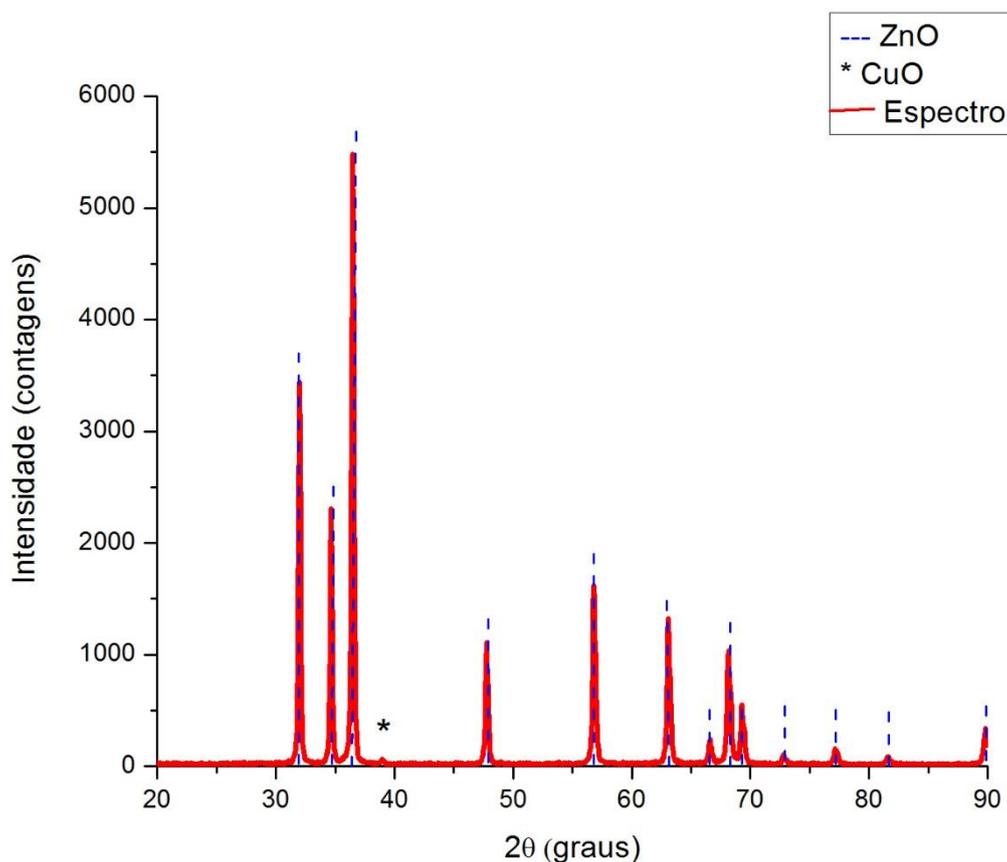
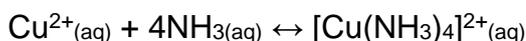


Figura 13. Difratograma de raios-X da amostra de nanopartículas de Cu-ZnO.
Fonte: Autora.

É possível observar a posição dos picos característicos no eixo do ângulo de difração 2θ para o óxido de zinco, mostrados na figura 13 nas linhas pontilhadas. Em comparação com a posição dos picos obtidos a partir da amostra de nanopartículas produzidas, percebe-se que a composição dessa indica a presença de óxido de zinco na amostra com grau de pureza elevado. Uma vez que o cobre se encontra dopado na estrutura do ZnO, não era esperado o aparecimento de nenhuma outra fase na amostra. No entanto, um pico de baixa intensidade pode ser observado, indicado na figura por um asterisco. Pela sua posição, é possível que se trate de CuO formado durante ou após a síntese, o que não descartaria a dopagem, apenas que a concentração utilizada (5%) foi superior à solubilidade do cobre em óxido de zinco, conforme discutido por Singhal *et al.* (2012).

A presença de CuO na amostra denota que nem todo o cobre adicionado ao meio reativo foi incorporado à estrutura cristalina do óxido de zinco. Outra possível forma de perda de cobre durante o processo de síntese seria pela formação do íon complexo

cuprato pela reação entre Cu^{2+} e a amônia, conforme mostrado na equação de equilíbrio químico que se segue.



A fim de calcular a quantidade de mols de íon cuprato formados nas condições de síntese, a reação de equilíbrio de formação do hidróxido de cobre também foi considerada, como mostrada na equação a seguir.



Realizando o balanço de massa das espécies de cobre e de amônia, chegou-se às equações 3 e 4, em que $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{in}}$ e $[\text{NH}_3]_{\text{in}}$ representam as concentrações iniciais do íon cobre e da amônia.

$$[\text{NH}_3]_{\text{in}} = [\text{NH}_3] + [\text{NH}_4^+] \quad (3)$$

$$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{in}} = [[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}] + 2[\text{NH}_4^+] \quad (4)$$

Usando essas equações e as equações de equilíbrio das reações mostradas, foi possível chegar à equação 5, em que k_{ps} é a constante de solubilidade do $\text{Cu}(\text{OH})_2$ e k_{dis} é a constante de dissociação do $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$. Tais valores foram encontrados no *Lange's Handbook of Chemistry* (DEAN, 1999).

$$[[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}] = \frac{k_{\text{ps}}}{k_{\text{dis}}} \cdot \frac{1}{[\text{OH}^-]^2} \cdot \left\langle [\text{NH}_3]_{\text{in}} - \left\{ \frac{[\text{Cu}^{2+}]_{\text{in}} - [[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}]}{2} \right\} \right\rangle^4 \quad (5)$$

Considerando as quantidades de reagentes iniciais e o pH igual a 8 mantido durante a síntese descrita anteriormente, a concentração final do íon cuprato encontrada foi de $1,8 \times 10^{-23}$ mol/L, o que corresponde a $7,5 \times 10^{-24}$ mols de cobre que não foram utilizados durante a dopagem. Tais valores são coerentes com o que foi observado experimentalmente, uma vez que concentrações tão baixas de cuprato não foram suficientes para modificar a coloração do filtrado de translúcido para azul.

Para fins de comparação, óxido de zinco puro foi sintetizado seguindo os mesmos procedimentos descritos para a síntese de Cu-ZnO, com exceção a adição de cobre. Tal amostra também foi analisada por DRX a fim de se obter dados mais conclusivos quanto à dopagem com cobre e seus efeitos na estrutura do material. A figura 14 apresenta o difratograma obtido por DRX para a amostra de óxido de zinco puro em comparação com o difratograma da amostra de ZnO dopado com cobre.

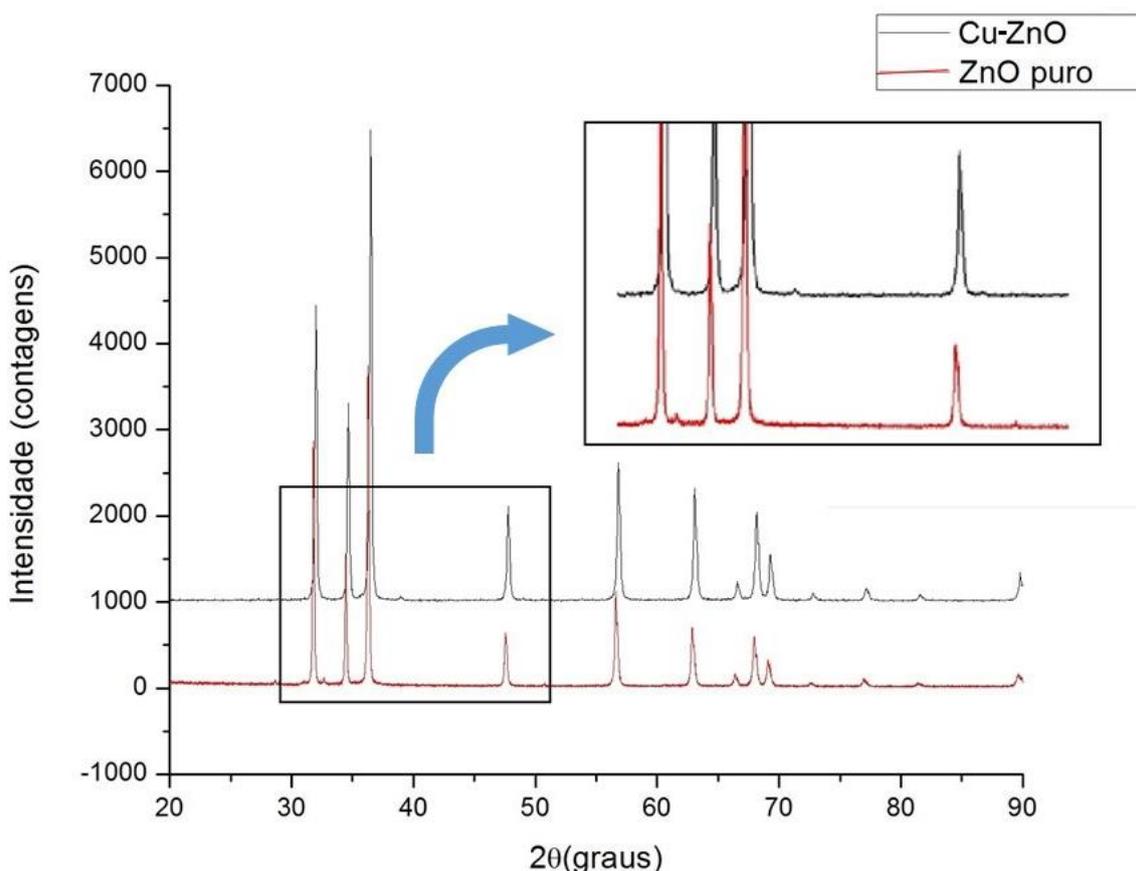


Figura 14. Difratograma de raios-X da amostra de nanopartículas de Cu-ZnO e de ZnO puro com destaque para o deslocamento dos picos principais.

Fonte: Autora.

Embora zinco e cobre tenham características espaciais semelhantes, a introdução do cobre à estrutura do óxido de zinco provoca o deslocamento dos picos, conforme demonstrado na figura 14. Segundo Bhuyan *et al.* (2015), essa pequena variação nos picos não seria observada caso os íons cobre estivessem em posições intersticiais, o que a torna uma evidência de que tais íons estão substituindo íons zinco na rede cristalina e, dessa forma, presentes como dopantes (BHUYAN *et al.*, 2015).

Com base nos difratogramas, foi possível determinar para ambas as amostras os tamanhos de médio cristalito e parâmetros de rede *a* e *c* utilizando o software Match!.

Os valores dos parâmetros foram refinados pelo método de Rietveld usando o mesmo software. Tais resultados podem ser observados na tabela 2. Também se pode calcular o volume da célula unitária (V) para o sistema hexagonal bem como o comprimento da ligação Zn-O (L), ou seja, a distância entre os núcleos desses átomos quando ligados (SINGHAL *et al.*, 2012). Para tal, utilizou-se as equações 6 e 7, respectivamente.

$$V = 0.866 \cdot a^2 \cdot c \quad (6)$$

$$L = \sqrt{\left(\frac{a^2}{3}\right) + \left(\frac{1}{2} - u\right)^2 c^2} \quad (7)$$

Tabela 2. Tamanho médio de cristalito, parâmetros de rede, volume e comprimento da ligação Zn-O das amostras de óxido de zinco puro e dopado com cobre.

Amostra	Tamanho de Cristalito (nm)	Parâmetros de Rede (Å)				Volume (Å ³)	Comprimento da ligação Zn-O (Å)
		a	c	c/a	u		
ZnO	218,48	3,249	5,205	1,6019	0,3798	47,587	1,977
Cu-ZnO	228,24	3,252	5,209	1,6015	0,3799	47,741	1,979

Fonte: Autora.

Conforme mostrado na tabela 2, o tamanho médio de cristalito encontrado para a amostra de óxido de zinco dopado com cobre (228,24 nm) é próximo daqueles encontrados por microscopia eletrônica de transmissão mostrados anteriormente. Percebe-se que os parâmetros de rede a e c para o óxido dopado apresentam valores superiores aos do óxido puro, o que pode ser explicado pela diferença dos raios atômicos das espécies envolvidas. Labhane *et al.* (2015) e Rana *et al.* (2010) ressaltam que o cobre pode se encontrar na estrutura do óxido de zinco como o íon Cu^{2+} , cujo raio atômico é 0,73 Å (LABHANE *et al.*, 2015). Comparando esse valor com o raio do Zn^{2+} (0,60 Å), entende-se que, por ocupar mais espaço, a substituição do íon zinco pelo íon cobre II promove o aumento dos parâmetros de rede quando comparados com o óxido de zinco puro, uma vez que ocorre uma expansão da rede cristalina com a presença de tais íons maiores. Isso implica também em um maior volume da célula unitária e um alargamento da ligação Zn-O. Nota-se ainda que a razão c/a e o parâmetro u se desviam levemente da idealidade (1,6330 e 0,3750,

respectivamente), estando, porém, em concordância com os valores experimentais encontrados na literatura e apresentados na tabela 1 (RANA *et al.*, 2010). Como mencionado anteriormente, a causa desse desvio está relacionada a variações das condições operacionais de síntese e manipulação do nanomaterial, além da presença de cargas e defeitos na rede cristalina (MORKOÇ e ÖZGÜR, 2009).

Por microscopia eletrônica de varredura (MEV), foi possível obter as imagens mostradas na figura 15, que correspondem às amostras de Cu-ZnO com ampliação de 2500x (a) e de PVA com ampliação de 55x (b), respectivamente.

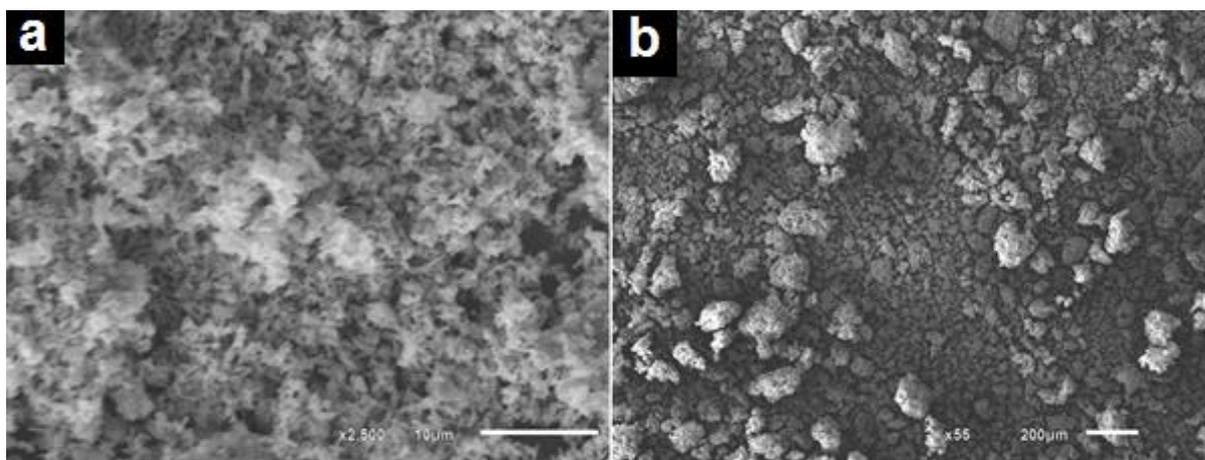


Figura 15. Imagens obtidas por MEV das amostras de (a) nanopartículas de Cu-ZnO e (b) PVA.

Fonte: Autora.

Observa-se a formação de agrupamentos em ambas as amostras, com *clusters* da ordem de grandeza inferior a 10 µm na amostra de Cu-ZnO e da ordem de grandeza de 200 µm na amostra de PVA. No caso do Cu-ZnO, imagens obtidas também por MEV da superfície de titânio após o revestimento com óxido de zinco dopado demonstram que a natureza da suspensão utilizada e a aplicação de uma hora em banho ultrassônico tiveram efeito positivo na fragmentação dos aglomerados. Tais imagens serão mostradas posteriormente. No caso do PVA, a formação de *clusters* não mostrou efeito prejudicial durante a deposição, somando-se o fato de que após a calcinação das amostras, tal polímero não permanece no depósito.

As nanopartículas de Cu-ZnO também foram analisadas por Espectroscopia de Raios-X por Energia Dispersiva (EDS). A figura 16 apresenta os resultados com os elementos encontrados na amostra.

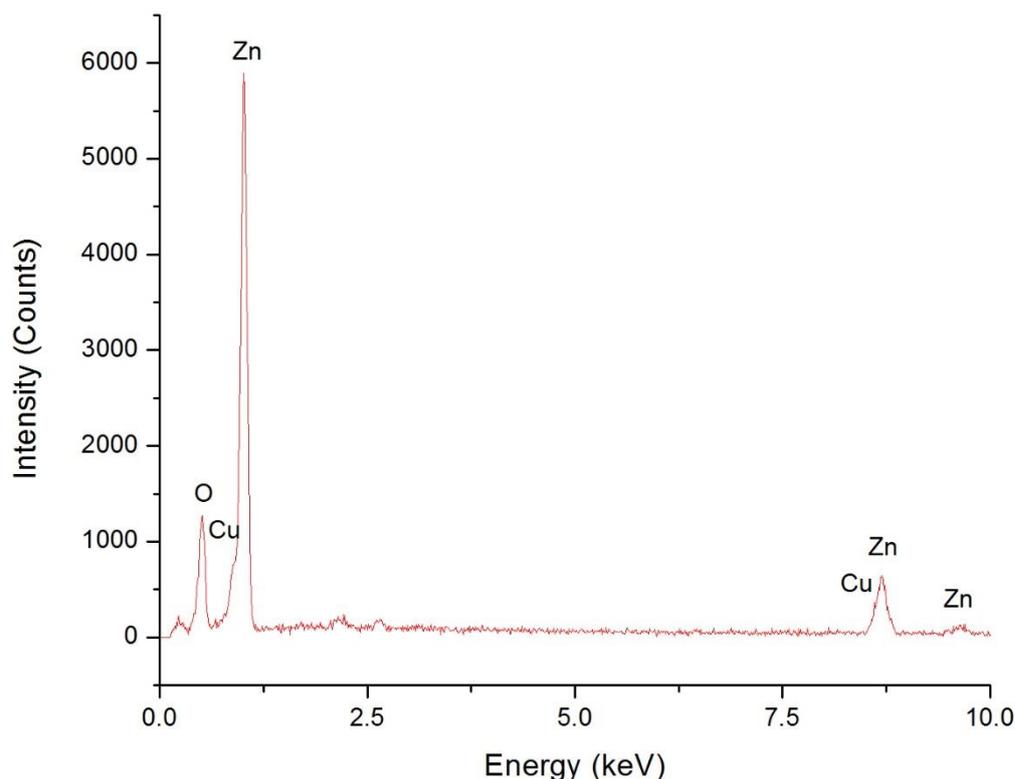


Figura 16. Espectro obtido por *EDS* da amostra de nanopartículas de Cu-ZnO.
Fonte: Autora.

Confirmou-se a presença de zinco e oxigênio como predominante na amostra, enquanto picos correspondentes ao cobre apresentam baixa intensidade a ponto de serem sobrepostos pelos picos de Zn. Além da baixa concentração do cobre na amostra em relação ao zinco, também contribui para esse resultado o fato de que as energias das camadas $K\alpha$ desses dois elementos são muito próximas (8,04 keV para o cobre e 8,63 keV para o zinco) bem como das camadas $L\alpha$ (0,93 keV e 1,01 keV, respectivamente), de modo que seus picos característicos estejam muito próximos. Uma vez que os equipamentos de *EDS* apresentam uma resolução baixa em relação às outras técnicas, a interferência de espectros pode ser observada em casos em que a concentração de um dos elementos é muito baixa (SCOTT e LOVE, 1994). Os picos de baixa intensidade localizados entre 0,0 e 0,5 keV e entre 2,0 e 3,0 keV não foram identificados pelo equipamento.

4.2. Deposição Eletroforética (EPD) das Nanopartículas de Cu-ZnO em Titânio

A suspensão utilizada foi composta por nanopartículas de óxido de zinco dopado com cobre e PVA (álcool polivinílico) na proporção 20:1 em solução de álcool butílico terciário absoluto e dimetilformamida (DMF) (1:500). As tensões elétricas utilizadas foram de 100, 120, 140, 160, 180 V, com tempo de deposição fixo de 1 minuto. Observou-se formação de depósito nas superfícies de titânio para todas as tensões elétricas, com variações na qualidade dos depósitos. Por inspeção visual utilizando microscópio óptico digital (ampliação 50x), foi possível determinar qual tensão resultou em um depósito com maior uniformidade e espessura, sendo essa a de 160 V. Essa foi também a amostra com melhor aderência ao titânio quando exposta a atrito mecânico causado pela sua manipulação. A figura 17 mostra imagens obtidas por microscopia ótica da amostra depositada a 120 V (a) e a 160 V (b) como exemplos do que foi observado. Nela, as regiões mais claras indicam onde o depósito foi mais espesso.

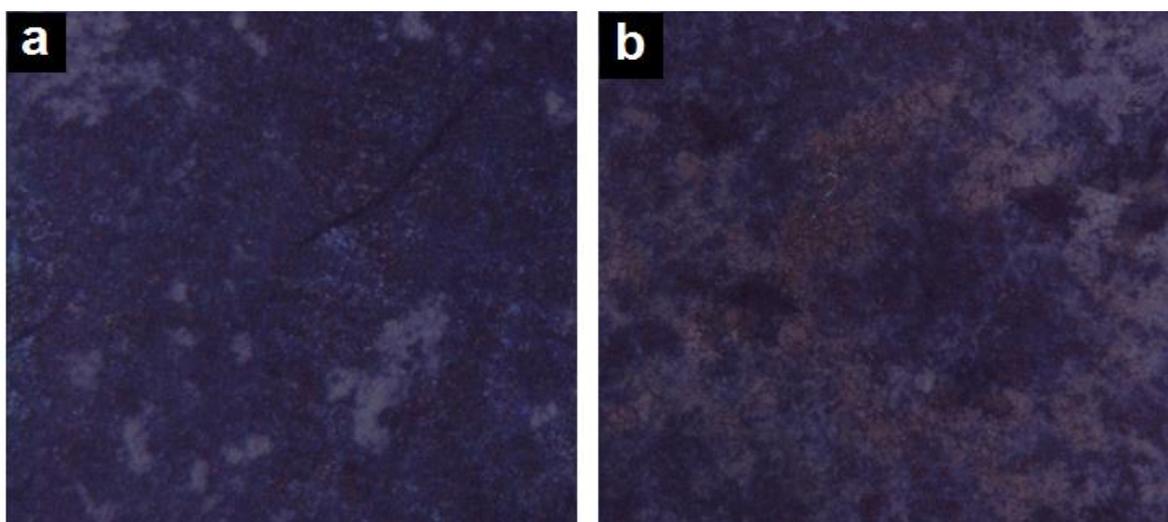


Figura 17. Imagens obtidas por microscopia ótica das amostras depositadas a 120 V e a 160 V.

Fonte: Autora.

Com o aumento da tensão, percebe-se um aumento perceptível da espessura do depósito, ou seja, uma maior quantidade de material depositado. Como descrito em literatura, em suspensões não aquosas, tensões elétricas mais altas são aplicadas para compensar a baixa disponibilidade de cargas que atuam no transporte das nanopartículas até o eletrodo (BESRA e LIU, 2007). Entretanto, tensões muito altas

podem causar turbulência na suspensão, que estando em contato com o eletrodo, contribui com a não uniformidade do depósito. Isso pode ser observado durante a deposição eletroforética a 180 V, de modo que a amostra resultante apresentou menor uniformidade quando comparada à obtida a 160 V.

O pH e a condutividade da suspensão foram medidos imediatamente antes das deposições e imediatamente depois, a fim de avaliar sua natureza e as possíveis mudanças que o processo de *EPD* causaria em suas propriedades. Entende-se que o ideal seria que tais medições fossem de caráter individual para cada tensão. Porém, tal processo seria muito dispendioso e pouco prático. Portanto, preferiu-se realizar uma avaliação geral do efeito do processo de *EPD* na suspensão utilizada após todas as deposições. A tabela 3 apresenta os valores de condutividade e pH da suspensão antes e após a deposição eletroforética.

Tabela 3. Condutividade e pH da suspensão antes e após deposição eletroforética.

	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	pH
Antes da EPD	2,902	5,052
Após a EPD	1,389	4,981

Fonte: Autora.

Observando os valores de tais propriedades referentes aos solventes utilizados, sendo eles aproximadamente 10^{-8} $\mu\text{S/cm}$ e pH entre 6 e 8 no caso do álcool butílico terciário, e 2,5 $\mu\text{S/cm}$ e pH entre 6,5 e 8,5 no caso do DMF, entende-se que há a presença de cargas formadas anteriormente à deposição. É preciso lembrar que o volume de DMF adicionado foi 500 vezes menor que o de terc-butanol e, portanto, a condutividade não poderia ser tão alta. Porém, isso é razoável devido à adição de óxido de zinco dopado com cobre à suspensão, o que contribui para o aumento da condutividade da mesma. Para compreender essa questão, faz-se necessário entender os mecanismos de formação de cargas na superfície de óxidos em meios aquosos e não-aquosos. Em suspensões aquosas, os óxidos obtêm carga superficial por reações de troca de prótons na interface sólido-líquido. Essa carga superficial é o resultado de diversos mecanismos, tais como a orientação de moléculas dipolares na superfície da partícula, transferência de elétrons entre o sólido e a fase líquida e adsorção seletiva de íons pela partícula (BESRA e LIU, 2007).

Em sistemas não-aquosos, é necessário analisar o comportamento do óxido no solvente utilizado, observando características como sua solubilidade e potencial redox com o objetivo de determinar a tendência do solvente de doar ou aceitar elétrons e,

assim, ionizar-se. Essa tendência é dada pelo número doador do solvente (DN), uma medida da força do solvente quando esse se comporta como um ácido ou base de Lewis. Tal número é baseado na entalpia de reação do solvente quando comparada a uma reação arbitrária de referência (BESRA e LIU, 2007). Labib e Williams (1986) demonstraram que em suspensões com ausência de água, o sinal da carga na superfície de óxidos depende de número doador do solvente, o que indica que formação de cargas na superfície da partícula pode ocorrer devido à troca de elétrons com o solvente (LABIB e WILLIAMS, 1986). Portanto, entende-se que o aumento da condutividade do sistema devido à adição de Cu-ZnO se dá devido à sua interação com as moléculas dos solventes constituinte da suspensão, o que promove a formação de cargas na superfície do óxido.

Panigrahi (2010) ainda sugere que a natureza hidrofílica do t-butanol dificulta a manutenção de seu estado anidro, de modo que a probabilidade de haver água no sistema é alta (PANIGRAHI, 2010). Isso implicaria a existência de uma fonte de acidez, uma vez que o DMF estaria susceptível a sofrer hidrólise, tendo como resultado a formação de ácido fórmico e dimetilamina (ABDELTAWAB, SHOEIB e MOHAMED, 2011). Por esse motivo, percebe-se que o pH da suspensão é inferior ao dos solventes isoladamente.

A mudança de pH observada após a deposição não se mostra significativa, sendo essa de apenas 1,4%. A redução do valor de condutividade em 52,14% após a deposição indica a diminuição das cargas presentes em suspensão, o que condiz com o esperado uma vez que grande parte do óxido de zinco dopado disponível se encontra no depósito após a *EPD*.

4.3. Caracterização da Superfície de Titânio Revestida

A amostra de titânio revestida por *EPD* a 160 V com nanopartículas de Cu-ZnO foi analisada por MEV e por *EDS*. Além disso, para fins de comparação, imagens de MEV foram também obtidas para amostra de titânio não revestida. A figura 18 mostra os resultados da análise por MEV com ampliação de 3500 vezes das amostras de titânio puro (a) e revestido com ZnO dopado com cobre (b), respectivamente.

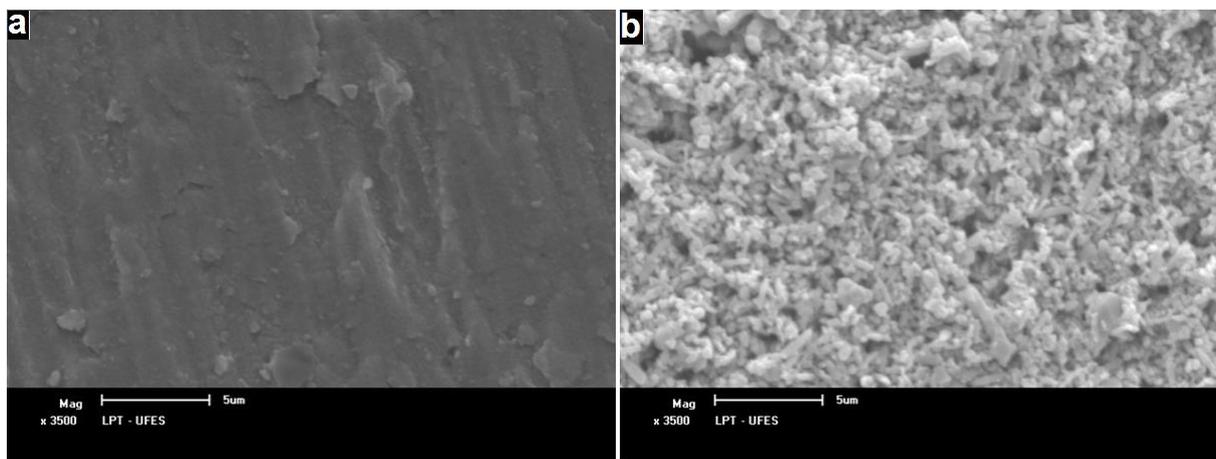


Figura 18. Imagens obtidas por MEV da superfície de titânio sem revestimento (a) e revestida com nanopartículas de Cu-ZnO depositadas por *EPD* por 1 minuto a 160 V (b).
Fonte: Autora.

Percebe-se o aumento da rugosidade da superfície com a deposição de óxido de zinco dopado com cobre e, por conseguinte, o aumento da área superficial. Esse acréscimo na rugosidade das amostras de titânio por adição de nanopartículas se mostra eficiente para contribuir com a adesão de tecidos ósseos à sua superfície, o que indica que o método de deposição utilizado obteve os resultados esperados na modificação do relevo das superfícies de titânio (MEMARZADEH *et al.*, 2014). Além disso, o aumento da área superficial e a formação de uma camada espessa de material, conforme observado na figura 18, contribui para as reações de oxirredução envolvidas nos mecanismos de ataque do Cu-ZnO a organismos infecciosos, de modo a permitir que as nanopartículas exerçam sua ação bactericida (MOORE, ASADI e LEWIS, 2017).

A figura 19 apresenta o gráfico obtido por *EDS* da amostra de titânio revestida. A análise foi conduzida pelo mesmo equipamento utilizado para a análise das nanopartículas de Cu-ZnO.

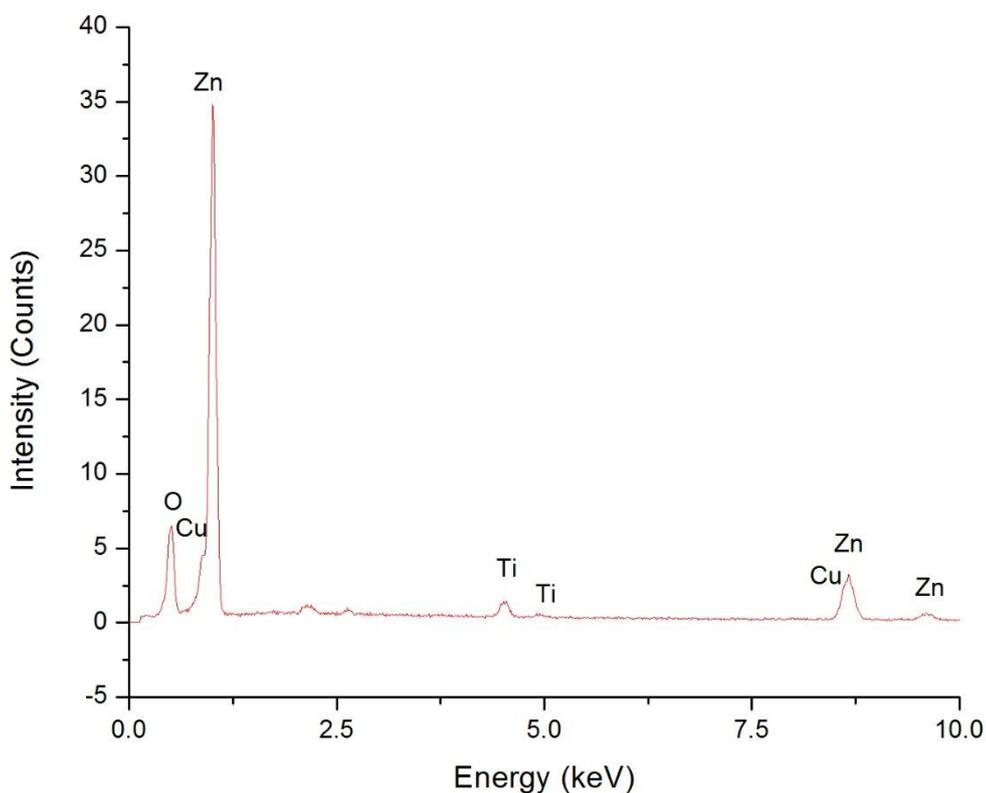


Figura 19. Espectro obtido por *EDS* da amostra titânio revestido com nanopartículas de Cu-ZnO sob *EPD* por 1 minuto a 160 V.

Fonte: Autora.

Os mesmos picos localizados entre 0,0 e 0,5 keV e entre 2,0 e 3,0 keV não foram identificados, assim como na análise das nanopartículas, o que sugere uma limitação do equipamento. A presença de zinco, cobre e oxigênio confirmada pela técnica de *EDS* indica que a amostra de titânio metálico foi revestida com as nanopartículas de Cu-ZnO com êxito. Novamente, picos correspondentes ao cobre apresentam baixa intensidade, sendo esses quase que completamente sobrepostos pelos picos de Zn. Conforme discutido anteriormente, a baixa concentração de cobre e as limitações da técnica configuram as prováveis causas dessa ocorrência.

5 CONCLUSÃO

O presente trabalho relatou a síntese e caracterização de nanopartículas de óxido de zinco dopado com cobre, sua utilização no revestimento de superfícies de titânio por deposição eletroforética e a caracterização das superfícies obtidas. Diante dos resultados obtidos, a composição das nanopartículas confirmou-se como Cu-ZnO com ressalvas quanto à formação de outra fase na amostra (CuO). A suspensão utilizada mostrou-se eficiente na formação de um depósito rugoso e uniforme, com melhor deposição sob diferença de potencial de 160 V. Assim, a utilização do PVA como ligante polimérico e dispersante – cuja aplicação em conjunto com Cu-ZnO em condições de *EPD* ainda não havia sido testada – mostrou-se satisfatória. Foi possível constatar a diminuição da condutividade elétrica da suspensão após o processo de deposição eletroforética, o que era esperado devido à diminuição de cargas no sistema após a *EPD*. As imagens obtidas por MEV confirmaram o aumento da rugosidade superficial após a deposição eletroforética e os resultados da técnica de *EDS* confirmaram a presença majoritária de zinco e oxigênio no depósito com presença de cobre. De modo geral, os resultados obtidos demonstram o potencial de utilização de nanopartículas de óxido de zinco dopado com cobre para revestimento de superfícies de titânio. Em trabalhos futuros, pretende-se caracterizar as superfícies revestidas quanto a suas propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias, com testes biológicos envolvendo as principais bactérias encontradas em infecções na região de implantes ortopédicos e avaliação do crescimento de células ósseas (osteoblastos) nas superfícies revestidas.

REFERÊNCIAS

- Abdeltawab, A. A., Shoeib, M. A., & Mohamed, S. G. (2011). Electrophoretic deposition of hydroxyapatite coatings on titanium from dimethylformamide suspensions. *Surface and Coatings Technology*, 206(1), :43-50. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2011.06.034.
- Abdullah, N. A., Khusaimi, Z., & Rusop, M. (2013). A Review on Zinc Oxide Nanostructures: Doping and Gas Sensing. *Advanced Materials Research*, 667, 329-332. doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.667.329
- Åkerman, M. E., Chan, W. C., Laakkonen, P., Bhatia, S. N., & Ruoslahti, E. (2002). Nanocrystal targeting in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(20), 12617–12621. doi:10.1073/pnas.152463399
- Alvarez, L., & Siqueiros, J. M. (2010). Scanning Probe Microscopy. Em L. Alvarez, & J. M. Siqueiros, *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education* (1 ed., p. 1302). Formatex. Acesso em Março de 2017
- Anderson, J. (Junho de 1988). Inflammatory Response to Implants. *ASAIO Journal*, 34(2), 101-107. doi:101-07
- Avouris, P., Chen, Z., & Perebeinos, V. (2007). Carbon-based electronics. *Nature Nanotechnology*, 2, 605-615. Acesso em Março de 2017
- Baruah, S., & Dutta, J. (2009). Hydrothermal growth of ZnO nanostructures. *Sci Technol Adv Mater*, 1, 1-18. doi:10:013001
- Basu, R. N., Randall, C. A., & Mayo, M. J. (2001). Fabrication of dense zirconia electrolyte films for tubular solid oxide fuel cells by electrophoretic deposition. *Journal of the American Ceramics Society*, 33-40. Acesso em Novembro de 2015
- Bertucci, F. N., & Tedrus, G. M. (2010). Infecções em próteses ortopédicas: revisão da literatura . *Anais do XV Encontro de Iniciação Científica da PUC* , (pp. 1-4). Campinas. Acesso em Maio de 2016
- Besra, L., & Liu, M. (2007). A review on fundamentals and applications of electrophoretic deposition (EPD). *Progress in Materials Science*, 52, 1-61. doi:doi:10.1016/j.pmatsci.2006.07.001
- Bhardwaj, G., Yazici, H., & Webster, T. J. (Abril de 2015). Reducing Bacteria and Macrophage Density on Nanophase Hydroxyapatite Coated onto Titanium Surfaces without Releasing Pharmaceutical Agents. *Nanoscale* , 7(18), 8416-8427. doi:10.1039/C5NR00471C
- Bhuyan, T., Khanuja, M., Sharma, R., Patel, S., Reddy, M. R., Anand, S., & Varma, A. (2015). A comparative study of pure and copper (Cu)-doped ZnO nanorods for

antibacterial and photocatalytic applications with their mechanism of action. *Journal of Nanoparticle Research*, 17, 1-11. doi:10.1007/s11051-015-3093-3

Bozic, K. J., Kurtz, S. M., & Lau, E. (2010). The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the United States. *Clin Orthop Relat Res*, 468(1), 45-51. Acesso em Maio de 2016

CASTRO, Y., FERRARI, B., DURAN, A., & MORENO, R. (2004). Effect of rheology and processing parameters on the EPD coatings of basic sol-gel particulate sol. *JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE*, 39, 845-849. Acesso em Novembro de 2016

Chaijaruwanich, A. (2011). Coating techniques for biomaterials: A review. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, 10(1), 39-50. Acesso em Março de 2017

Choi, O., & Hu, Z. (2008). Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 4583-4588. Acesso em Maio de 2016

Cioffi, N., & Rai, M. (2012). *Nano-Antimicrobials: Progress and Prospects* (1 ed., Vol. 1). (N. Cioffi, & M. Rai, Eds.) London: Springer. doi:10.1007/978-3-642-24428-5

Dean, J. A. (1999). *Lange's Handbook of Chemistry* (15 ed., Vol. 1). (J. A. Dean, Ed.) New York: McGRAW-HILL, INC.

Drexler, K. E. (1986). Engines of creation: the coming era of nanotechnology. *Anchor Press*.

Elsaesser, A., & Howard, C. V. (Setembro de 2011). Toxicology of nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 129-137. doi:10.1016/j.addr.2011.09.001

Ercole, F. F., & Chianca, T. C. (Abril de 2002). Infecção de sítio cirúrgico em pacientes submetidos a artroplastias de quadril. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 10(2), 157-165. doi:doi.org/10.1590/S0104-11692002000200006

Ertl, G., Knozinger, H., & Schuth, F. e. (1997). *Handbook of Heterogeneous Catalysis*. Weinheim: Wiley-VCH.

Fan, Z., & Lu, J. G. (2005). Electrical properties of ZnO nanowire field effect transistors characterized with scanning probes. *Applied Physics Letters*, 86, 032111. doi:10.1063/1.1851621

Fang, M., Chen, J.-H., Xu, X.-L., Yang, P.-H., & Hildebrand, H. F. (2006). Antibacterial activities of inorganic agents on six bacteria associated with oral infections by two susceptibility tests. *International Journal of Antimicrobiol Agents*, 27, 513-517. Acesso em Maio de 2016

- Ferrari, B., & Moreno, R. (1996). The conductivity of aqueous Al₂O₃ slips for electrophoretic deposition. *Material Letters*, 28, 353-355. Acesso em Novembro de 2016
- Ferrari, M. (Março de 2005). CANCER NANOTECHNOLOGY: OPPORTUNITIES AND CHALLENGES. *Nature Reviews*, 5, pp. 161-171. doi:10.1038/nrc1566
- Freitas, R. A. (1999). *Nanomedicine. Vol. 1: Basic capabilities* (1 ed., Vol. 1). New York: Landes Bioscience.
- Freitas, R. A. (Março de 2005). What is nanomedicine? *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 1(1), 2-9. doi:doi:10.1016/j.nano.2004.11.003
- Ghumare, N. (Setembro de 2015). Nanomedicine Market to Reach US\$177.60 Billion by 2019 Propelled by Technical Advancement: Transparency Market Research. *PRNewswire*. Acesso em Maio de 2016, disponível em <http://www.prnewswire.com/news-releases/nanomedicine-market-to-reach-us17760-billion-by-2019-propelled-by-technical-advancement-transparency-market-research-527695221.html>
- Goldstein, J., Newbury, D., Joy, D., Lyman, C., Echlin, P., Lifshin, E., . . . Michael, J. (2003). *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis* (3 ed.). New York: Plenum Press. Acesso em Novembro de 2016
- Hafner, J., Chen, E. I.-C., Lal, R., & Jin, S. (2010). General and special probes in scanning microscopies. *Springer Handbook of Nanotechnology, Part C*, 1(1), 619–633. Acesso em Março de 2017
- Hameed, A. S., Karthikeyan, C., Ahamed, A. P., Thajuddin, N., Alharbi, N. S., Aharbi, S. A., & Ravi, G. (2016). In vitro antibacterial activity of ZnO and Nd doped ZnO nanoparticles against ESBL producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. *Nature: Scientific Reports*, 6, 24312. doi:10.1038/srep24312
- Heavens, N. (1990). Electrophoretic deposition as a processing route for ceramics. Em N. Heavens, & G. P. Binner (Ed.), *Advanced ceramic processing and technology* (Vol. 1, pp. 255-283). Park Ridge, NJ, USA: Noyes Publications. Acesso em Novembro de 2015
- Hellmann, M., Mehta, S. D., Bishai, D. M., Mears, S. C., & Zenilman, J. M. (Agosto de 2010). The Estimated Magnitude and Direct Hospital Costs of Prosthetic Joint Infections in the United States, 1997 to 2004. *Journal of Arthroplasty*, 25(5), 766-771. doi:10.1016/j.arth.2009.05.025
- Horikoshi, S., & Serpone, N. (2013). Introduction to Nanoparticles. Em S. Horikoshi, & N. Serpone, *Microwaves in Nanoparticle Synthesis* (Primeira ed., Vol. 1, pp. 1-24). Ithaca: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. doi:10.1002/anie.201404498

- Hu, H., Xin, H., Hu, H., Wang, X., Miao, D., & Liu, Y. (2015). Synthesis and stabilization of metal nanocatalysts for reduction reactions—A review. *Journal of Materials Chemistry A*, 1-60. doi: 10.1039/C5TA00753D
- Huang, Y., Zhang, X., Mao, H., Li, T., Zhao, R., Yan, Y., & Pang, X. (2015). Osteoblastic cell responses and antibacterial efficacy of Cu/Zn co-substituted hydroxyapatite coatings on pure titanium using electrodeposition method. *RSC Advances*, 1, 1-37. doi:10.1039/C4RA12118J
- Johnson, T. W., Lapin, Z. J., Beams, R., Lindquist, N. C., Rodrigo, S. G., Novotny, L., & Oh, S. H. (2012). Highly Reproducible Near-Field Optical Imaging with Sub-20-nm Resolution Based on Template-Stripped Gold Pyramids. *ACS Nano*, 6(1), 9168. Acesso em Março de 2017
- Jones, N., Ray, B., Ranjit, K. T., & Manna, A. C. (Fevereiro de 2008). Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. (S. Silve, Ed.) *FEMS Microbiological Letters*, 279, 71-76. doi:10.1111/j.1574-6968.2007.01012.x
- KANG, H.-Y. (2010). *A Review of the Emerging Nanotechnology Industry: Materials, Fabrications, and Applications*. San Diego: Department of Toxic Substances Control, Pollution Prevention and Green Technology. Acesso em Março de 2016
- Kaur, G., Singh, T., & Kumar, A. (2012). Nanotechnology: A Review. *International Journal of Education and Applied Research*, 2(1), 50-53. doi: 2348-0033
- Khang, D., Lu, J., Yao, C., Haberstroh, K. M., & Webster, T. J. (2008). The role of nanometer and sub-micron surface features on vascular and bone cell adhesion on titanium. *Biomaterials*, 29(8), 970–983. Acesso em Março de 2017
- Knetsch, M. L., & Koole, L. H. (Janeiro de 2011). New Strategies in the Development of Antimicrobial Coatings: The Example of Increasing Usage of Silver and Silver Nanoparticles. *Polymers*, 3(1), 340-366. doi:10.3390/polym3010340
- Kołodziejczak-Radzimska, A., Jesionowski, T., & Krysztalkiewicz, A. (2010). OBTAINING ZINC OXIDE FROM AQUEOUS SOLUTIONS OF KOH AND Zn(CH₃COO)₂. *Physicochem. Probl. Miner. Process.*, 44, 93-102.
- Krishnasami, Z., Carlton, D., Bimbo, L., & Allon, M. (Janeiro de 2002). Management of Hemodialysis Catheter Related Bacteremia (CRB) with an Adjunctive Antibiotic Lock Solution. *Kidney International*, 61, 1136-1142. Acesso em Maio de 2016
- Labhane, P., Huse, V., Patle, L., Chaudhari, A., & Sonawane, G. (2015). Synthesis of Cu Doped ZnO Nanoparticles: Crystallographic, Optical, FTIR, Morphological and Photocatalytic Study. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*, 3, 39-51. doi:10.4236/msce.2015.37005

- Labhane, P., Huse, V., Patle, L., Chaudhari, A., & Sonawane, G. (2015). Synthesis of Cu Doped ZnO Nanoparticles: Crystallographic, Optical, FTIR, Morphological and Photocatalytic Study. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*, 3, 39-51. doi:<http://dx.doi.org/10.4236/msce.2015.37005>
- Labib, M. E., & Williams, R. (1986). An experimental comparison between aqueous pH scale and the electron donicity scale. *Colloid Polymer Science*, 533-551. Acesso em Maio de 2017
- Lapresta-Fernández, A., Salinas-Castillo, A., Llana, S. A., Costa-Fernández, J., Domínguez-Meister, S., Cecchini, R., . . . Anderson, a. I. (2014). A General Perspective of the Characterization and Quantification of Nanoparticles. Imaging, Spectroscopic and Separation Techniques. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 36(6), 423-458. Acesso em Março de 2017
- Li, Q. L., Mahendra, S., Delina, Y. L., Lena, B., Michael, V. L., Li, D., & Pedro, J. J. (2008). Antimicrobial nanomaterials for water isinfection and microbial control: potential applications and implications. *Water Research*, 42, 4591–4602. Acesso em Maio de 2016
- Lia, Y., Schluesenerb, H. J., & Xua, S. (2010). Gold nanoparticle-based biosensors. *Gold Bulletin*, 43, 29-41. Acesso em Março de 2017
- Mahltig, B., & Textor, T. (Agosto de 2010). Silver containing sol–gel coatings on polyamide fabrics as antimicrobial finish-description of a technical application process for wash permanent antimicrobial effect. *Fibers and Polymers*, 11(8), 1152–1158. doi:10.1007/s12221-010-1152-z
- MATSUI, I. (2005). Nanoparticles for electronic devices aplications: a brief review. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 38(8), 535-546. doi:10.1252/jcej.38.535
- Mauritti, M. M. (Janeiro de 2014). Universidade do Minho cria revestimento que reduz a rejeição de próteses ortopédicas pelo organismo. *Jornal Médico*. Acesso em Maio de 2016, disponível em <http://www.jornalmedico.pt/2014/01/29/universidade-do-minho-cria-revestimento-que-reduz-a-rejeicao-de-protese-ortopedicas-pelo-organismo/>
- Medina, C., Santos-Martinez, M., Radomski, A., Corrigan, O., Radomski, & MW. (Janeiro de 2007). Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. *British Journal of Pharmacology*, 150, 552-558. doi:10.1038/sj.bjp.0707130
- Memarzadeh, K., Sharili, A. S., Huang, J., Simon C. F. Rawlinson, & Allaker, R. P. (Março de 2014). Nanoparticulate zinc oxide as a coating material for orthopedic and dental implants. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 103(3), 981–989. doi:10.1002/jbm.a.35241

- Mestl, G. M. (2001). Carbon nanofilaments in heterogeneous. *Angewandte Chemie International Edition*, 40, 2066–2068. Acesso em Março de 2017
- Moghimi, S. M., Hunter, A. C., & Murray, J. C. (Março de 2005). Nanomedicine: current status and future prospects. *The FASEB Journal*, 19, 311-330. doi:0892-6638/05/0019-0311
- Moore, B., Asadi, E., & Lewis, G. (2017). Deposition Methods for Microstructured and Nanostructured Coatings on Metallic Bone Implants: A Review. (H. Kou, Ed.) *Advances in Materials Science and Engineering*, 17, 1-9. doi:https://doi.org/10.1155/2017/5812907
- Moreno, R., & Ferrari, B. (2000). Effect of the slurry properties on the homogeneity of alumina deposits obtained by aqueous electrophoretic deposition. *Materials Research Bulletin*, 35, 887-897. Acesso em Novembro de 2016
- Morkoç, H., & Özgür, U. (2009). General Properties of ZnO. Em H. Morkoç, & U. Özgür, *Zinc Oxide: Fundamentals, Materials and Device Technology* (1 ed., Vol. 1, pp. 1-70). Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. Acesso em Março de 2017
- Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (Dezembro de 2007). Silver Nanoparticles: Synthesis and Therapeutic Applications. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 3(4), 301-316. doi:http://dx.doi.org/10.1166/jbn.2007.041
- Nair, M., Nirmala, M., Rekha, K., & Anukaliani, A. (Maio de 2011). Structural, optical, photo catalytic and antibacterial activity of ZnO and Co doped ZnO nanoparticles. *Materials Letters*, 65(12), 1797-1800. doi:10.1016/j.matlet.2011.03.079
- Negishi, H., Yanagishita, H., & Yokokawa, H. (2002). Electrophoretic deposition of solid oxide fuel cell material powders. Em H. Negishi, H. Yanagishita, & H. Yokokawa, *Proceedings of the electrochemical society on electrophoretic deposition: fundamentals and applications* (Vol. 21, pp. 214-221). Pennington. Acesso em Novembro de 2016
- Ohira, T., Yamamoto, O., Iida, Y., & Nakagawa, Z. (2008). Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19, 1407–1412. doi:10.1007/s10856-007-3246-8
- OLIVEIRA, A. L. (2009). Nanoestruturas de Óxido de Zinco obtidas pelo Método Hidrotermal de Microondas Doméstico. *Universidade Federal da Paraíba*, 1, 18-22. Acesso em Março de 2017
- Padmavathy, N., & Vijayaraghavan, R. (2008). Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles – an antibacterial study. *Sci Technol. Adv Mater*, 9, 1-7. doi:035004
- PADTURE, N. P., SCHLICHTING, K. W., BHATIA, T., OZTURK, A., CETEGEN, B., JORDAN, E. H., . . . OSENDI, M. I. (2001). Towards durable thermal barrier

- coatings with novel microstructures deposited by solution-precursor plasma spray. *Acta Materialia*, 49, 2251-2257. doi:1359-6454/01/\$20.00
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., & Manavalan, R. (2011). Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(1), 228-234. Acesso em Março de 2017
- Panigrahi, S. (2010). Current Situation of Lignocellulosic Ethanol Production in Western Canada. *SAE Technical Paper 2010-01-2043*. doi:10.4271/2010-01-2043
- Paul, D. R., & Robeson, L. M. (Abril de 2008). Polymer nanotechnology: Nanocomposites. *Polymer*, 49, 3187-3204. doi:10.1016/j.polymer.2008.04.017
- Perkins, D., & Sorensen, P. (2011). Mineral Synthesis and X-ray Diffraction Experiments. Em J. Brady, D. Mogk, & P. D., *Teaching Mineralogy* (1 ed., pp. 81-90). Washington: Mineralogical Society of America. Acesso em Novembro de 2016
- Rana, S. B., Singh, P., Sharma, A. K., Carbonari, A. W., & Dogra, R. (2010). Synthesis and characterization of pure and doped ZnO nanoparticles. *JOURNAL OF OPTOELECTRONICS AND ADVANCED MATERIALS*, 12(2), 257 - 261. Acesso em Maio de 2017
- Reich, S., Thomsen, C., & Maultzsch, J. (2004). *Carbon nanotubes: basic concepts and physical properties* (2 ed., Vol. 1). Berlin: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. doi:10.1002/9783527618040
- Rosi, N. L.; Mirkin, C. A. Nanostructures in biodiagnostics. *Chemical Reviews*, v. 105, p. 1547–1562, 2005. Acesso em: Maio 2016.
- Samavati, A., Ismail, A. F., Nur, H., Othaman, Z., & Mustafa, M. K. (2016). Spectral features and antibacterial properties of Cu-doped ZnO nanoparticles prepared by sol-gel method. *Chinese Physical Society B*, 25(7), 077803. doi:10.1088/1674-1056/25/7/077803
- Sastry, M., Ahmad, A., Khan, M. I., & Kumar, R. (2003). Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycetes. *Current Science*, 85, 162-170. Acesso em Maio de 2016
- Scott, V. D., & Love, G. (1994). *Quantitative Electron Probe Microanalysis* (2 ed., Vol. 1). Chichester: Ellis Horwood.
- Sendi, R. K., & Mahmud, S. (2012). Effect of Temperature Treatment on the Properties of ZnO Nanoparticle-Bi₂O₃-Mn₂O₃ Varistor Ceramics. *2012 10th IEEE International Conference on Semiconductor Electronics* (pp. 163-167). Selangor: IEEE. doi:10.1109/SMElec.2012.6417115

- Sharma, N., Ojha, H., Bharadwaj, A., Pathak, D. P., & Sharma, R. K. (2015). Preparation and catalytic applications of nanomaterials: A review. *RSC Advances*, 1-77. doi:10.1039/C5RA06778B
- Shawa, L. L., Gobermana, D., Rena, R., Gel, M., Jiang, S., Wang, Y., . . . Strutt, P. R. (Agosto de 2000). The dependency of microstructure and properties of nanostructured coatings on plasma spray conditions. *Surface and Coatings Technology*, 130(1), 1-8. doi:10.1016/S0257-8972(00)00673-3
- Simchi, A., Ahmadi, R., Seyed-Reihani, S. M., & Mahdavi, A. (2007). Kinetics and mechanisms of nanoparticle formation and growth in vapor phase condensation process. *Materials and Design*, 28, 850–856. Acesso em Maio de 2016
- Singhal, S., Kaur, J., Namgyal, T., & Sharma, R. (Fevereiro de 2012). Cu-doped ZnO nanoparticles: Synthesis, structural and electrical properties. *Physica B*, 407, 1223-1226. doi:10.1016/j.physb.2012.01.103
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H., Ann, L. C., & Bakhori, S. K. (Abril de 2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219-242. doi:10.1007/s40820-015-0040-x
- Song, Y. W., Shan, D. Y., & Han, E. H. (Fevereiro de 2008). Electrodeposition of hydroxyapatite coating on AZ91D magnesium alloy for biomaterial application. *Material Letters*, 62, 3276-3279. doi:10.1016/j.matlet.2008.02.048
- Stanton, T. (2010). Study points to savings with infection-screening program before TJR. *American Academy of Orthopaedic Surgeons Now*. Acesso em Maio de 2016, disponível em <http://www.aaos.org/AAOSNow/2010/Mar/clinical/clinical10/?ssopc=1>
- Suci, P. A., Vraný, J. D., & Mittelman, M. W. (1998). Investigation of interactions between antimicrobial agents and bacterial biofilms using attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy. *Biomaterials*, 16(4-5), 327–339. Acesso em Maio de 2016
- Suresh, A., Pelletier, D., & Doktycz, M. (2013). Relating nanomaterial properties and microbial toxicity. *Nanoscale*, 5(2), 463-474. doi:10.1039/C2NR32447D
- Taniguchi, N., Fujibayashi, S., & Takemoto, M. (2016). “Effect of pore size on bone ingrowth into porous titanium implants fabricated by additive manufacturing: an in vivo experiment. *Materials Science and Engineering C*, 59, 690–701. Acesso em Março de 2017
- Tran, P. A., & Webster, T. J. (Abril de 2013). Antimicrobial Selenium Nanoparticle Coatings on Polymeric Medical Devices. *Nanotechnology*, 24(15). doi:10.1088/0957-4484/24/15/155101

- Van der Biest, O. O., & Vandeperre, L. J. (Agosto de 1999). ELECTROPHORETIC DEPOSITION OF MATERIALS. *Annual Review of Materials Science*, 29, 327-352. doi:10.1146/annurev.matsci.29.1.327
- Vandebriel, R. J., & Jong, W. H. (2012). A review of mammalian toxicity of ZnO nanoparticles. *Nanotechnology, Science and Applications*, 5, 61–71. doi:http://dx.doi.org/10.2147/NSA.S23932
- Vetrone, F., Variola, F., Oliveira, P. T., Zalzal, S. F., Yi, J., Sam, J., . . . Nanci, A. (Janeiro de 2009). Nanoscale Oxidative Patterning of Metallic. *Nano Letters*, 9(2), 659-665. doi:10.1021/nl803051f
- Wang, Z. L. (2004). Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 16, R829. Acesso em Maio de 2016
- WEI, M., RUYS, A. J., MILTHORPE, B. K., SORRELL, C. C., & EVANS, J. H. (Agosto de 2000). Electrophoretic Deposition of Hydroxyapatite Coatings on Metal Substrates: A Nanoparticulate Dual-Coating Approach. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 21, 39-48. Acesso em Maio de 2016
- Xia, T., Kovochich, M., Liong, M., Madler, L., Gilbert, B., Shi, H., . . . Nel, A. E. (2008). Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS Nano*, 2(10), 2121-2134. Acesso em Maio de 2016
- Xie, Y., He, Y., Irwin, P. L., Jin, T., & Shi, X. (2011). Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Zinc Oxide Nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 77(7), 2325–2331. doi:10.1128/AEM.02149-10
- YASEEN, M., COWSILL, B. J., & LU, J. R. (2012). Characterisation of biomedical coatings. Em M. Driver, & M. Driver (Ed.), *Coatings for Biomedical Applications* (1 ed., Vol. 1, pp. 176-220). Manchester: Woodhead Publishing. Acesso em Março de 2017
- Yogamalar, N. R., & Bose, A. C. (2013). Synthesis, Dopant Study and Device Fabrication of Zinc Oxide Nanostructures: Mini Review. *Progress in Nanotechnology and Nanomaterials*, 2(1), 1-20. Acesso em Março de 2017
- Zhang, Z., Wang, X., Xu, J., Muller, S., Ronning, C., & Li, Q. (2009). Evidence of intrinsic ferromagnetism in individual dilute magnetic semiconducting nanostructures. *Nature Nanotechnology*, 4, 523-527. doi:10.1038/NNANO.2009.181
- Zhao, L., Mei, S., Chu, P. K., Zhang, Y., & Wu, Z. (2010). The influence of hierarchical hybrid micro/nano-textured titanium surface with titania nanotubes on osteoblast functions. *Biomaterials*, 31, 5072-5082. Acesso em Março de 2017
- Zica, A. S. (2013). *Esfoliação química, deposição eletroforética e caracterização de nanofolhas de óxido de grafite*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal

de Viçosa, Física Aplicada, Viçosa. Acesso em Maio de 2016, disponível em <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/4265/texto%20completo.pdf?sequence=1>