

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA - MATERIAIS DENTÁRIOS

PONTOS QUÂNTICOS ESTABILIZADOS POR LÍQUIDO IÔNICO COMO
ESTRATÉGIA DE CARGA NANOMÉTRICA NÃO AGLOMERADA EM RESINA
ADESIVA

ISADORA MARTINI GARCIA

ORIENTADOR: PROF. DR. FABRÍCIO MEZZOMO COLLARES

PORTO ALEGRE, DEZEMBRO DE 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA - MATERIAIS DENTÁRIOS

LINHA DE PESQUISA: BIOMATERIAIS E TÉCNICAS TERAPÊUTICAS EM
ODONTOLOGIA

PONTOS QUÂNTICOS ESTABILIZADOS POR LÍQUIDO IÔNICO COMO
ESTRATÉGIA DE CARGA NANOMÉTRICA NÃO AGLOMERADA EM RESINA
ADESIVA

Defesa de dissertação de mestrado, requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica – Materiais Dentários.

ISADORA MARTINI GARCIA

ORIENTADOR: PROF. DR. FABRÍCIO MEZZOMO COLLARES

PORTO ALEGRE, DEZEMBRO DE 2017

CIP - Catalogação na Publicação

GARCIA, ISADORA
PONTOS QUÂNTICOS ESTABILIZADOS POR LÍQUIDO IÔNICO
COMO ESTRATÉGIA DE CARGA NANOMÉTRICA NÃO AGLOMERADA EM
RESINA ADESIVA / ISADORA GARCIA. -- 2017.
82 f.
Orientador: Fabrício Mezzomo Collares.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto
Alegre, BR-RS, 2017.

1. Polihidroxietil metacrilato. 2. Adesivos
dentinários. 3. Titânio. 4. Antibacterianos. 5.
Tamanho de partícula. I. Mezzomo Collares, Fabrício,
orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus queridos pais, **Jorge Luís Oliveira Garcia** e **Vera Lúcia Martini Garcia**, que se dedicam incansavelmente à minha felicidade todos os dias. Obrigada por todo apoio e conselhos e por mostrarem, a mim e ao Gustavo, os melhores exemplos de amizade e amor, honestidade, respeito ao próximo, responsabilidade, comprometimento e perseverança.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, **Jorge Luís Oliveira Garcia**, pelo apoio e ajuda de sempre, pelo incentivo incondicional aos meus estudos, por me mostrar que o dia a dia pode ser sempre mais leve e divertido mesmo em momentos difíceis e principalmente pelo amor.

À minha mãe, **Vera Lúcia Martini Garcia**, por todo o carinho e cuidado, pelo também incentivo incondicional aos meus estudos, por sempre nos lembrar que o conhecimento é o maior bem que podemos construir, transmitir, fortalecer e que nunca poderá ser tirado de nós.

Ao meu irmão, **Gustavo Martini Garcia**, pela paciência, tolerância, lealdade e afeto. Obrigada pelos puxões de orelha, pelas conversas de madrugada durante os estudos e por ser meu melhor amigo sempre.

Ao meu noivo, **Felipe Costa Ramos**, pelo amor e por ser um grande exemplo de perseverança e disciplina. Obrigada pela paciência, por compreender todos os momentos os quais eu não pude estar contigo, por apoiar meus planos, por me aceitar mesmo sabendo que a trajetória é longa e, na verdade, nunca terá fim.

Aos meus avós, **Glória Garcia, Miguel Garcia, Anacleto Martini e Brandina Martini**, e à minha dinda, **Marlene Martini Carneiro**, que não estão mais presentes, mas foram grandes exemplos de coragem e mostraram que somente por meio dos estudos e convivências afetivas é possível realizarmos grandes transformações.

À minha grande **família**, que sempre apoia a continuidade aos estudos e comemora muito a cada passo que dou.

Às minhas primas **Daniela Cardona Garcia, Patrícia Cardona Garcia, Débora Rios Garcia, Liliane Martini Araújo Ducatti e Amanda Martini Carneiro**, por estarem sempre prontas para conversar, sempre por perto, e por serem meu porto seguro.

Aos meus sogros **Luiz Antônio Bassanesi Ramos e Nanci do Carmo Costa Ramos** e cunhados **Rafael Costa Ramos e Bruna Tartari Guimarães**, obrigada pelo carinho e por também compreenderem quando eu não pude estar presente.

Às minhas melhores amigas há mais 20 anos, **Ana Paula Getz Pinto e Carol Rebeschini**, pelas conversas, risadas, conselhos e suporte e **Vivian Azambuja Zanotto**, por tudo isso além da ajuda com as imagens desse trabalho.

Às minhas amigas desde o início da graduação, **Andressa Gasparetto Moreira, Bárbara Christófoli, Bruna Barcelos Só, Carolina Radziuk, Emília Lobato Hagemann, Júlia Stocker, Mariél de Aquino Goulart, Nathalia Mocellin e Stéphanie D'Ávila**, por estarmos sempre juntas e por apoiarem minhas escolhas.

Ao meu orientador, **Dr. Fabrício Mezzomo Collares**, por me mostrar e abrir caminhos, por me ajudar a traçar rotas para que eu alcance meus objetivos, pelas horas de discussão, pelas cobranças, por me orientar há quase seis anos e não desistir mesmo quando meus “pensamentos não são lineares”, por me apoiar e tornar o meu mestrado um período de aprendizado muito além de Materiais Dentários.

Ao professor **Dr. Vicente Castelo Branco Leitune**, pela paciência, pelos conselhos e ensinamentos, pela prestatividade e apoio desde o início da graduação.

À professora **Dra. Susana Maria Werner Samuel**, pelos ensinamentos, pelo grande exemplo de força, coragem e responsabilidade, por acreditar em mim, me apoiar e me incentivar.

À professora **Dra. Carmen Beatriz Borges Fortes**, pelo exemplo de tolerância e respeito e pelo cuidado com todos com a qual convive.

Ao professor **Dr. Jackson Damiani Scholten**, que abriu as portas do Laboratório de Catálise Molecular para mim desde o primeiro momento em que eu o ouvi falar sobre líquidos iônicos. Obrigada pela paciência, pelos ensinamentos, pela orientação em diversos momentos, pela prestatividade e pela oportunidade.

À **Dra. Virgínia Serra de Souza**, pela ajuda, por não desistir quando as sínteses não davam certo, pela paciência e ensinamentos. Obrigada por todas as discussões, pela amizade e conselhos.

Ao **Dr. Christian Hellriegel**, por ter aberto as portas da Zeiss em mais de um momento à nossa equipe e por ser sempre tão prestativo e responsável.

À professora **Dra. Fernanda Visioli**, pela análise de citotoxicidade desse estudo.

A toda a equipe do **Laboratório de Materiais Dentários (LAMAD)** com a qual convivi ao longo dos últimos anos, aos que não participam mais e aos presentes, Aline Altmann, Ana Laura Schauenberg Machado, Ana Helena Schauenberg Machado, Bruna Genari, Carolina Jung Ferreira, Carolina Rocha Augusto, Elisa Figueiredo, Fábio Bohns, Fábio de Césare, Felipe Degrazia, Fernanda Arruda, Fernando de Freitas Portella, Flávia Rostirolla, Francine Montagna, Gabriela Balbinot, Islam Bendary, Juliana Caletti, Juliana Walcher, Laisa Cruzetta, Lucas Silvestrin, Marcela Souza, Marla Cuppini, Mariéle Mildner, Marília Paulus, Michele Stürmer, Nélio Dornelles, Patrícia Franken, Paula Dapper Santos, Priscila Schiroky, Stéfani Becker Rodrigues, Tiago Herpich, Rodrigo Tubelo e aos técnicos Iranês, Rosimeri, Mariana e Douglas, vocês foram fundamentais para que o percurso fosse mais leve.

A toda **equipe do Laboratório de Catálise Molecular (LAMOCA) da UFRGS**, especialmente à Graciane Marin, Irfan Qadir Muhammad, Pedro Pimenta e Wellington Douglas, pela ajuda durante os procedimentos no laboratório, momentos de discussão e de descontração.

A toda equipe do **laboratório 222-C do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS**, nas pessoas das professoras Dra. Amanda de Souza da Motta e Dra. Ana Paula Guedes e da aluna Priscila Ribeiro, por terem me recebido, me incluído ao grupo e me cedido espaço para que eu realizasse os ensaios microbiológicos.

À técnica **Luisa Mercado**, do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia, pela ajuda, paciência e dedicação à Faculdade de Odontologia.

A toda a equipe do **Laboratório Multiusuário de Análise Térmica (LAMAT)** da **UFRGS**, pelas análises termogravimétricas desse estudo e pela disponibilidade de sempre.

Ao **Centro de Microscopia e Microanálise da UFRGS (CMM)**, pelo uso do equipamento de microscopia eletrônica de transmissão.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo apoio à pesquisa e bolsa de estudos durante parte do meu mestrado.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul** e à **Faculdade de Odontologia**, por todas as experiências ímpares proporcionadas aos seus alunos e pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFRGS**, programa de excelência, do qual tenho a honra de ser aluna. Muito obrigada especialmente a todos os professores que participaram dessa trajetória e que me incentivam cada dia mais a seguir em frente.

“Anybody who has been seriously engaged in scientific work of any kind, realizes that over the entrance to the gates of the temple of science are written the words: ‘Ye must have faith’.”

Max Planck

RESUMO

O objetivo desse estudo foi formular e avaliar resinas adesivas experimentais com diferentes concentrações de pontos quânticos de dióxido de titânio com líquido iônico ($\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$). $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ foram sintetizados com tetracloreto de titânio e líquido iônico (LI). Os adesivos foram formulados com bisfenol A glicidil metacrilato, hidroxietil metacrilato e sistema fotoiniciador. $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ foram incorporados em 2,5% ($G_{2,5\%}$) e 5% ($G_{5\%}$) ao adesivo e um grupo permaneceu sem carga como grupo controle (GC). $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ foram analisados por espectroscopia μ -Raman, termogravimetria, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e microscopia de fluorescência. Os adesivos foram avaliados quanto à atividade antibacteriana imediata e longitudinal ($n=3$), citotoxicidade ($n=3$), cinética de polimerização ($n=3$), dureza Knoop ($n=3$) amolecimento em solvente ($n=3$), resistência de união (μ -TBS) imediata e longitudinal ($n=20$) e padrão de fratura. $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ apresentaram tamanho mínimo de 1,19 nm, mediana de 3,5 nm e máximo de 7,11 nm; picos de anatase e rutilo e ~26% de LI. $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ se mostraram bem dispersos com fluorescência intermitente. $G_{2,5\%}$ e $G_{5\%}$ apresentaram atividade antibacteriana imediata e longitudinal quanto à formação de biofilme comparados a GC ($p<0,001$). Não houve diferença estatística quanto à citotoxicidade ($p=0,293$). GC atingiu maior taxa máxima de polimerização ($<0,001$). GC e $G_{2,5\%}$ não apresentaram diferença quanto ao grau de conversão ($p>0,05$). Não houve diferença quanto à microdureza inicial ($p=0,909$) e μ -TBS imediata ($p=0,239$). $G_{5\%}$ apresentou maior amolecimento em solvente ($p=0,021$) e menor μ -TBS longitudinal ($p<0,001$), com predomínio de fratura mista para todos os grupos. Concluiu-se que a adição de pontos quânticos estabilizados por LI é uma estratégia promissora para desenvolver polímeros com cargas não aglomeradas na escala nanométrica.

Palavras-chave: Polihidroxietil metacrilato. Adesivos dentinários. Titânio. Antibacterianos. Tamanho de partícula.

ABSTRACT

The aim of this study was to formulate and to evaluate experimental adhesive resins with different concentrations of titanium dioxide quantum dots with ionic liquid ($\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$). $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ were synthesized with titanium tetrachloride and ionic liquid. The adhesives were formulated mixing bisphenol A glycidyl methacrylate, hydroxyethyl methacrylate and a photoinitiator system. $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ were incorporated at 2.5 wt.% ($G_{2.5\%}$) and 5 wt.% ($G_{5\%}$) into the adhesive and one group remained without filler addition as control group (CG). $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ were analyzed by μ -Raman spectroscopy, thermogravimetry, transmission electron microscopy (TEM) and fluorescence microscopy. The adhesives were evaluated for immediate and longitudinal antibacterial activity ($n=3$), cytotoxicity ($n=3$), polymerization kinetics ($n=3$), Knoop hardness ($n=3$), softening in solvent ($n=3$), immediate and longitudinal microtensile bond strength (μ -TBS) and fracture pattern. $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ showed minimum size of 1.19 nm, median of 3.5 nm and maximum of 7.11 nm; peaks of anatase and rutile and ~26 wt.% of IL. $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ were well dispersed with intermittent fluorescence. $G_{2.5\%}$ and $G_{5\%}$ presented immediate and longitudinal antibacterial activity regarding the biofilm formation compared to CG (<0.001). There was no statistical difference regarding the cytotoxicity ($p=0.293$). CG reached the highest maximum polymerization rate ($p<0.001$). CG and $G_{2.5\%}$ presented no difference in the degree of conversion ($p>0.05$). There was no difference in the initial microhardness ($p=0.909$) and the immediate μ -TBS ($p=0.239$). $G_{5\%}$ presented the highest softening in solvent ($p=0.021$) and the lowest longitudinal μ -TBS (<0.001), with predominance of mixed fracture for all groups. It was concluded that the addition of

quantum dots stabilized by IL is a promising strategy for the development of polymers with non-agglomerated nanofillers.

Keywords: Polyhydroxyethyl methacrylate. Dentin bonding agents. Titanium. Anti-bacterial agents. Particle size.

SUMÁRIO

1. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA	15
2. OBJETIVO	26
3. MANUSCRITO	27
3.1 MANUSCRIPT	28
Abstract	29
1. Introduction	31
2. Materials and Methods	32
3. Results	39
4. Discussion	41
5. Conclusion	48
Acknowledgement	48
References	48
Figures	55
Tables	68
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
REFERÊNCIAS	75

1. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

Os sistemas adesivos vêm sendo inovados para que tenham atividade antibacteriana (ZHANG et al., 2013; ANDRE et al., 2015; COCCO et al., 2015; SCHIROKY et al., 2017), menor degradação hidrolítica (MOSZNER; SALZ; ZIMMERMANN, 2005) e para que propiciem menor degradação do colágeno por enzimas colagenolíticas (HASHIMOTO et al., 2016) e maior remineralização dentinária (TAY; PASHLEY, 2009). Uma maneira de fornecer algumas dessas características aos sistemas adesivos é por meio da incorporação de cargas inorgânicas aos mesmos. Dióxido de silício, partículas de vidro de bário borossilicato e vidro de fluorossilicato (VAN LANDUYT et al., 2007) são as mais utilizadas; porém, já foram testadas outras, como óxido de zircônio (LOHBAUER et al., 2010), pentóxido de nióbio (LEITUNE et al., 2013a), fosfatos de cálcio (GARCIA et al., 2017), óxido de zinco (GARCIA et al., 2016), bem como as compostas por íons de ouro e platina (HASHIMOTO et al., 2016) em baixas concentrações para não comprometer o molhamento do substrato dental por adesivos com alta viscosidade (WAGNER et al., 2013).

Quando em escala nanométrica, os materiais podem apresentar propriedades distintas que levam a aplicações variadas (RODUNER, 2006). Algumas das propriedades mais diferenciadas envolvem o comportamento fotoelétrico de nanopartículas (NPs), especialmente em materiais semicondutores (EFROS; NESBITT, 2016; LIM et al., 2016), e apresentação de atividade antimicrobiana elevada (RAGHUPATHI; KODALI; MANNA, 2011). Nesse contexto, NPs de dióxido de titânio (TiO₂ ou titânia) são amplamente estudadas por apresentarem atividade fotocatalítica (HASHIMOTO; IRIE;

FUJISHIMA, 2005) e antimicrobiana por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SUN et al., 2017). ROS são formados quando os materiais semicondutores são irradiados com fótons (SUN et al., 2017) com energia maior (ou ondas com menor comprimento) que seu “band-gap” (banda proibida) das partículas (HASHIMOTO; IRIE; FUJISHIMA, 2005), região entre a banda de valência e a banda de condução. Assim, elétrons passam da banda de valência para a banda de condução, criando uma vacância na banda de valência, tornando-a positiva (h^+) (carga igual a do elétron, mas sinal oposto) e originando o par elétron-lacuna (éxciton) na superfície do catalisador (ZHANG et al., 2014; GARVEY et al., 2016). Reações de oxidação ocorrem na banda de valência e de redução na banda de condução, levando ao processo fotocatalítico (SOUZA et al., 2016) e geração de ROS, os quais são geralmente radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$) e superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) (GARVEY et al., 2016). Os radicais livres formados causam dano à estrutura molecular de fosfolipídios, desorganizando a membrana bacteriana (GARVEY et al., 2016). Por essas propriedades, TiO_2 vêm sendo utilizado em superfícies autolimpantes (ISAIFAN et al., 2017) e no desenvolvimento de materiais antimicrobianos (GARVEY et al., 2016; KIM et al., 2017), bem como co-iniciadores em fotopolimerização (SUN et al., 2011; SUN et al., 2016), células fotovoltaicas em painéis solares, produção de hidrogênio por “water splitting” (HASHIMOTO; IRIE; FUJISHIMA, 2005), além de carga para reforçar mecanicamente polímeros (PINTO et al., 2015), como os de uso odontológico (SUN et al., 2011).

As NPs de titânia são excitadas principalmente por luz no espectro de onda ultra-violeta (UV) (HASHIMOTO; IRIE; FUJISHIMA, 2005), havendo relatos na literatura de geração de ROS com irradiação também abrangendo o intervalo

de comprimento de onda de luz visível (SUN et al., 2011; PETERSEN et al., 2014; KIM et al., 2017). Contudo, não há consenso na literatura sobre qual o comprimento de onda necessário para excitá-las, devido ao fenômeno não depender apenas do material, mas também de seu tamanho, forma e fase cristalina, alterando o band-gap das NPs (HAQUE; NANDANWAR; SINGH, 2017). E, ainda, não há consenso sobre quanto tempo após a irradiação as NPs continuarão apresentando efeito antimicrobiano. Portanto, o envolvimento das mesmas por agentes antimicrobianos pode ser uma alternativa para manutenção dessa característica, sem a necessidade de ativação por luz do material.

Devido às distintas propriedades de partículas quando em dimensão nanométrica, nanopartículas vêm sendo incorporadas e avaliadas em sistemas adesivos, como óxido de zinco (OSORIO et al., 2011), prata (ZHANG et al., 2013), ouro e platina (HASHIMOTO et al., 2016). Por meio dessas, propriedades foram aprimoradas, como a atividade antibacteriana do polímero (OSORIO et al., 2011; ZHANG et al., 2013) e redução da atividade de metaloproteínas (HASHIMOTO et al., 2016). Com essa dimensão, as NPs permeariam pela extensão da camada híbrida, atingindo espaços interfibrilares da dentina, os quais apresentam 20 nm após a desmineralização ácida durante o procedimento restaurador (TAY; MOULDING; PASHLEY, 1999), e talvez intermoleculares do colágeno (1,26 a 1,33 nm) (BERTASSONI et al., 2012).

Porém, o menor tamanho das partículas leva à formação de aglomerados de nanopartículas (JORDAN et al., 2005; CAI et al., 2012; SUN et al., 2017), os quais apresentam menor adesão à matriz resinosa, se descolando da mesma (SHAH; FERRACANE; KRIZIC, 2009). Além disso, aglomerados de nanopartículas podem agir como sítios de concentração de tensão, prejudicando

sua adequada dissipação (BELLI et al., 2014) e tornando o polímero mais suscetível à falha mecânica (YESIL et al., 2008; WAGNER et al., 2013). Como alternativa, pontos quânticos podem ser utilizados, visto que essas partículas inorgânicas apresentam dimensão de 1 a 10 nm em confinamento quântico tridimensional (BIMBERG; POHL, 2011) e não sofrem aglomeração quando em estado de equilíbrio (MEULENKAMP, 1998) e foram recentemente testados em resinas adesivas na Odontologia (GARCIA et al., 2016).

Uma particular característica dos QDs é a luminescência intermitente que apresentam por meio da emissão de fóton quando há recombinação do par elétron-lacuna (éxciton) após incidência de energia superior ao seu “band-gap” (HASHIMOTO; IRIE; FUJISHIMA, 2005). Quando o elétron na banda de valência passa para a banda de condução, deixando uma vacância na primeira banda, dois fenômenos podem ocorrer: recombinação radiativa e recombinação não-radiativa de Auger (EFROS; NESBITT, 2016; XU et al., 2017). O primeiro evento ocorre quando o elétron (e pode ser um segundo elétron que está em camadas mais energéticas) passa a ocupar a vacância e libera energia na forma de fóton, emitindo luz. O segundo evento ocorre quando a energia emitida é transferida para um terceiro elétron, o qual transforma essa energia em energia cinética e é emitido para fora do raio atômico ao superar a atração eletromagnética do núcleo (EFROS; NESBITT, 2016). Como a recombinação de Auger pode ser mais rápida que a radiativa, a fotoluminescência pode ser fortemente suprimida, levando ao fenômeno de fluorescência intermitente (EFROS; NESBITT, 2016). Assim, o fenômeno observado pela primeira vez em 1996 (NIRMAL et al., 1996) tem como teoria mais aceita atualmente a alteração “on → off” por meio da inonização do ponto quântico, deixando o nanocristal carregado e sem emissão

de fótons e alteração “off → on” por meio de sua neutralização, tornando o nanocristal neutro e com emissão de fótons (EFROS; NESBITT, 2016). Assim, uma maneira para verificar se as nanopartículas encontram-se em confinamento quântico e, conseqüentemente, em dimensão nanométrica compatível (1-10 nm) (BIMBERG; POHL, 2011), se faz por meio de microscopia de fluorescência de alta resolução ao se analisar a intermitência de luz emitida por esses átomos artificiais (GARCIA et al., 2016).

Pontos quânticos são nanocristais criados a partir de semicondutores e são facilmente sintetizados por processos de auto-organização das partículas (MEULENKAMP, 1998; HSUEH et al., 2015; GARCIA et al., 2016). Assim, pontos quânticos de óxido de zinco (ZnO_{QDs}) foram sintetizados e incorporados a um adesivo odontológico em busca do aprimoramento de um sistema adesivo convencional, obtendo um polímero com maior grau de conversão e maior estabilidade de resistência de união (GARCIA et al., 2016). Porém, tradicionais sínteses, como por meio de sol-gel, apresentam baixo rendimento, dificultando o estudo de materiais com diferentes alíquotas das partículas. Além disso, as mesmas devem permanecer em meio líquido e à baixa temperatura (MEULENKAMP, 1998), o que dificulta a troca de solventes e o desenvolvimento de novos materiais.

Atualmente, outras rotas sintéticas de pontos quânticos vem sendo propostas por meio de líquidos iônicos (LIs) em reações químicas (DUPONT; SCHOLTEN, 2010). Enquanto a maioria dos líquidos é constituída por moléculas neutras, pois espécies carregadas levam a interações iônicas geralmente fortes para conduzir o material ao estado de agregação sólido, “sais fundidos à temperatura ambiente” ou “líquidos iônicos” são sais orgânicos com baixo ponto

de fusão (abaixo de 100°C), sendo muitas vezes líquidos à temperatura ambiente (ŁUCZAK et al., 2016a). LIs apresentam baixa pressão de vapor, elevada estabilidade térmica e química e densidade e viscosidade variáveis dependendo do cátion e ânion que os compõem (WEINGÄRTNER et al., 2008; ŁUCZAK et al., 2016a; ŁUCZAK et al., 2016b). Esses sais compreendem um núcleo catiônico, geralmente um grupo (ou “cabeça”) orgânico com nitrogênio (imidazol e piridina, por exemplo), com uma cadeia alquila ligados a um contraíon aniônico simples (como haletos) (WEINGÄRTNER, 2008) ou espécies orgânicas mais complexas (como aminoácidos com carga negativa) (KAGIMOTO et al., 2006). Devido ao fato da carga estar deslocada em núcleos cíclicos volumosos, há falta de simetria do sal (HARDACRE et al., 2007), levando à fraca coordenação e ao fraco empacotamento iônico (FULLER et al., 1994), impedindo a formação de uma rede cristalina estável, resultando em um ponto de fusão reduzido e ao estado líquido característico (PENDLETON; GILMORE, 2015). Porém, esses sais, caracterizados por propriedades moleculares, como geometria e momento dipolar, apresentam uma estrutura altamente organizada se comparados a líquidos tradicionais, com uma rede de cátions e ânions interagindo por meio de forças eletrostáticas e ligações de hidrogênio. A capacidade de formar estruturas pré-organizadas, principalmente por meio de ligações de hidrogênio, induzindo direcionalidade estrutural, distingue os LIs dos sais simples ou dos clássicos compostos quaternários de amônio (DUPONT; SCHOLTEN, 2010).

Inicialmente empregados em baterias e em estudos de eletroquímica, nos últimos anos os LIs demonstraram sua versatilidade em aplicações sintéticas e catalíticas, provocando grande interesse na pesquisa acadêmica e industrial.

Como exemplo, devido à baixa volatilidade, os LIs vêm sendo propostos como solventes em processos da “Química Verde” (SEDDON, 1997; LOZANO et al., 2015), além de indicações para as ciências da saúde (FERRAZ et al., 2011) e preparo de partículas (SCARIOT et al., 2008; DUPONT; SCHOLTEN, 2010; LUCZAK et al., 2016a; ŁUCZAK et al., 2016b; SOUZA et al., 2016). Com suas propriedades únicas e ajustáveis, os LIs têm se tornado cada vez mais utilizados na síntese de partículas na escala micro e nanométrica, modificando-se o comprimento da cadeia alquila, adicionando-se grupamentos catiônicos ou variando-se o ânion (DUPONT; SCHOLTEN, 2010). Dessa forma, os LIs podem agir em reações químicas como solventes, estabilizadores das partículas ou como reagentes, participando de forma direta da síntese (PRECHTL et al., 2010). Devido à organização estrutural dos LIs, bem como a afinidade com outras moléculas devido à capacidade de doação/recebimento de elétrons e criação de ligações de hidrogênio (DUPONT; SCHOLTEN, 2010), os LIs têm se tornado uma ferramenta chave na preparação de nanoestruturas com propriedades desejadas específicas, como atividade antimicrobiana (PENDLETON; GILMORE, 2015), formatos e tamanhos específicos (SCARIOT et al., 2008).

A morfologia das nano e microestruturas, tais como a forma, o tamanho das partículas, a porosidade e a densidade dos defeitos cristalinos, pode ser controlada pela seleção apropriada dos reagentes e pelas condições da via de síntese (temperatura, pressão e duração da reação) (SCARIOT et al., 2008; DUPONT; SCHOLTEN, 2010; LUCZAK et al., 2016a; SOUZA et al., 2016). As nanoestruturas com tamanho estável são usualmente obtidas por síntese na presença de agentes protetores ou estabilizadores, tais como compostos anfifílicos, polímeros, dendrímeros ou sistemas de dispersão com micelas

(ŁUCZAK et al., 2016a). Assim, a composição dos LIs e suas propriedades físico-químicas influenciam não apenas na síntese das partículas, mas também na estabilidade das mesmas, agindo como agentes estruturais ao criar uma camada protetora em torno das partículas (ŁUCZAK et al., 2016a). Mesmo após a lavagem das nanopartículas com solventes orgânicos, como acetonitrila e acetona, centrifugação e secagem, camadas protetoras de LI permanecem em torno das mesmas, prevenindo sua aglomeração (SOUZA et al., 2016). Apesar de haver diversas teorias sobre como os LIs agem para estabilizar as partículas, sabe-se que os principais meios para isso são pela estabilização estérea pelas camadas envolventes, estabilização eletrostática, aumento da viscosidade do meio e formação de um molde (cadeias ou “túneis” de LIs) que limita o crescimento das nanopartículas (DUPONT; SUAREZ, 2006; HE; ALEXANDRIDIS, 2015). Nesse contexto, cátions imidazólicos, juntamente com os ânions tetrafluoroborato $[BF_4]$, hexafluorofosfato $[PF_6]$, bis (trifluorometanosulfonil) imida $[Tf_2N]$ e haletos de cloro $[Cl]$ ou bromo $[Br]$ são os LIs mais frequentemente utilizados para a preparação de nano e micropartículas devido à baixa temperatura de fusão e baixa viscosidade, facilitando as rotas de síntese (WEINGÄRTNER, 2008). Quanto maior o tamanho do ânion utilizado, mais difusa estará a carga desse íon, levando à menor atração eletrostática entre cátion e ânion e menor energia do sistema (HARDACRE et al., 2007). Assim, a posição de relação entre cátion e ânion varia dependendo do líquido iônico, com alguns ânions como os haletos interagindo mais diretamente com hidrogênios ácidos do cátion e moléculas aniônicas maiores como o $[PF_6]$ interagindo com o centro positivo do anel imidazol (HARDACRE et al., 2007). Dessa forma, com os diferentes ânions, além da alteração de hidrofília do sal, pode-se alterar, por

exemplo, a densidade e polaridade do mesmo, o que também influencia seu papel na síntese e estabilização de nano e micropartículas, variando, forma e tamanho das estruturas (SCARIOT et al., 2008).

O primeiro líquido iônico à temperatura ambiente (nitrato de etilamônio) foi sintetizado em 1914 (WALDEN, 1914); porém, esses sais orgânicos vêm sendo cada vez mais estudados devido aos avanços significativos na compreensão de suas propriedades químicas, físicas e biológicas, o que impulsiona sua aplicação na área das ciências da saúde (FERRAZ et al., 2011; HODYNA et al., 2016). Alguns autores sugerem que o conjunto de propriedades, a versatilidade e o potencial para múltiplas funcionalidades dos LIs podem ser estratégias antimicrobianas inovadoras capazes de fornecer a diversidade química no design necessário de drogas para acompanhar o crescente desafio à resistência microbiana (PENDLETON; GILMORE, 2015).

Os LIs desorganizam biofilmes e seus efeitos antimicrobianos são atribuídos à cabeça catiônica, à cadeia alifática ou ao ânion (PENDLETON; GILMORE, 2015). As características de uma cabeça orgânica mais hidrófila carregada positivamente com uma ou mais "caudas" hidrófobas observadas tanto em LIs como em tensoativos catiônicos, faz com que os LIs compartilhem analogias estruturais e funcionais com biocidas e surfactantes catiônicos clássicos, como os compostos quaternários de amônio (CQA). Assim, possivelmente ocorra uma sequência de eventos como com o uso de CQA e outras moléculas catiônicas (PENDLETON; GILMORE, 2015): adsorção do agente antimicrobiano na parede bacteriana; difusão através da parede celular; ligação à membrana citoplasmática; ruptura da membrana citoplasmática; liberação de íons e outros constituintes do citoplasma bacteriano; morte celular

(IKEDA; YAMAGUCHI; TAZUKE, 1984; KENAWY et al., 2002; LU; WU; FU, 2007).

A característica antimicrobiana dos LIs tem sido documentada desde a década de 1990, evidenciando que esses sais orgânicos podem exibir atividade antimicrobiana de amplo espectro, afetando bactérias gram-positivas e gram-negativas, micobactérias e fungos (PENDLETON; GILMORE, 2015). Em geral, a atividade antimicrobiana dos LIs aumenta com o aumento da lipofilicidade, normalmente manipulada pela extensão da cadeia alquila. Porém, como previamente citado, a “cabeça catiônica” do LI pode também apresentar ação antimicrobiana, mas pela interação com cargas negativas na membrana de células procariotas, constituídas por fosfolipídios e ácidos que tornam a célula negativa (YEAMAN; YOUNT, 2003). Assim, a atração eletrostática desses constituintes é facilitada, enquanto a ação em células eucariontes é reduzida, visto que a membrana desses é composta principalmente por lecitinas, esfingolípídios e esteróis, tornando a carga líquida neutra (YEAMAN; YOUNT, 2003) e favorecendo a biocompatibilidade (PENDLETON; GILMORE, 2015). Entre os cátions mais utilizados na formação da cabeça catiônica dos LIs, os imidazólicos ganharam destaque por apresentarem também reconhecido efeito antifúngico, constituindo LIs biocompatíveis, com aplicações farmacêuticas (FERRAZ et al., 2011), que propiciam alto rendimento em catálises e menor intervenção ambiental durante as sínteses devido à baixa volatilidade (SEDDON, 1997). A atividade antimicrobiana pode ocorrer ainda em relação aos ânions, os quais geralmente desempenham um papel secundário (ŁUCZAK et al., 2010). É possível utilizar líquidos iônicos com anel imidazólico como cátion e ânions

orgânicos antimicrobianos ou até mesmo íons de tetraclorocuprato, fornecendo ânions de prata (GILMORE et al., 2013).

Na Odontologia, alguns LIs já foram testados contra bactérias gram-positivas e gram-negativas comuns no meio bucal (GINDRI et al., 2014). Em materiais odontológicos, LIs já foram usados para recobrimento de implantes de titânio (GINDRI et al., 2015), na tentativa de proteção da superfície contra a formação de biofilme (GINDRI et al., 2016a) e manutenção da lubrificação e capacidade anticorrosiva da superfície (GINDRI et al., 2016b). Nanopartículas de prata foram também sintetizadas com um LI imidazólico para uso em desinfecção endodôntica (ABBASZADEGAN et al., 2015). Contudo, não há relato na literatura acerca da influência de pontos quânticos com líquido iônico em polímeros de uso odontológico. Dessa forma, seria possível também o uso de rotas sintéticas mais versáteis para a formulação e estudo em materiais de uso odontológico.

2. OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi formular e avaliar resinas adesivas experimentais com diferentes concentrações de pontos quânticos de dióxido de titânio estabilizados por líquido iônico.

3. MANUSCRITO

Essa dissertação de mestrado se apresenta na forma de um artigo, escrito na língua inglesa e que segue as normas referentes ao periódico *Acta Biomaterialia*, para o qual será submetido.

3.1 MANUSCRIPT

Titania nanoparticles non-agglomerated by ionic liquid in adhesive resin

Isadora Martini Garcia^a, Virgínia Serra de Souza^b, Christian Hellriegel^c, Jackson Damiani Scholten^d, Fabrício Mezzomo Collares^{e*}

^a Dental Materials Laboratory, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil. E-mail: isadora.garcia@ufrgs.br

^b Laboratory of Molecular Catalysis, Institute of Chemistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil. E-mail: virginia.souza@ufrgs.br

^c Microscopy Business Group, Business Sector Life Sciences, Carl Zeiss Microscopy GmbH. E-mail: christian.hellriegel@zeiss.com

^d Laboratory of Molecular Catalysis, Institute of Chemistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil. E-mail: jackson.scholten@ufrgs.br

^e Dental Materials Laboratory, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil. E-mail: fabricio.collares@ufrgs.br

* Corresponding author - Dental Materials Laboratory, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos, 2492, Rio Branco, 90035-003, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: fabricio.collares@ufrgs.br. Phone number: 55-51-33085198.

Abstract

Quantum dots (QDs) were recently used as non-agglomerated nanoparticles for adhesive resins in dentistry. A new approach for QDs synthesis by ionic liquids (ILs) has been proposed in this study. Adhesive resins with 2.5 wt.% and 5 wt.% of titanium dioxide quantum dots with an imidazolium IL ($\text{TiO}_{2\text{QDs/BMI.BF}_4}$) were formulated and evaluated regarding the physico-chemical properties, antibacterial activity and cytotoxicity compared to a adhesive without $\text{TiO}_{2\text{QDs/BMI.BF}_4}$ addition. The particles presented minimum size of 1.19 nm, median of 3.5 nm and maximum of 7.11 nm. Micro-Raman spectroscopy indicated peaks related to anatase and rutile and the thermogravimetric analysis indicated ~26 wt.% of residual IL. $\text{TiO}_{2\text{QDs/BMI.BF}_4}$ were well dispersed in the polymer and showed fluorescence intermittency, singular behavior of particles in quantum confinement effect. The adhesives presented antibacterial activity against biofilm formation after 24h and after three months and did not indicate cytotoxicity. The adhesives showed differences in the polymerization kinetics with no difference in the degree of conversion between the control group and the group with the lowest filler addition (2.5 wt.%). There was no difference regarding initial microhardness and immediate microtensile bond strength ($\mu\text{-TBS}$). The group with more $\text{TiO}_{2\text{QDs/BMI.BF}_4}$ presented the highest softening in solvent and decreased the $\mu\text{-TBS}$ after six months. No adverse effect was observed on physical, biological and chemical properties when was added up to 2.5 wt.% of $\text{TiO}_{2\text{QDs/BMI.BF}_4}$ into the adhesive resin. These findings indicate that it is possible to achieve polymers with non-agglomerated nanoparticles using ionic liquid as a new and versatile surfactant, providing antibacterial activity and no cytotoxic effect.

Statement of significance: Inorganic nanoparticles (NPs) are the most required filler for reinforcement of polymers, such as adhesive resins. However, NPs are prone to agglomerate because of the high surface energy, negatively affecting the polymers. We demonstrated that it is possible to incorporate quantum dots (nanoparticles with 1-10 nm) functionalized with ionic liquid, which is a versatile new reagent and surfactant for nanoparticle synthesis and stabilization. The experimental adhesive with the non-agglomerated NPs developed showed antibacterial activity with no cytotoxic effect for pulp fibroblasts.

Keywords: Polyhydroxyethyl Methacrylate. Dentin Bonding Agents. Titanium dioxide. Imidazoles. Anti-bacterial agents. Nanostructures.

1 Introduction

Nanometric structures present different properties compared to their bulk form [1, 2]. In addition, inorganic nanoparticles (NPs) are required as fillers for reinforcement of polymers, such as adhesive resins [3, 4] and they could also permeate through interfibrillar spaces (20 nm) of collagen fibrils [5]. Titanium dioxide (TiO₂) nanocrystals addition have been proposed to biomaterials promoting antibacterial activity [6, 7], reinforcement of polymers [8, 9] and scaffolds [10], acting as co-initiators during photopolymerization [11] and improving attachment and proliferation of osteoblasts cells [12]. Nevertheless, NPs are prone to agglomeration because of the high surface energy [13-15]. The agglomerates negatively affect polymers, acting as stress-concentrating defect sites [16,17], debonding from resin matrix [18] and avoiding penetration throughout the interfibrillar spaces [5].

The NPs self-agglomeration is prevented using quantum dots (QDs) [19]. The QDs have been used for many purposes, since engineering [20, 21] up to health sciences [22], such into adhesive resins [19], and they are easily synthesized via sol-gel processes [19, 23, 24]. However, these syntheses present low yield, the QDs must remain in liquid and at low temperature to avoid self-agglomeration [24].

Currently, QDs syntheses have been proposed using ionic liquids (ILs) [25,26]. ILs are organic salts with low melting point (below 100°C), often being liquid at room temperature, low vapor pressure and variable density and viscosity depending on the cation and the anion of the composition [27]. The ILs present a cationic nucleus, often a nitrogen group, as an imidazole, attached to a variable alkyl chain and related to a simple anion, as halides [27], or complex, as an amino

acid with negative charge [28]. Even after NPs washing, protective layers of ILs remain around the NPs, avoiding the agglomeration [29] via coulomb and steric stabilization [26]. In addition, these organic salts present broad antimicrobial spectra [30].

Some ILs have been proposed for coating of titanium implants [31] to protect the surface against biofilm formation [32] and maintenance of their lubrication and anticorrosion characteristic [33]. Also, silver NPs were synthesized with an IL for endodontic disinfection [34]. However, there is no report about the influence of QDs stabilized by IL in dental polymer. Thus, the aim of this study is to formulate experimental adhesives with different concentrations of TiO_2QDs with an imidazolium IL and to evaluate the resins regarding the physico-chemical properties, antibacterial activity and cytotoxicity.

2 Materials and Methods

2.1 Filler formulation

For filler synthesis, 0.5 mL of TiCl_4 (Sigma-Aldrich Chemical Co, St. Louis, Missouri, USA) was mixed with 5 mL of 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate (BMI.BF_4) according to previous study [35]. The mixture was stirred at room temperature and it was added 1 mL of deionized water and stirred at 80°C for 12h. The filler was washed with acetonitrile PA (Sigma-Aldrich Chemical Co, St. Louis, Missouri, USA), distilled water and acetone PA by centrifugation and dried under vacuum for 24h.

2.2 Filler characterization by micro-Raman Spectroscopy

The powder was evaluated by micro-Raman Spectroscopy (Senterra, Bruker Optics, Ettlingen, Baden-Württemberg, Germany) using a 785 nm HeNe laser, a range of 1800-440 cm^{-1} and the software Opus 7.5 (Bruker Optics, Ettlingen, Baden-Württemberg, Germany). The powder was irradiated five times for 3 s by 100 mW.

2.3 Filler thermal degradation profile

The thermogravimetric analysis (TGA) of the filler was performed using 15 mg of powder. The device SDT Q600 (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA) was operated under oxygen gas (100 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$) and the samples were heated until 800°C at a rate of 20°C $\cdot\text{min}^{-1}$. TGA and derivative thermogravimetric (DTG) curves were assessed by Advantage Software v5.5.20 (Universal Analysis, TA Instrument, New Castle, Delaware, USA) and Origin 9.0 Software (OriginLab, Northampton, Massachusetts, USA).

2.4 Filler size distribution and morphological analysis

The powder was dispersed in isopropanol PA (Sigma-Aldrich Chemical Co, St. Louis, Missouri, USA) to be evaluated by transmission electron microscopy (TEM) at 80 kV (JEOL JEM 1200 EXII, Tokyo, Japan) according to previous study (SOUZA et al., 2016). A drop of 10 μL was dispensed in a 200-mesh carbon-coated copper grid (SPI, West Chester, Pennsylvania, USA). The size of 250 particles was estimated by measuring each one in two axes from

arbitrary areas of the micrograph using Image J (NIMH, Bethesda, Maryland, USA).

2.5 Adhesives formulation

The experimental adhesives were formulated mixing 66.6 wt.% Bisphenol A glycerolate dimethacrylate (Bis-GMA) and 33.3 wt.% of 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). Camphorquinone and ethyl 4-dimethylaminobenzoate were added as photoinitiator system at 1 mol%, according to monomer moles, and 0.01 wt.% of butylated hydroxytoluene. $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ was added at 2.5 ($G_{2.5\%}$) and 5 ($G_{5\%}$) wt.% and one group remained with no filler as control group (CG). All materials were weighted in a high precision balance (AUW220D, Shimadzu, Kyoto, Japan), handed-mixed and sonicated for 180s (L100, Schuster, Santa Maria, RS, Brazil). The light source device used for photoactivation in all tests was a light-emitting diode (LED) at 1200 mW/cm² (Radii Cal, SDI, Bayswater, Victoria, Australia). All materials were purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, Missouri, USA).

2.6 Dispersion analysis of $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ in polymerized adhesives

For dispersion analysis of $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ in the polymers, the samples (1 mm-thick x 4 mm diameter) were evaluated by super resolution confocal microscopy with an inverted fluorescence microscopy with a confocal laser-scanning microscope (Axio Observer - LSM 780, Carl Zeiss, Jena, Thuringia, Germany). Elyra PS.1 system at 488 nm and differential interference contrast with the 100x objective was used to access the images and the movie to analyze

the fluorescence intermittence. In addition, the adhesive with the highest concentration (G_{5%}) of TiO₂QDs/BMI.BF₄ was characterized by TEM at 80 kV. A polymer was cut in an ultramicrotomy (RMC CRX, Tucson, Arizona, USA) and collected in a 200-mesh carbon-coated copper grid (SPI, West Chester, Pennsylvania, USA).

2.7 Immediate and longitudinal direct contact inhibition evaluation

For the antibacterial activity assay against biofilm formation of *Streptococcus mutans* (NCTC 10449, INCQS 00446, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Brazil), six samples per group were prepared (1 mm-thick X 4 mm diameter) and photopolymerized for 20 s on each side with the LED. Three samples per group were stored in water at 37°C for three months and the other three were stored in desiccator. After this period, all the specimens were attached to the lid of a test plate. The assembly was submitted to hydrogen peroxide sterilization. In each well was added 900 µL of brain-heart infusion broth (Sigma-Aldrich Chemical Co, St. Louis, Missouri, USA) with 1% sucrose (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Diadema, São Paulo, Brazil) and 100 µL of a suspension of an overnight broth culture of *Streptococcus mutans*. The lid with the samples was placed on the sterile well-plate and the samples surfaces were exposed to the culture medium with the 7.10⁶ CFU/mL of bacteria at 37°C for 24h. The samples were removed from the lid and vortexed in 1 mL of saline solution (0.9%) to be diluted until 10⁻⁶ dilution. Two 25-mL drops of each dilution were plated on brain-heart infusion agar Petri dishes and incubated at 37°C for 48h. The number of colony forming units (CFUs) was counted using optical microscopy and transformed to log CFU/mL.

2.8 Evaluation of antibacterial activity against planktonic bacteria

The assay was performed using the same samples and media as cited in 2.7 section (n=3). 100 μ L of each well was diluted in 1 mL of saline solution until the 10^{-6} dilution. Two drops (25 μ L each) of each dilution were plated on brain-heart infusion agar in Petri dishes and incubated for 48 hours at 37°C to count and to calculate the CFU/mL as cited above.

2.9 Cytotoxicity evaluation of the experimental adhesives

Human fibroblasts were collected from a third molar after extraction after approval by the local Ethics Committee (Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS – CEP UFRGS, n° 1.739.340). An eluate from the adhesives (n=3) was prepared by immersing the samples (1 mm-thick x 4 mm diameter) in 1 mL of Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) for 24h. Cells were placed at 5×10^3 in 96-well plates and treated with 100 μ L of eluate. After 72 hours, cells were fixed with trichloroacetic acid (Sigma-Aldrich Chemical Co, St. Louis, Missouri, USA) at 10% incubated at 4°C for one hour, washed six times with running water and dried at room temperature. Sulforodamide B (Sigma-Aldrich Chemical Co, St. Louis, Missouri, USA) at 4% was added. The plate was incubated for 30 min at room temperature. Plates were washed four times with 1% acetic acid and dried at room temperature. Trizma solution was added and the plate incubated for 1h. The microplates were read at 560 nm and the cell viability was normalized against viability of cells in wells without treatment. The cell viability was expressed in percentage.

2.10 Polymerization behavior by RT-FTIR Spectroscopy

The samples (n=3) were evaluated for 50s by Real Time Fourier Transform Infrared Spectroscopy (RT-FTIR) for polymerization kinetics with a spectrometer (Vetrex 70, Bruker Alpha, Ettingen, Germany) and a horizontal attenuated total reflectance (ATR) device. Data were evaluated with Opus 6.5 software (Bruker Optics, Ettlingen, Germany) with Blackman Haris 3-Term apodization, in 4000-400 cm^{-1} range with 2 scans per second, at 10 kHz velocity and 4 cm^{-1} resolution. The degree of conversion (DC), the polymerization rate (R_p) and the maximum polymerization rate (R_{pmax}) were calculated [36].

2.11 Softening in solvent

Three samples per group with (1 mm X 5 mm) were evaluated for initial Knoop microhardness (KHN1) (HNV2, Shimadzu, Tokyo, Japan). The samples were immersed in 70:30 ethanol:water solution for two hours and the Knoop microhardness (KHN2) was evaluated again. The percentage of variation of KHN1 and KHN2 was calculated [37].

2.12 Microtensile bond-strength test and failure pattern analysis

The superficial buccal surface of each bovine tooth (n=20) was exposed and ground flat (600-grit) for 30 s under running water. Phosphoric acid at 37% (Attaque Gel, Biodinamica Quimica e Farmacêutica LTDA, Ibioporã, Paraná, Brazil) was used to etch the dentin for 15 s and it was rinsed off with distilled water for 30 s. A commercial primer (Primer Scotch Bond Multi-Purpose, 3M ESPE, St. Paul, Minnesota, USA) was actively applied for 20 s, the solvent was

evaporated for 20 s, starting at a larger distance (~20 cm) and then approaching the syringe to the dentin surface. The experimental adhesives were applied and light-cured for 20 s. The composite resin (Filtek Z350 XT- 3M ESPE, St. Paul, Minnesota, USA) was placed onto dentin in two layers with 2.00 mm each and light-cured for 20 s each. The restored teeth were stored in distilled water at 37°C for 24h to be sectioned into beams with 0.5 mm² of cross-sectional area. From the total beams for each tooth, half were tested at 24 h and the other half stored in distilled water at 37°C for six months to be tested. The beams were fixed in a jig and submitted to a universal testing machine (EZ-SX Series, Shimadzu, Kyoto, Japan) at a crosshead speed of 1 mm/min. Using a stereomicroscope (HNV2, Shimadzu, Tokyo, Japan) at 10x magnification, the fracture pattern was evaluated and classified as adhesive, mixed or cohesive in dentin or composite.

2.13 Statistical Analysis

Data of particle size analysis was presented by frequency distribution and the graphs, the images and the movie were descriptively analyzed. Data distribution was evaluated using Shapiro-Wilk test. One-way ANOVA and Tukey's post hoc test were used for all tests, except for the differences between KHN2 and KHN1, longitudinal and immediate μ TBS, which were by paired t-test, and between the longitudinal and the 24h antibacterial activity, which was by two-way ANOVA and Tukey's post hoc test. A level of 0.05 of significance was considered.

3 Results

A white powder was isolated after being washed and centrifuged. Micro-Raman Spectroscopy indicated peaks of anatase and rutile of TiO_2 (Figure 1). TGA indicated three peaks of DTG and a loss weight of 39.4% after heating (Figure 2).

Figure 3 shows TEM images of QDs in isopropanol - (a) and (b) and in the polymerized adhesive (c). The QDs were dispersed with minimum size of 1.19 nm, median of 3.50 nm and maximum of 7.11 nm, presenting a circular or an elliptic shape. A monomodal non-normal size distribution was shown and the percentiles, mean and standard-deviation are in table 1. Fluorescence microscopy also demonstrated non-agglomerated NPs in the polymers and showed fluorescence blinking (the movie is in supplemental file 1, the graphs of times “on” and “off” during 65 s are in figure 4 and the images of fluorescence microscopy are in figure 5, 6 and 7).

The results of antibacterial analyses are in figure 8. The groups with $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ presented antibacterial activity against biofilm formation compared to CG ($p < 0.05$) (4.68 (± 0.02) logCFU/mL immediately and 4.70 (± 0.05) logCFU/mL after three months of storage in water), with less values for $G_{5\%}$ (2.11 (± 0.11) logCFU/mL immediately and 2.10 (± 0.04) logCFU/mL after three months of storage in water) comparing also to $G_{2.5\%}$ (2.55 (± 0.04) logCFU/mL immediately and 2.48 (± 0.06) logCFU/mL) ($p < 0.05$) regardless the time of evaluation ($p > 0.05$). There was no difference between the same group for different times ($p > 0.05$) and there was no difference among groups and times regarding the planktonic cells evaluation, reaching more than 8.00 logCFU/mL ($p > 0.05$).

The cell viability of all experimental materials was high with no statistical difference among the groups ($p>0.05$). CG achieved 90.87 (± 21.43) %; G_{2.5%}, 120.07 (± 18.04) % and G_{5%}, 117.06 (± 27.37) %.

The results of DC and R_{pmax} are in table 2 and the polymerization kinetics are in figure 9. DC decreased for G_{5%} (59.59 (± 0.32) %) compared to the other groups ($p<0.05$) with no difference between G_{2.5%} (59.81 (± 0.28) %) and CG (60.99 (0.37) %) ($p>0.05$). The R_{pmax} decreased with TiO₂QDS.BMI.BF₄ additions ($p<0.05$) with no statistical difference between G_{2.5%} and G_{5%}. The DC *versus* photoactivation time **(a)** showed a right displacement with increasing TiO₂QDSBMMI.BF₄ addition. The polymerization rate *versus* photoactivation time **(b)** showed that with increasing the nanoparticles addition, the R_{pmax} decreases and the gel-point is reached at different times. The DC *versus* polymerization rate graph **(c)** indicated higher values of R_{pmax} of CG for the same DC among the groups.

The results of KHN1, KHN2, Δ KHN%, 24h and 6 months of μ TBS of the adhesive resins are in table 3. There was no difference among the groups regarding the KHN1 ($p>0.05$) and the groups decreased the microhardness after solvent immersion ($p<0.05$). G_{5%} presented the highest Δ KHN%, reaching 62.07 (± 2.17) % while 54.78 (± 2.87) % for G_{2.5%} and 52.09 (± 4.21) % for CG. There was no difference among the groups at 24h for μ TBS ($p>0.05$) and G_{5%} decreased the μ TBS after 6 months ($p<0.05$). G_{5%} presented the lowest value (39.99 (± 7.94) MPa) for μ TBS after 6 months ($p<0.05$). For all groups, the mixed failure pattern predominated in immediate and longitudinal analysis (Figure 10).

4. Discussion

In the present study, TiO₂QDs were synthesized via chemical reaction with an imidazolium ionic liquid (IL) and isolated in a powder of TiO₂ nanocrystal protected by the IL (TiO₂QDs/BMI.BF₄). TiO₂QDs/BMI.BF₄ were non-agglomerated in the alcohol and in the experimental polymer, stable due to the IL, with blinking indicative of tridimensional confinement effect, a singular characteristic of quantum dots. The addition of any tested concentration of TiO₂QDs/BMI.BF₄ provided antibacterial activity without cytotoxic effect against pulp fibroblasts. In this study, the incorporation of up to 2.5 wt.% of the synthesized TiO₂QDs/BMI.BF₄ at adhesive resin showed reliable chemical, physical and biological properties.

The quantum dots of TiO₂ synthesized in this study were stabilized in an adhesive resin by an organic and liquid salt, a new solvent for catalyses. ILs present a displacement of the charge towards the big cationic nuclei that results in a lack of salt symmetry [38] and poor ionic coordination and packing [39]. The preventions of a stable crystalline network leads to the reduced melting point and to the consequent liquid form [30]. ILs show molecular properties such as geometry and dipole moment, presenting a highly organized structure compared to the traditional liquids, with a network of cations and anions interacting through electrostatic forces and hydrogen bonds [25]. The ability to form pre-organized structures induces directionality, which distinguishes the ILs from the conventional surfactants and the classics quaternary ammonium compounds (QACs), inducing the nanoparticles' size stability [25]. In this study, TiO₂QDs/BMI.BF₄ were prepared according to a known procedure [35] and presented anatase and rutile phases evidenced by Raman as previously showed [35] and a small decrease in TGA curve probably associated with remaining solvent. According to

the same study, $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ presented about 73:27 anatase:rutile (%) determined by X-ray powder [35]. It may be explained because at small sizes anatase is more stable than rutile, which is more prone to grow into bigger crystals [40]. Hence, the TiO_2 synthesized was stabilized by the IL and presented a size more compatible with nanoscale, keeping this dimension regardless of the medium in which the powder was incorporated.

The fluorescence microscopy shows not only the nanoparticles distribution, but also indicates the quantum confinement effect [41]. When the semiconductor presents a size up to 10 nm, the electrons are confined within the dot in three-dimensional states, defining the quantum confinement [42]. In this way, when the QDs are exposed to light, the electrons pass from the valence to the conduction band with an energy related to the smallest jump, called “gap” [43]. The excess energy may be emitted as light when the electron is snapping down to a lower energy state. So, the radius of the crystal is related to the energy that it absorbs or emits. As QDs present a smaller size than exciton Bohr radius, the quantum confinement occurs [44], showing effects as intermittence luminescence by blinking. The random switching of bright and dark, a usual behavior of QDs, was observed by the fluorescence microscopy due to illumination-induced charging (on \rightarrow off), while a non-radiative Auger recombination predominates, and the reneutralization period (off \rightarrow on), while a radiative recombination prevails [20, 41]. In this study, the fluorescence microscopy and TEM showed a well dispersed $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ through the bulk of polymers without agglomerates.

The measurement of $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ nanosize was performed by TEM and, in this way, the high fluorescence of the QDs does not avoid the evaluation. The

assessment was performed using the QDs in alcohol medium because $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ appear smaller in the adhesive, probably due to the low contrast between the IL and the polymer. The analysis indicated a monomodal size distribution for $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$, with minimum value of 1.19 nm, median of 3.50 nm and maximum of 7.11 nm. At this size, some NPs could permeate not only in the interfibrillar spaces in dentin [5], but also in the intrafibrillar spaces through molecules of collagen (1.26 to 1.33 nm) [45]. Many procedures have been proposed to develop resins with non-agglomerated nanoparticles. Nevertheless, usually toxic agents and non-environmental friendly reagents are used in these methods [46, 47]. In this study, the concern about TiO_2 agglomeration [14, 15, 48] was solved using a promising green alternative [49] as surfactant for the QDs' surface treatment and stability to achieve a well-dispersed nanosized filler.

The patient-related variables [50], the technique-sensitive procedure and aspects related to material properties [51] influence the longevity of tooth restorations and the biofilm accumulation at tooth/restoration interface may lead to recurrent caries, which is one of the major risk factor for restoration replacement [52, 53]. Therefore, adhesive systems have been developed with antibacterial-agents [37, 54] in attempt to reduce the recurrence of caries. There are few reports about tests that evaluated the antibacterial activity against biofilm formation during more than one week and few after samples' water storage, which is especially important for antibacterial-agent-releasing [55]. Besides 24h assay, the samples were stored for 3 months in water at 37°C to be evaluated regarding the biofilm formation on adhesive surface and the planktonic bacteria development in BHI broth. Despite there was no difference in the planktonic bacteria growth among the groups ($p>0.05$), it was observed that the higher the

filler concentration, the higher the activity against biofilm formation ($p < 0.05$) with no difference between 24h and three months ($p > 0.05$). These results could be explained by two mechanisms: the formation of reactive oxygen species (ROS) after light exposure of TiO_2 which transfer electrons from the valence to conduction band during light activation [14] and the mechanism by the ILs. ILs present antimicrobial effect due to its cationic head, aliphatic chain or anion [30]. As ILs present structural and functional analogies with QACs, they may break down the integrity of the cytoplasmic membrane and coagulate the matrix constituents, causing denaturation or inhibition of enzymes related to critical cellular functions, such as respiration, energy transfer, ATP synthesis and substrate oxidation [30, 56]. Therefore, the nanoparticles in this study may have presented synergic antibacterial activity due to the oxide and due to the IL chosen for QDs surface treatment, which may extend the antibacterial action time.

The antimicrobial effect provided by the “cationic head” is attributed to the interaction with negative charges on the prokaryotic membrane, constituted mainly by acid phospholipids [30, 57]. As eukaryotic cell membranes are predominantly constituted by sterols, lecithins and sphingolipids, their membrane is usually net neutral [57], leading to the preference of ILs binding with prokaryotic cells rather than eukaryotic cells through electrostatic attraction between the positive “head” and the negatively charged species, favoring the biocompatibility [30]. So, the cytotoxicity of ILs is more related to the extension of the alkyl chain [58], as occur with QACs [59]. Although the cytotoxicity of a biomaterial may be due to its nature, products remained from its synthesis [10], its size [60] and its morphology [61] and leachable products from its degradation [62] are also important factors. The usual increase of antibacterial activity of nanoparticles

compared to their bulk form may be accompanied by cytotoxicity against human cells [60]. In the present study, an indirect cell-material test was performed using an eluate from 24h of specimen storage in medium and following contact of pulp fibroblasts with it for 72h. The cell viability of all experimental adhesive resins was high, with mean percentages above 100% and no statistical difference among the groups ($p>0.05$). In this study, a small alkyl chain was used and independently of the filler concentration in the polymer, there was antibacterial effect with no cytotoxicity.

The polymerization kinetics was evaluated to verify possible differences regarding the incorporation of the nanopowder in the resin matrix. The presence of the IL around the NPs does not avoid the photoactivity of transition metal oxides [29]. TiO_2 is widely used in photocatalyst processes, sensors and solar cells [63]. When irradiated, the photogenerated electrons and holes are trapped on the surface of TiO_2 and it accelerates the redox reaction by lowering the activation energy required [63]. In this way, $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ participate in the DC of the polymer by donating electrons to the monomer or by removing a hydrogen atom from α -carbon of tertiary amine used in the photoactivation system [64]. Although TiO_2 NPs present higher activity in UV-light and it seems that anatase has better performance [7], there is no consensus in the literature to relate anatase and rutile phases and the required visible light wavelength. The non-consensus is because this effect does not depend only on the crystalline phase, but also on the particle size, size shape and consequently surface area, by changing the band gap energies [40]. A hybrid TiO_2QDs was used with anatase and rutile and the $R_{p\text{max}}$ was smaller when the NPs were added into the polymer in any tested concentration. It was also observed that there was no statistical

difference in the DC between CG and G_{2.5%} ($p>0.05$). It is possible that when photons with larger energy than the nanoparticles' bandgap irradiated the TiO₂QDs/BMI.BF₄, electrons passed from the valence band to the conduction band providing energy for the polymerization [14], accelerating the process that achieved the R_{pmax} earlier with less energy. Though, the nanopowder probably decreased the light transmission through the resin matrix for G_{5%}, resulting in lower DC [66]. However, all groups achieved a DC higher than 50%, which is compatible with commercial adhesives [67].

The IL used to stabilize the nanoparticles is composed of an alkyl chain with saturated double bonds. Even with no viability of copolymerization, the low (~26.4 wt.% from TGA) and necessary amount of the salt around TiO₂QDs did not influence the initial microhardness of the adhesive resins, since there was no statistical difference among the groups ($p>0.05$). After water storage, all the groups presented lower microhardness ($p<0.05$). The resins probably swelled and softened due to the contact with the alcohol solution, which reduces the attraction among the polymer chains and increases the interaction between the chains and the solvent molecules [68]. The softening was more pronounced for G_{5%} probably due to the higher amounts of filler with a hydrophilic characteristic. As ILs have adjustable properties [26], the development of a copolymerizable IL by modifying the alkyl chain may be an alternative to turn the material less susceptible to water affinity. However, it was observed that the addition of 2.5 wt.% of TiO₂QDs/BMI.BF₄ showed no influence either in the initial microhardness or in the softening in solvent.

The bonding effectiveness of adhesives to dentin was evaluated by microtensile bond strength (μ -TBS) test. Microtensile bond strength involves

variables related to the rheology and the hydrophilicity of the adhesive besides the mechanical strength of the neat material [69]. This assay assists in clinical decision making, since there is correlation between μ -TBS and the *in vivo* retention rates in class V restorations, especially in longitudinal tests [69]. In this study, there was no difference among the groups regarding the immediate test ($p>0.05$). While CG and G_{2.5%} did not change statistically after storing ($p>0.05$), G_{5%} decreased ($p<0.05$) and presented a significant lower μ -TBS ($p<0.05$), with no difference among the predominant failure mode among the groups. Although G_{5%} decreased the μ -TBS after water storage ($p<0.05$), G_{2.5%} showed no difference for CG, which was chosen as control in the present research due to have composition similar to the etch-and-rinse adhesive considered a gold-standard for adhesion in dentin and enamel [70]. Thus, in addition to improve biological properties of the experimental adhesive resin, the incorporation up to 2.5 wt.% of TiO₂BMI.BF₄ showed to be a reliable material for adhesion.

In addition to develop an adhesive resin with antibacterial activity, which may prevent the recurrence of caries, this study represents the first step to develop a new coupling agent between the QDs and the monomers, with antibacterial activity and responsible for the non-agglomeration of the nanofillers. The new type of surface modification of fillers for dentistry proposed in this study makes the NPs individually surrounded by the IL, which provides size stability in nanoscale in addition to conferring desired biological properties for health purpose.

5 Conclusion

It was concluded that it is possible to achieve polymers with non-agglomerated nanoparticles using ionic liquid as a new and versatile surfactant.

The addition of the nanopowder at 2.5 wt.% and 5 wt.% induced antibacterial activity of the adhesive with no cytotoxic effect.

No adverse effect was observed on physical, biological and chemical properties when was added up to 2.5 wt.% of $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ into the adhesive resin.

Acknowledgement

The authors gratefully acknowledge Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brazil) for the scholarship (n° 1678704) of GARCIA IM; Amanda de Souza da Motta (Department of Microbiology, Institute of Basic Health Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul) for the laboratory to perform the antibacterial analyses; Fernanda Visioli for the cytotoxicity evaluation (Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul) and Centro de Microscopia e Microanálise (CMM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul).

References

- [1] E. Roduner, Size matters: Why nanomaterials are different, Chem. Soc. Rev. 35 (2006) 583-92.
- [2] P. Mulvaney, Not all that's gold does glitter, MRS Bull. 26 (2001) 1009-14.

- [3] I.M. Garcia, V.C.B. Leitune, S.M.W. Samuel, F.M. Collares, Influence of different calcium phosphates on an experimental adhesive resin, *J. Adhes. Dent.* (2017) 1-6.
- [4] V.T. Noronha, A.J. Paula, G. Duran, A. Galembeck, K. Cogo-Muller, M. Franz-Montan, N. Duran, Silver nanoparticles in dentistry, *Dent. Mater.* 33 (2017) 1110-26.
- [5] F.R. Tay, K.M. Moulding, D.H. Pashley, Distribution of nanofillers from a simplified-step adhesive in acid-conditioned dentin, *J. Adhes. Dent.* 1 (1999) 103-17.
- [6] S. Ghosh, A.P. Das, Modified titanium oxide (TiO₂) nanocomposites and its array of applications: a review, *Toxicol. Environ. Chem.* 97 (2015) 491-514.
- [7] C.-H. Kim, E.-S. Lee, S.-M. Kang, E. de Josselin de Jong, B.-I. Kim, Bactericidal effect of the photocatalytic reaction of titanium dioxide using visible wavelengths on *Streptococcus mutans* biofilm, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 18 (2017) 279-83.
- [8] D. Pinto, L. Bernardo, A. Amaro, S. Lopes, Mechanical properties of epoxy nanocomposites using titanium dioxide as reinforcement – A review, *Constr. Build. Mater.* 95 (2015) 506-24.
- [9] J. Sun, A.M. Forster, P.M. Johnson, N. Eidelman, G. Quinn, G. Schumacher, X. Zhang, W.-I. Wu, Improving performance of dental resins by adding titanium dioxide nanoparticles, *Dent. Mater.* 27 (2011) 972-82.
- [10] S. Saber-Samandari, H. Yekta, S. Ahmadi, K. Alamara, The role of titanium dioxide on the morphology, microstructure, and bioactivity of grafted cellulose/hydroxyapatite nanocomposites for a potential application in bone repair, *Inter. J. Biol. Macromol* (2017).
- [11] J. Sun, S.S. Watson, D.A. Allsopp, D. Stanley, D. Skrtic, Tuning photocatalytic activities of TiO₂ nanoparticles using dimethacrylate resins, *Dent. Mater.* 32 (2016) 363-72.
- [12] N. Johari, H.R. Madaah Hosseini, A. Samadikuchaksaraei, Optimized composition of nanocomposite scaffolds formed from silk fibroin and nano-TiO₂ for bone tissue engineering, *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Bio. Appl: C* 79 (2017) 783-92.
- [13] J. Jordan, K.I. Jacob, R. Tannenbaum, M.A. Sharaf, I. Jasiuk, Experimental trends in polymer nanocomposites—a review, *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Bio. Appl: A* 393 (2005) 1-11.
- [14] J. Sun, E.J. Petersen, S.S. Watson, C.M. Sims, A. Kassman, S. Frukhtbeyn, D. Skrtic, M.T. Ok, D.S. Jacobs, V. Reipa, Q. Ye, B.C. Nelson, Biophysical characterization of functionalized titania nanoparticles and their application in dental adhesives, *Acta Biomater.* 53 (2017) 585-97.

- [15] X. Cai, B. Li, Y. Pan, G. Wu, Morphology evolution of immiscible polymer blends as directed by nanoparticle self-agglomeration, *Polymer* 53 (2012) 259-66.
- [16] R. Belli, S. Kreppel, A. Petschelt, H. Hornberger, A.R. Boccaccini, U. Lohbauer, Strengthening of dental adhesives via particle reinforcement, *Mech. Behav. Biomed. Mater.* 37 (2014) 100-8.
- [17] A. Wagner, R. Belli, C. Stötzel, A. Hilpert, F. A. Mullere, U. Lohbauer, Biomimetically- and hydrothermally-grown HAp nanoparticles as reinforcing fillers for dental adhesives, *J. Adhes. Dent.* 15 (2013) 413-422.
- [18] M.B. Shah, J.L. Ferracane, J.J. Kruzic, Mechanistic aspects of fatigue crack growth behavior in resin based dental restorative composites, *Dent. Mater.* 25 (2009) 909-16.
- [19] I.M. Garcia, V.C. Leitune, T.L. Kist, A. Takimi, S.M. Samuel, F.M. Collares, Quantum dots as nonagglomerated nanofillers for adhesive resins, *J. Dent. Res.* 95 (2016) 1401-7.
- [20] W. Xu, W. Liu, J.F. Schmidt, W. Zhao, X. Lu, T. Raab, C. Diederichs, W. Gao, D.V. Seletskiy, Q. Xiong, Correlated fluorescence blinking in two-dimensional semiconductor heterostructures, *Nature* 541 (2017) 62-7.
- [21] X. Lim, The nanolight revolution is coming, *Nature* 531 (2016) 26-8.
- [22] H.S. Choi, W. Liu, F. Liu, K. Nasr, P. Misra, M.G. Bawendi, J.V. Frangioni, Design considerations for tumour-targeted nanoparticles, *Nat. Nanotechnol.* 5 (2010) 42-7.
- [23] Y.-H. Hsueh, W.-J. Ke, C.-T. Hsieh, K.-S. Lin, D.-Y. Tzou, C.-L. Chiang, ZnO nanoparticles affect bacillus subtilis cell growth and biofilm formation, *PLOS ONE* 10 (2015) e0128457.
- [24] E.A. Meulenkamp, Synthesis and Growth of ZnO Nanoparticles, *J Phys. Chem. B* 102 (1998) 5566-72.
- [25] J. Dupont, J.D. Scholten, On the structural and surface properties of transition-metal nanoparticles in ionic liquids, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 1780-804.
- [26] J. Łuczak, M. Paszkiewicz, A. Krukowska, A. Malankowska, A. Zaleska-Medynska, Ionic liquids for nano- and microstructures preparation. Part 1: Properties and multifunctional role, *Adv. Colloid Interface Sci.* 230 (2016) 13-28.
- [27] H. Weingärtner, Understanding ionic liquids at the molecular level: facts, problems, and controversies, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 47 (2008) 654-670.

- [28] J. Kagimoto, K. Fukumoto, H. Ohno, Effect of tetrabutylphosphonium cation on the physico-chemical properties of amino-acid ionic liquids, *Chem. Commun.* (2006) 2254-6.
- [29] V.S. Souza, J.D. Scholten, D.E. Weibel, D. Eberhardt, D.L. Baptista, S.R. Teixeira, J. Dupont, Hybrid tantalum oxide nanoparticles from the hydrolysis of imidazolium tantalate ionic liquids: efficient catalysts for hydrogen generation from ethanol/water solutions, *J. Mater. Chem. A* 4 (2016) 7469-75.
- [30] J.N. Pendleton, B.F. Gilmore, The antimicrobial potential of ionic liquids: A source of chemical diversity for infection and biofilm control, *Int. J. Antimicrob. Agents* 46 (2015) 131-9.
- [31] I.M. Gindri, D.A. Siddiqui, C.P. Frizzo, M.A.P. Martins, D.C. Rodrigues, Ionic Liquid Coatings for Titanium Surfaces: Effect of IL Structure on Coating Profile, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7 (2015) 27421-31.
- [32] I.M. Gindri, K.L. Palmer, D.A. Siddiqui, S. Aghyarian, C.P. Frizzo, M.A.P. Martins, D.C. Rodrigues, Evaluation of mammalian and bacterial cell activity on titanium surface coated with dicationic imidazolium-based ionic liquids, *RSC Advances* 6 (2016) 36475-83.
- [33] I.M. Gindri, D.A. Siddiqui, C.P. Frizzo, M.A.P. Martins, D.C. Rodrigues, Improvement of tribological and anti-corrosive performance of titanium surfaces coated with dicationic imidazolium-based ionic liquids, *RSC Advances* 6 (2016) 78795-802.
- [34] A. Abbaszadegan, M. Nabavizadeh, A. Gholami, Z.S. Aleyasin, S. Dorostkar, M. Saliminasab, Y. Ghasemi, B. Hemmateenejad, H. Sharghi, Positively charged imidazolium-based ionic liquid-protected silver nanoparticles: a promising disinfectant in root canal treatment, *Int. Endod. J.* 48 (2015) 790-800.
- [35] M.I. Qadir, J.D. Scholten, J. Dupont, TiO₂ nanomaterials: Highly active catalysts for the oxidation of hydrocarbons, *J. Mol. Catal. A Chem.: Chemical* 383 (2014) 225-30.
- [36] F.M. Collares, F.A. Ogliari, C.H. Zanchi, C.L. Petzhold, E. Piva, S.M. Samuel, Influence of 2-hydroxyethyl methacrylate concentration on polymer network of adhesive resin, *J. Adhes. Dent.* 13 (2011) 125-9.
- [37] P.R. Schiroky, V.C.B. Leitune, I.M. Garcia, F.A. Ogliari, S.M.W. Samuel, F.M. Collares, Triazine compound as copolymerized antibacterial agent in adhesive resins, *Braz. Dent. J.* 28 (2017) 196-200.
- [38] C. Hardacre, J.D. Holbrey, M. Nieuwenhuyzen, T.G.A. Youngs, Structure and solvation in ionic liquids, *Acc. Chem. Res.* 40 (2007) 1146-1155.
- [39] J. Fuller, R.T. Carlin, H.C. de Long, D. Hawoth, Structure of 1-ethyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate: model for room. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1994) 299-300.

- [40] F.Z. Haque, R. Nandanwar, P. Singh, Evaluating photodegradation properties of anatase and rutile TiO₂ nanoparticles for organic compounds, *Optik*. 128 (2017) 191-200.
- [41] A.L. Efros, D.J. Nesbitt, Origin and control of blinking in quantum dots, *Nat. Nanotechnol.* 11 (2016) 661-71.
- [42] D. Bimberg, U.W. Pohl, Quantum dots: promises and accomplishments, *Mater. Today* 14 (2011) 388-97.
- [43] A. Veamatahau, B. Jiang, T. Seifert, S. Makuta, K. Latham, M. Kanehara, T. Teranishi, Y. Tachibana, Origin of surface trap states in CdS quantum dots: relationship between size dependent photoluminescence and sulfur vacancy trap states, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 (2015) 2850-8.
- [44] Y. Zhang, Y. Liu, C. Li, X. Chen, Q. Wang, Controlled synthesis of Ag₂S quantum dots and experimental determination of the exciton Bohr radius, *J. Phys. Chem. C*. 118 (2014) 4918-4923.
- [45] L.E. Bertassoni, J.P.R. Orgel, O. Antipova, M.V. Swain, The dentin organic matrix – limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale, *Acta Biomater.* 8 (2012) 2419-33.
- [46] S. De, G. De, In situ generation of Au nanoparticles in uv-curable refractive index controlled SiO₂-TiO₂-PEO hybrid films, *J. Phys. Chem. C* 112 (2008) 10378-84.
- [47] X. Yang, Q. Shao, L. Yang, X. Zhu, X. Hua, Q. Zheng, G. Song, G. Lai, Preparation and performance of high refractive index silicone resin-type materials for the packaging of light-emitting diodes, *J. Appl. Polym. Sci.* 127 (2013) 1717-24.
- [48] B. Sha, W. Gao, X. Cui, L. Wang, F. Xu, The potential health challenges of TiO₂ nanomaterials, *J. Appl. Toxicol.* 35 (2015) 1086-101.
- [49] R.K. SEDDON, Ionic liquids for clean technology, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 68 (1997) 351-356.
- [50] F.H. van de Sande, N.J. Opdam, P.A. Rodolpho, M.B. Correa, F.F. Demarco, M.S. Cenci, Patient risk factors' influence on survival of posterior composites, *J. Dent. Res.* 92 (2013) 78S-83S.
- [51] I. Nedeljkovic, W. Teughels, J. De Munck, B. Van Meerbeek, K.L. Van Landuyt, Is secondary caries with composites a material-based problem?, *Dent. Mater.* 31 (2015) e247-e77.
- [52] N.J. Opdam, F.H. van de Sande, E. Bronkhorst, M.S. Cenci, P. Bottenberg, U. Pallesen, P. Gaengler, A. Lindberg, M.C. Huysmans, J.W. van Dijken,

Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis, *J. Dent. Res.* 93 (2014) 943-9.

[53] F.F. Demarco, K. Collares, M.B. Correa, M.S. Cenci, R.R. de Moraes, N.J. Opdam, Should my composite restorations last forever? Why are they failing?, *Braz. Oral Res.* 31 (2017).

[54] B. Genari, V.C.B. Leitune, D.S. Jornada, M. Camassola, R.A. Arthur, A.R. Pohlmann, S.S. Guterres, F.M. Collares, S.M.W. Samuel, Antimicrobial effect and physicochemical properties of an adhesive system containing nanocapsules, *Dent. Mater.* 33 (2017) 735-42.

[55] K. Yoshihara, N. Nagaoka, Y. Maruo, H. Sano, Y. Yoshida, B. Van Meerbeek, Bacterial adhesion not inhibited by ion-releasing bioactive glass filler, *Dent. Mater.* 33 (2017) 723-34.

[56] G. LU, D. WU, R. FU, Studies on the synthesis and antibacterial activities of polymeric quaternary ammonium salts from dimethylaminoethyl methacrylate, *React. Funct. Polym.* 67 (2007) 355-366.

[57] M.R. Yeaman, N.Y. Yount, Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance, *Pharmacol. Rev.* 55 (2003) 27-55.

[58] I.M. Gindri, D.A. Siddiqui, P. Bhardwaj, L.C. Rodriguez, K.L. Palmer, C.P. Frizzo, M.A.P. Martins, D.C. Rodrigues, Dicationic imidazolium-based ionic liquids: A new strategy for non-toxic and antimicrobial materials, *RSC Advances* 4 (2014) 62594-602.

[59] G.F. Rego, M.L. Vidal, G.M. Viana, L.M. Cabral, L.F.J. Schneider, M.B. Portela, L.M. Cavalcante, Antibiofilm properties of model composites containing quaternary ammonium methacrylates after surface texture modification, *Dent. Mater.* 33 (2017) 1149-1156.

[60] J. Zhu, L. Liao, L. Zhu, P. Zhang, K. Guo, J. Kong, C. Ji, B. Liu, Size-dependent cellular uptake efficiency, mechanism, and cytotoxicity of silica nanoparticles toward HeLa cells, *Talanta* 107 (2013) 408-15.

[61] H. Meng, S. Yang, Z. Li, T. Xia, J. Chen, Z. Ji, H. Zhang, X. Wang, S. Lin, C. Huang, Z.H. Zhou, J.I. Zink, A.E. Nel, Aspect ratio determines the quantity of mesoporous silica nanoparticle uptake by a small GTPase-dependent macropinocytosis mechanism, *ACS Nano* 5 (2011) 4434-47.

[62] J. Szczepanska, T. Poplawski, E. Synowiec, E. Pawlowska, C.J. Chojnacki, J. Chojnacki, J. Blasiak, 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), a tooth restoration component, exerts its genotoxic effects in human gingival fibroblasts through methacrylic acid, an immediate product of its degradation, *Mol. Biol. Rep.* 39 (2012) 1561-74.

[63] K. Hashimoto, H. Irie, A. Fujishima, TiO₂ photocatalysis: a historical overview and future prospects, *Jpn. J. Appl. Phys.* 44 (2005) 8269.

- [64] M. Garvey, E. Panaitescu, L. Menon, C. Byrne, S. Dervin, S.J. Hinder, S.C. Pillai, Titania nanotube photocatalysts for effectively treating waterborne microbial pathogens, *J. Catal.* 344 (2016) 631-9.
- [65] E. Andrzejewska, Photopolymerization kinetics of multifunctional monomers, *Prog. Polym. Sci.* 26 (2001) 605-65.
- [66] A.C. Shortall, W.M. Palin, P. Burtscher, Refractive index mismatch and monomer reactivity influence composite curing depth, *J. Dent. Res.* 87 (2008) 84-88.
- [67] L.A. Gaglianone, A.F. Lima, L.S. Gonçalves, A.N. Cavalcanti, F.H. Aguiar, G.M. Marchi, Mechanical properties and degree of conversion of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems cured by a quartz tungsten halogen lamp and a light-emitting diode, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 12 (2012) 139-43.
- [68] L.F. Schneider, R.R. Moraes, L.M. Cavalcante, M.A. Sinhoretí, L. Correr-Sobrinho, S. Consani, Cross-link density evaluation through softening tests: effect of ethanol concentration, *Dent. Mater.* 24 (2008) 199-203.
- [69] B. Van Meerbeek, M. Peumans, A. Poitevin, A. Mine, A. Van Ende, A. Neves, J. De Munck, Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes, *Dent. Mater.* 26 (2010) e100-21.
- [70] M. Peumans, J. De Munk, A. Mine, B.V. Meerbeek, Clinical effectiveness of contemporaru adhesives for the restoration of non-cariou cervical lesions. A systematic review, *Dent. Mater.* 30 (2014) 1089-1103.

Figures

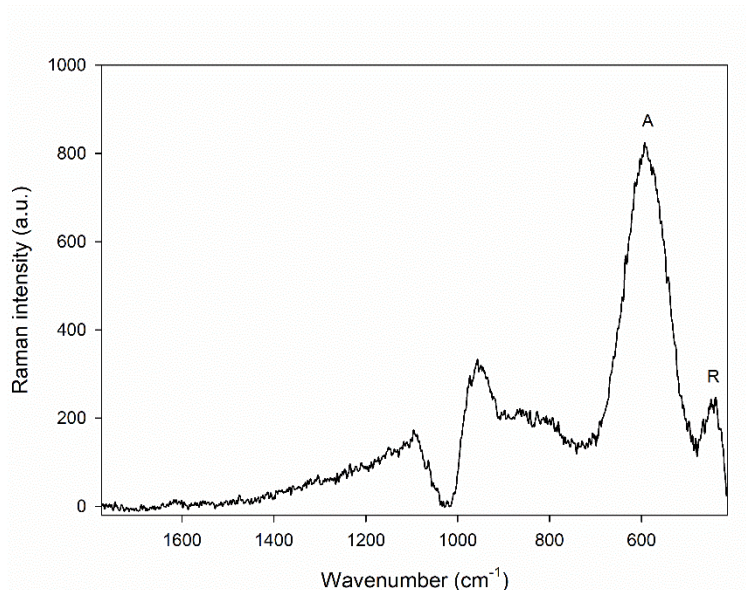


Fig. 1 Micro-Raman analysis of the powder indicating anatase (A) and rutile (R) phases.

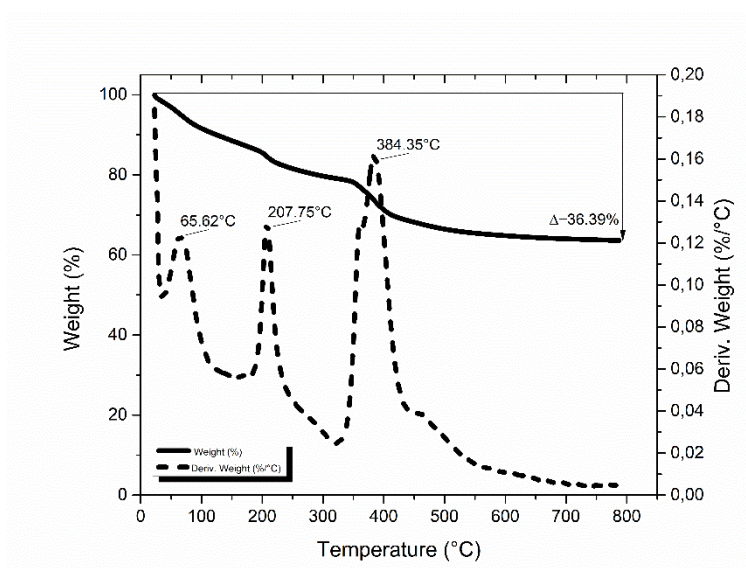


Fig. 2 Thermogravimetric analysis (TGA) and derivative TGA (DTG) curves of the nanopowder of $\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$ with three peaks of DTG. The first peak is related to solvent (probably water); the second peak is from alkyl chain and the third from imidazole group.

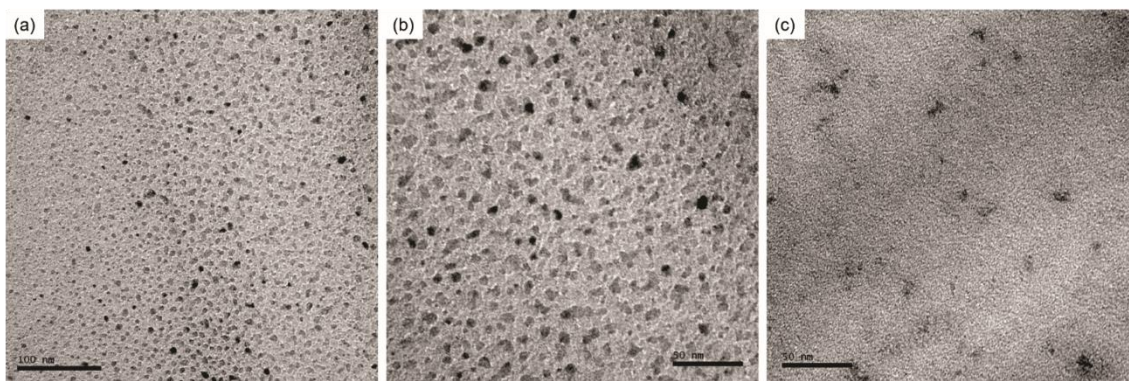


Fig. 3 Transmission electron microscopy images of the nanopowder of $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ in isopropanol **(a)** and **(b)** (x 300k magnification and x 500k magnification, respectively). Nanopowder at 5 wt.% in the polymerized adhesive (x 500k magnification) **(c)**. The nanoparticles present circular or helical morphology and well-dispersion in both mediums. Discrepancies in their sizes are observed intra-images and inter-images. Besides the same magnification, there is difference regarding the size of $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ between image (b) and (c) probably because the IL is highlighted in alcohol in (b) and mixed with the resin in (c). The size distribution was performed in (b).

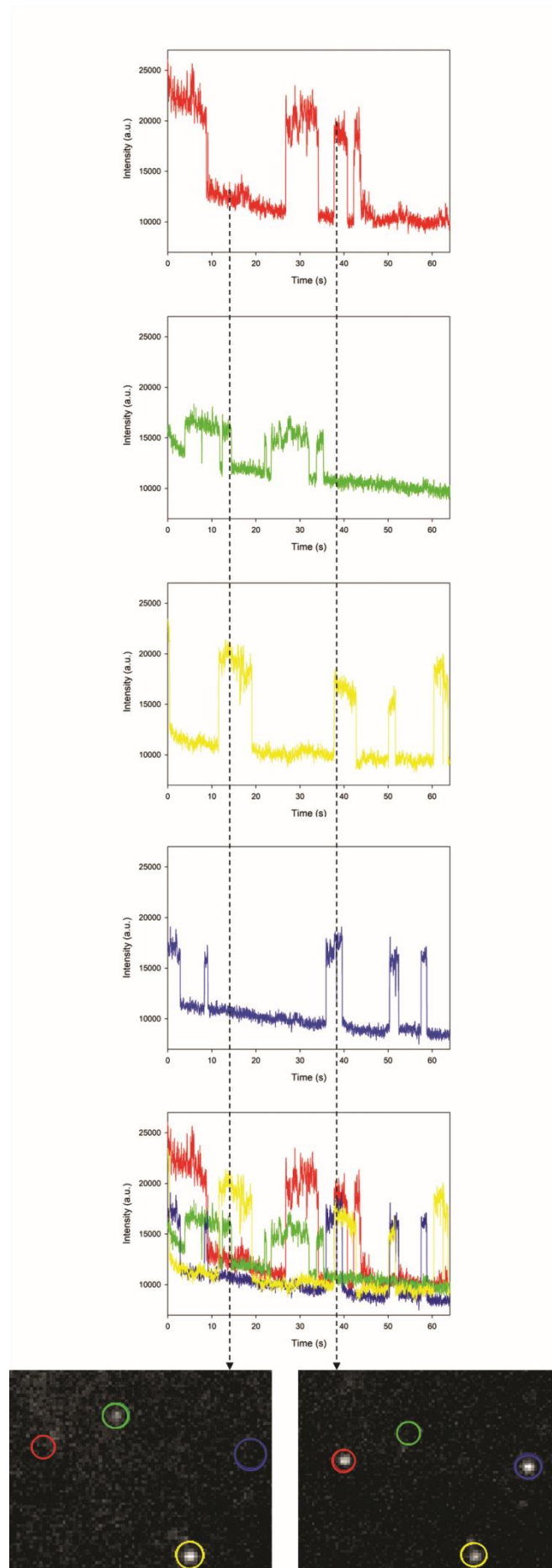


Fig. 4 Graphs of fluorescence intermittence of $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$ in the polymerized experimental adhesive with 5 wt.% of the nanofiller and images of fluorescence microscopy of the same sample. Each graph is related to the blinking observed from one single quantum dot (by color match) in the polymer.

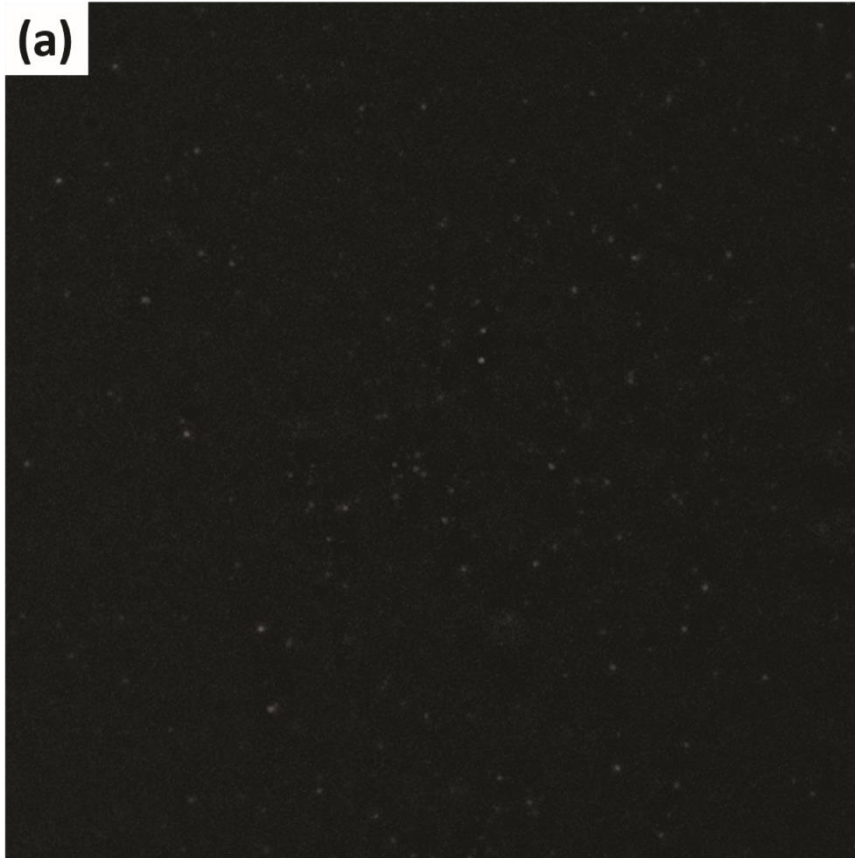
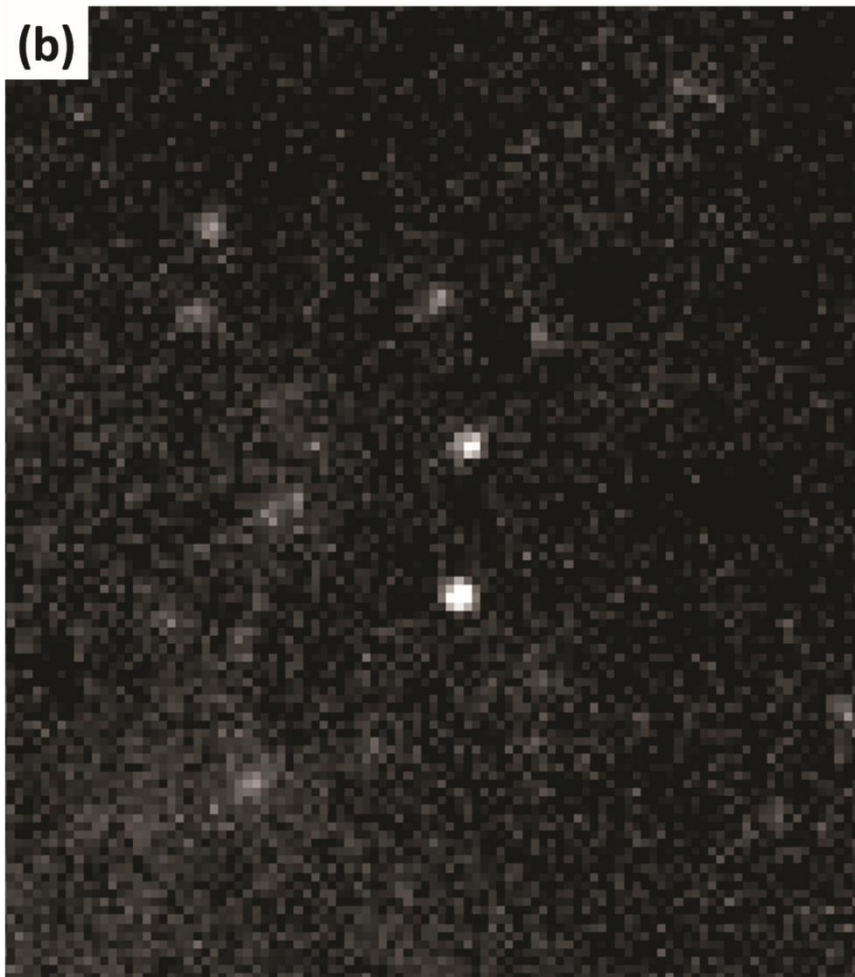
(a)**(b)**

Fig. 5 Images of fluorescence microscopy: (a) is the zoom out and (b) is the zoom in corresponding to the adhesive resin with 2.5 wt.% of $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$. An algorithm was used to count the QDs. In the group with 2.5 wt.%, there are between 40 (counting only the clearest and strongest) and 80 (counting also the less strong) QDs. In this way, there are around 5-10 billion/mL for $G_{2.5\%}$.

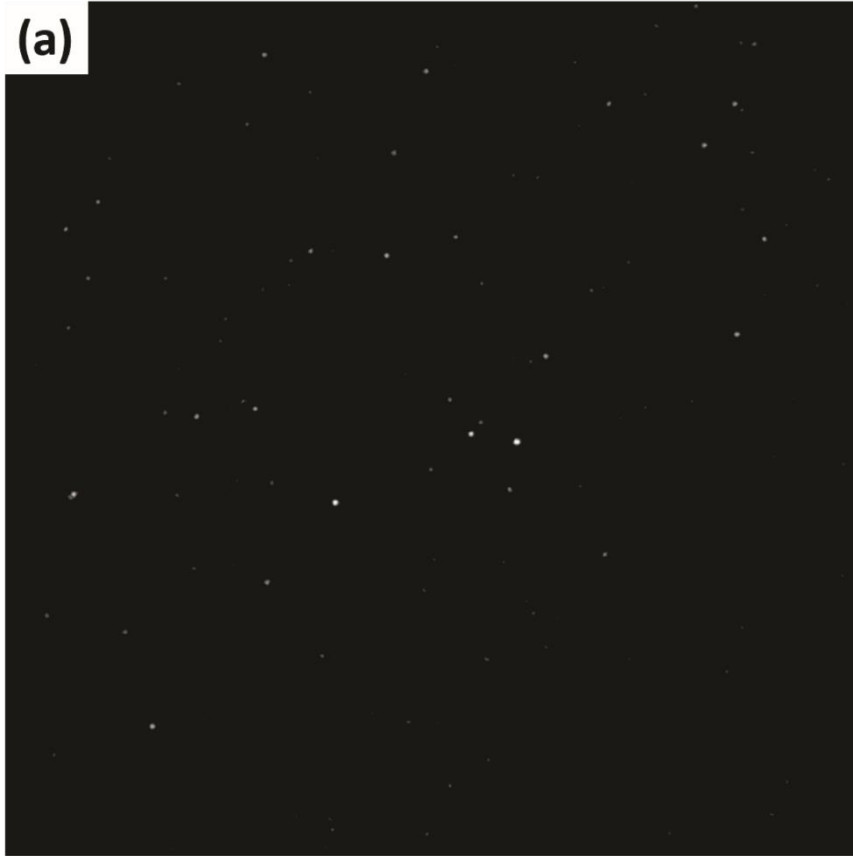
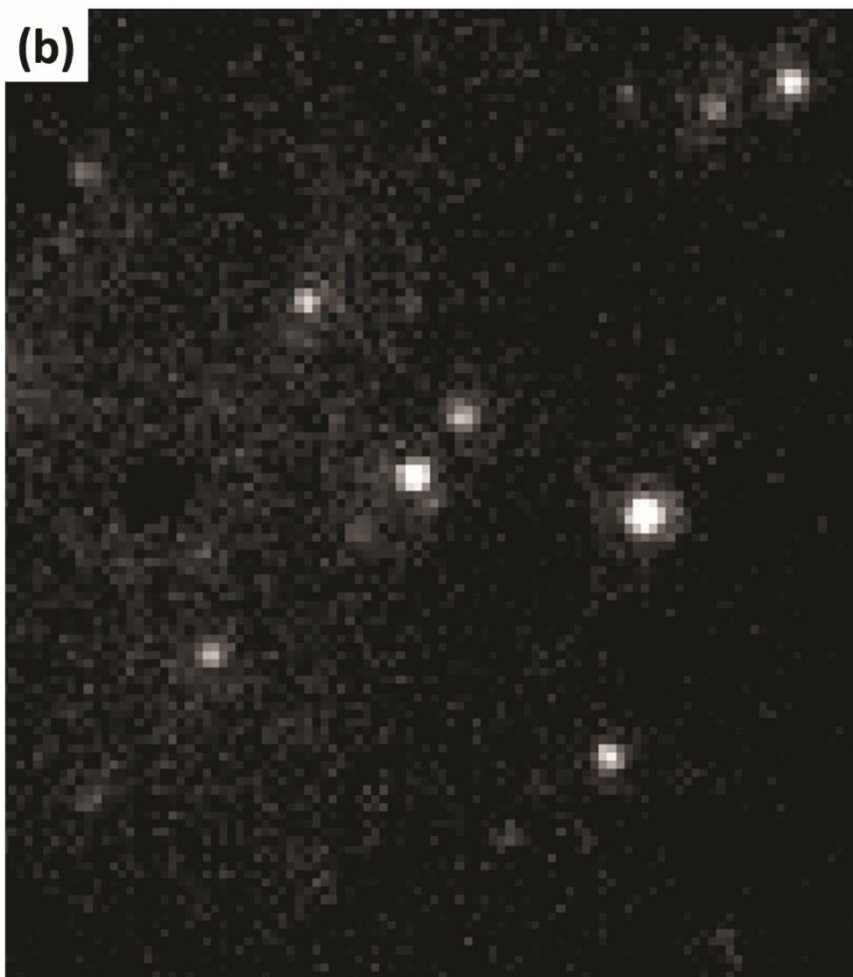
(a)**(b)**

Fig. 6 Images of fluorescence microscopy: (a) is the zoom out and (b) is the zoom in correspondent to the adhesive resin with 5 wt.% of $\text{TiO}_2\text{QDs}/\text{BMI.BF}_4$. An algorithm was used to count the QDs. In the group with 5 wt.%, there are between 70 (counting only the clearest and strongest) and 120 (counting also the less strong) QDs in 7 μL . In this way, there are around 10-16 billion/mL for $G_{5\%}$.

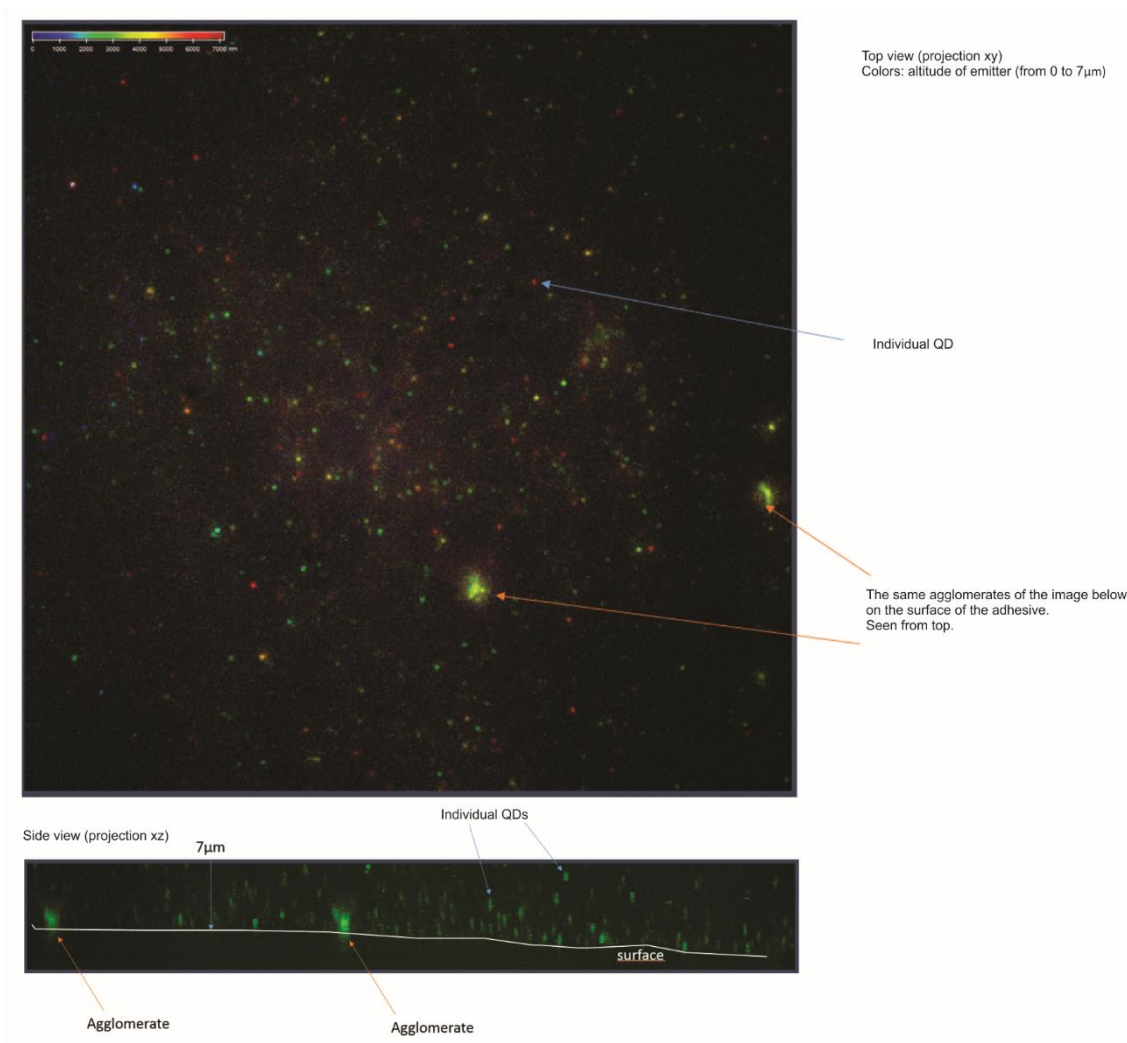
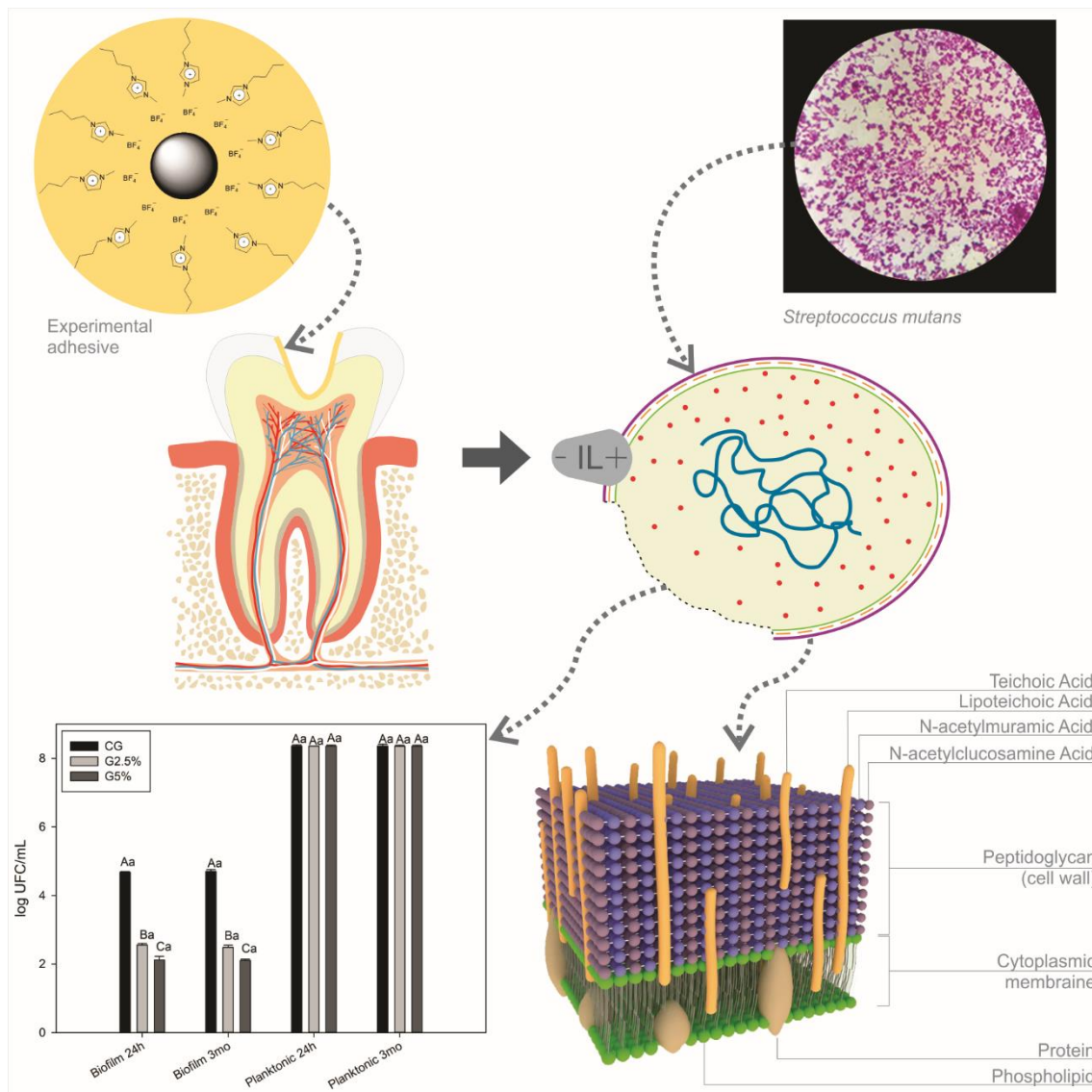


Fig. 7 Images of fluorescence microscopy of one area of G_{5%} where it was found two agglomerates on the surface of the polymer. QDs well dispersed and non-agglomerated are observed through the thickness analyzed in the top and in the side view.



Author's source.

Fig. 8 Illustrative image of the mechanism of antibacterial action of IL and a graph with mean and standard deviation values of logCFU/mL of antibacterial evaluation. The colors of the constituents of the bacteria membrane are correlated with the image illustrative above of a *Streptococcus mutans*. In orange and green are the main elements which confer negative charge to bacteria membrane. Alkyl chain and imidazole head of IL can interact with the negative charge of the cell wall and membrane, leading to cell rupture. In graph, different capital letters indicate statistical difference among groups at the same time for

biofilm or planktonic cells evaluation ($p < 0.05$). Different lowercase letters indicate statistical difference between groups with the same filler concentration at different times for biofilm or planktonic cells evaluation ($p < 0.05$).

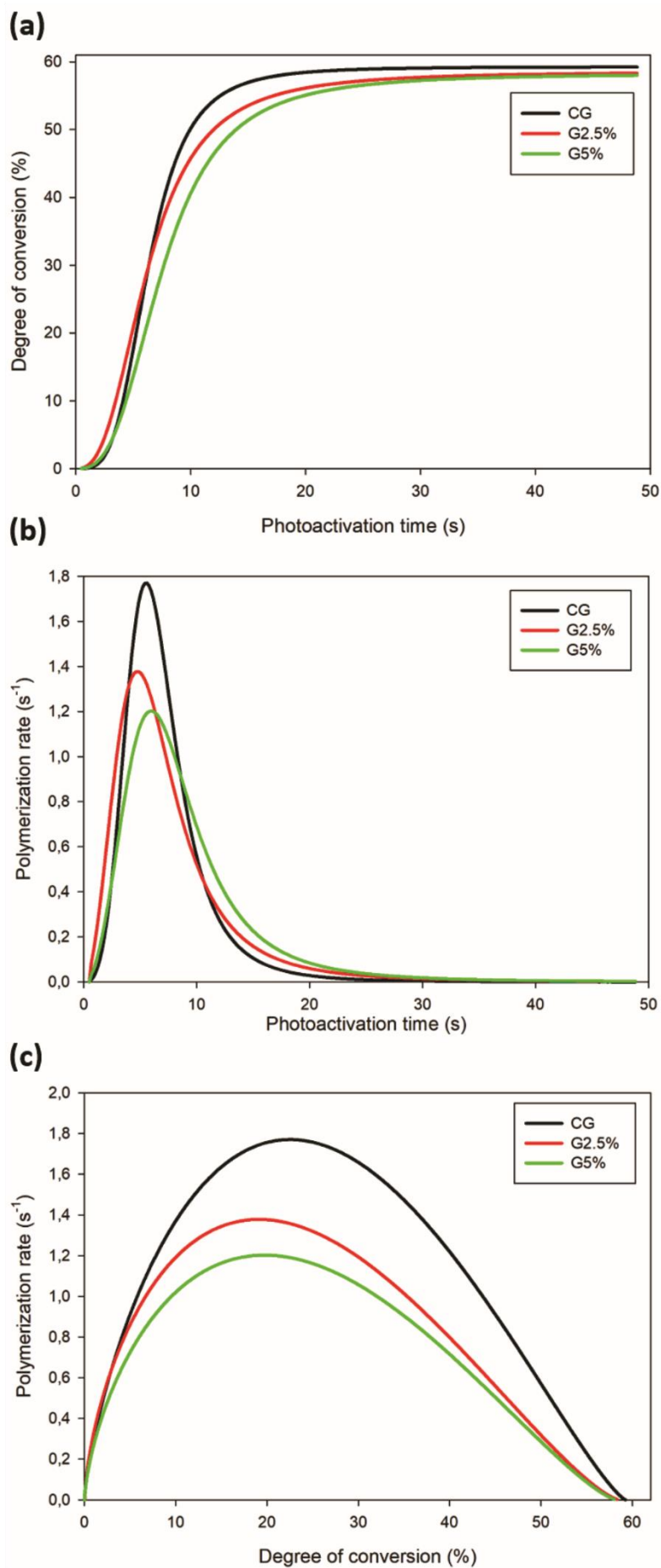


Fig. 9 Polymerization kinetics evaluation of the different adhesive groups during 50s of photoactivation. Degree of conversion *versus* photoactivation time **(a)**. Polymerization rate *versus* photoactivation time **(b)**. Degree of conversion *versus* polymerization rate **(c)**.

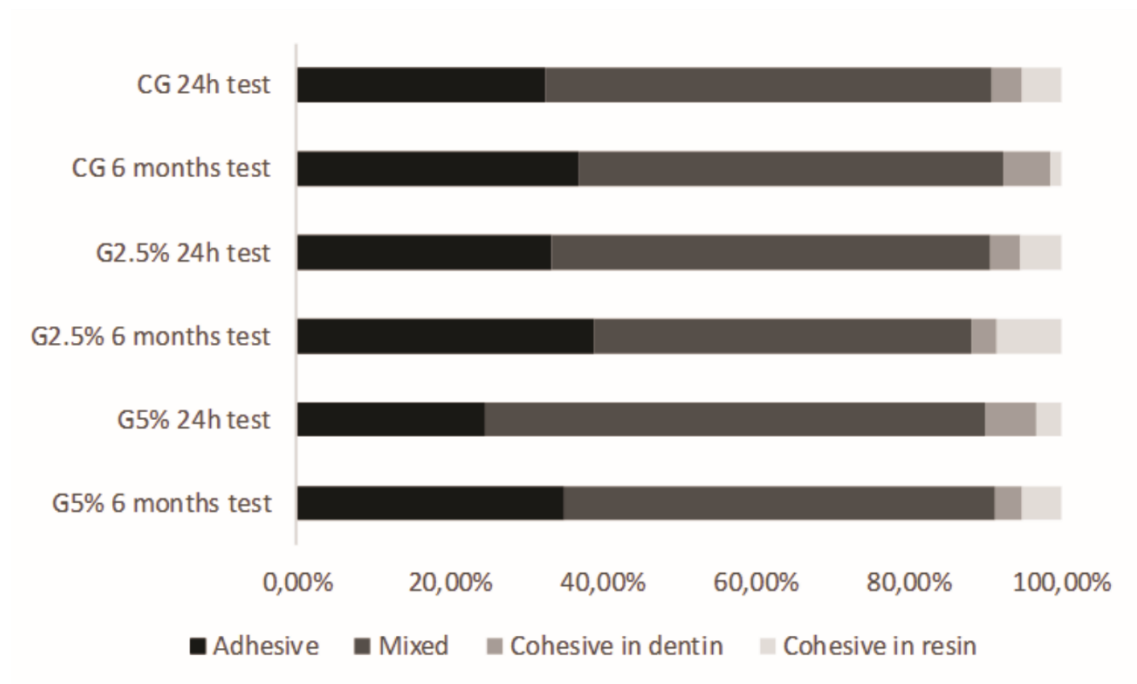


Fig. 10 Failure pattern analysis of immediate and longitudinal microtensile bond strength (μ -TBS) test of experimental adhesive resins.

Tables

Table 1. Particle size distribution of TiO₂QDs/BMI.BF₄.

Measures of central tendency and dispersion	Values
Mean (standard-deviation)	3.54 (\pm 1.08) nm
Minimum value	1.19 nm
25 th Percentile	2.68 nm
50 th Percentile	3.50 nm
75 th Percentile	4.14 nm
Maximum value	7.11 nm

Table 2. Mean and standard deviation values of degree of conversion (DC) and maximum polymerization rate (Rpmax).

Group	DC (%)	Rpmax (s ⁻¹)
CG	60.99 (\pm 0.37) ^A	1.83 (\pm 0.13) ^A
G_{2.5%}	59.81 (\pm 0.28) ^A	1.43 (\pm 0.07) ^B
G_{5%}	59.59 (\pm 0.32) ^B	1.25 (\pm 0.05) ^B

Different capital letters indicate statistical difference in the same column ($p < 0.05$).

Table 3. Mean and standard deviation values of microhardness before (KHN1) and after (KHN2) the immersion in solvent, variation of microhardness (Δ KHN⁰%) and 24 h and 6 months of microtensile bond strength (μ TBS) of adhesive resins.

Group	KHN1	KHN2	Δ KHN%	μ TBS (MPa)	
				24h test	6 months test
CG	19.97 (\pm 0.31) ^{Aa}	9.56 (\pm 0.70) ^b	52.09 (\pm 4.21) ^B	56.49 (\pm 11.23) ^{Aa}	51.60 (\pm 9.70) ^{Aa}
G_{2.5%}	19.99 (\pm 0.17) ^{Aa}	9.04 (\pm 0.58) ^b	54.78 (\pm 2.87) ^B	50.10 (\pm 13.31) ^{Aa}	47.06 (\pm 8.60) ^{Aa}
G_{5%}	20.16 (\pm 0.92) ^{Aa}	7.66 (\pm 0.77) ^b	62.07 (\pm 2.17) ^A	57.19 (\pm 10.73) ^{Aa}	39.99 (\pm 7.94) ^{Bb}

Different capital letters indicate statistical difference in the same column ($p < 0.05$).

Different lowercase letters indicate statistical difference in the same line for the same type of test ($p < 0.05$).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A longevidade dos tratamentos restauradores depende de vários fatores, como as variáveis relacionadas aos pacientes (bruxismo e risco de cárie) (VAN DE SANDE et al., 2013), sensibilidade técnica do procedimento e aspectos relacionados às propriedades dos materiais (NEDELJKOVIC et al., 2015). A adição de partículas inorgânicas aos adesivos de uso odontológico é uma das estratégias para aprimorar as propriedades mecânicas, como módulo de elasticidade, resistência à tração, resistência à fratura e resistência de união ao tecido dentinário (BELLI et al., 2014); químicas, como resistência à degradação hidrolítica (LEITUNE et al., 2013b) e biológicas, como capacidade antibacteriana (OSORIO et al., 2011) dos materiais. A recorrência de cárie é a maior responsável pela substituição de restaurações (OPDAM et al., 2014; DEMARCO et al., 2017) e, por isso, almeja-se materiais que possam reduzir o acúmulo de biofilme na interface dente/restauração.

As partículas nanométricas são muito requisitadas porque nessa escala os materiais podem assumir distintas propriedades (RODUNER, 2006) e poderiam permear pelos espaços interfibrilares da dentina (TAY; MOULDING; PASHLEY, 1999). Contudo, a adição de nanopartículas a polímeros vem sendo um desafio na formulação de compósitos, já que as mesmas são propensas a aglomerarem (JORDAN et al., 2005; CAI et al., 2012; SUN et al., 2017) e acabam não apresentando um bom molhamento pela matriz resinosa, diminuindo sua adesão (SHAH et al., 2009) e tornando o material mais suscetível à falha (YESIL et al., 2008; WAGNER et al., 2013). Além disso, quando aglomeradas, as nanopartículas se comportam como material na forma “bulk”, perdendo muitas vezes as distintas propriedades que nanomateriais apresentam (MULVANEY,

2001; RODUNER, 2006). Por isso, a síntese de nanopartículas estáveis é objetivo de pesquisas para o desenvolvimento de materiais.

Como solução, em trabalho anterior sintetizamos nanopartículas estáveis de óxido de zinco (GARCIA et al., 2016) por meio de uma rota sintética utilizada desde 1998 (MEULENKAMP, 1998), mas nunca usada com o objetivo final de formulação de um material de uso odontológico. Essas nanopartículas são chamadas de pontos quânticos (QDs) devido ao confinamento quântico tridimensional e apresentam de 1 a 10 nm (BIMBERG; POHL, 2011). Durante o desenvolvimento do trabalho anterior, alguns desafios foram observados, entre eles: o baixo rendimento das nanopartículas, a troca do solvente por monômero a baixas temperaturas (abaixo de 4°C) e principalmente a manutenção da estabilidade dos QDs (GARCIA et al., 2016). Para se manterem estáveis, os QDs sintetizados por meio da rota sol-gel proposta por Meulemkamp deveriam estar sempre envolvidos em um solvente líquido, além da baixa temperatura, o que dificultava a formulação de novos materiais, como os poliméricos.

Atualmente, outras rotas sintéticas de QDs vêm sendo propostas, com rendimento maior e produto final em forma de pó (SOUZA et al., 2016). Essas sínteses são por meio de líquidos iônicos (LIs), os quais são sais orgânicos com baixo ponto de fusão, geralmente líquidos à temperatura ambiente e viscosidade variável dependendo do cátion e ânion que os compõem (ŁUCZAK et al., 2016a; ŁUCZAK et al., 2016b). Os LIs estabilizam o material em QDs basicamente por meio de estabilização eletrostática, com o ânion voltado para a superfície positiva das NPs, e por meio da estabilização estérica (DUPONT; SUAREZ, 2006; HE; ALEXANDRIDIS, 2015). Além dos benefícios citados por rotas de síntese com LIs, esses sais apresentam atividade antimicrobiana e são muito versáteis

(PENDLETON; GILMORE, 2015), podendo ter o núcleo catiônico, a cadeia alquila ou o ânion alterados conforme o material que se deseja desenvolver no final do processo (ŁUCZAK et al., 2016a; ŁUCZAK et al., 2016b).

Existem duas formas das NPs se manterem em LIs: NPs no sal líquido, o qual apresenta túneis que as aprisionam no meio (DUPONT; SUAREZ, 2006; HE; ALEXANDRIDIS, 2015); NPs estabilizadas por camadas do sal. Essa última forma foi realizada no presente trabalho, no qual após o uso do LI como reagente e solvente da síntese, realizou-se a lavagem para remoção do excesso de LI. Ao final do processo, obtêm-se um pó de NPs envoltas por LI (QADIR; SCHOLTEN; DUPONT, 2014; SOUZA et al., 2016) e não um líquido com NPs em suspensão. Ao ressuspender o pó em outro meio, como feito em resina adesiva nesse trabalho, as partículas apresentam ótima dispersão sem sofrer aglomeração devido a estabilidade conferida pelo LI. Assim, o obstáculo em se obter QDs estáveis em forma de pó é superado, favorecendo novas possibilidades e tornando mais facilmente viável o desenvolvimento de materiais com QDs.

No presente trabalho, o grupo com maior concentração de pontos quânticos de dióxido de titânio com tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio ($\text{TiO}_2\text{QDs/BMI.BF}_4$) prejudicou algumas propriedades da resina adesiva. Isso pode ter ocorrido devido à higroscopia do LI utilizado ou também pela quantidade de partículas. A nanodimensão dos QDs e a conseqüente vasta área de superfície pode variar as propriedades do material formulado em relação àquele utilizado como controle, visto que grandes quantidades de carga podem dificultar a reticulação da resina, modificar a mobilidade das cadeias (BELLI et al., 2014) e reduzir a transmissão de luz pelo polímero fotoativável (SHORTALL; PALIN; BURTSCHER, 2008). Além disso, o compósito deve ter um agente de união

entre as partículas de carga e a matriz resinosa (MANJUNATH; RENUKAPPA; SURESHA, 2016). Apesar de não se descartar a possibilidade de ocorrerem interações entre a resina e o sal orgânico devido aos elementos carregados que o constituem, não há copolimerização entre eles, pois o LI utilizado apresenta ligações saturadas entre os carbonos da cadeia alquila. Em próxima pesquisa, planeja-se o desenvolvimento de um LI copolimerizável, ou por ligações duplas entre carbonos (C=C) ou por inserção de um grupo amina. No entanto, para ambas as concentrações (2,5 e 5% em massa) foram observados resultados positivos além da estabilidade das NPs, como manutenção do grau de conversão acima de 50% e atividade antimicrobiana sem citotoxicidade pelo ensaio realizado.

Além das propriedades avaliadas nesse trabalho, o TiO_2 é um material biativo, como demonstrado em estudos prévios ao ser incorporado a polímeros imersos em solução do tipo fluido corporal simulado (SBF) (SAITO et al., 2011; SHIMIZU et al., 2016). Portanto, as NPs sintetizadas também precisam ser avaliadas quanto a essa capacidade, visto que materiais bioativos têm sido propostos na Odontologia especialmente para remineralização biomimética. Com o advento da técnica restauradora envolvendo remoção seletiva de tecido cariado, almeja-se materiais restauradores capazes de aprimorar o processo de remineralização dentinária e as propriedades da dentina afetada por cárie (TAY; PASHLEY, 2009; GARCIA et al., 2017; TEZVERGIL-MUTLUAY et al., 2017). Contudo, as partículas avaliadas até o presente momento para remineralização biomimética não têm dimensão compatível com os espaços intrafibrilares da dentina e muitas vezes não penetram por toda a extensão da camada híbrida (TAY, F. R.; MOULDING, K. M.; PASHLEY, 1999). NPs como as propostas nesse

estudo talvez sirvam como sítios de nucleação de íons em locais onde partículas maiores não acessam (BERTASSONI et al., 2012). Mesmo envoltas pelo LI, trabalhos anteriores mostram que quando circundadas por um material relativamente hidrófilo (como o trietileno glicol dimetacrilato - TEGDMA), as partículas continuam apresentando características importantes para a bioatividade, como a liberação de íons no caso dos fosfatos (ALANIA et al., 2016). Deve-se, portanto, avaliar a bioatividade do polímero proposto nesse estudo e seu possível efeito remineralizador em dentina.

Como perspectiva futura, além do uso em adesivo convencional como proposto nesse estudo, QDs com LIs podem ser adicionados e avaliados em outros materiais. Como exemplo, em adesivos autocondicionantes, os quais oferecem vantagens em relação aos convencionais por propiciarem uma técnica menos sensível (GIANNINI et al., 2015). E ainda, para os adesivos autocondicionantes, pode-se planejar a síntese de LIs ácidos. Além de adesivos, as partículas poderiam ser testadas e avaliadas em resinas compostas, na tentativa de reduzir o problema de aglomeração de NPs (SHAH et al., 2009); em primer, com intuito de melhor carrear as NPs para os espaços inter e até intrafibrilares (BERTASSONI et al., 2012); em cimento endodôntico e solução para irrigação de canal, também com intuito de carrear as NPs para locais de difícil acesso; em resinas acrílicas, na tentativa de desenvolver materiais antifúngicos. Portanto, os chamados “átomos artificiais” associados a LIs serão ainda amplamente testados para que materiais sejam aprimorados e apresentem distintas atividades terapêuticas.

Diversos tipos de nanopartículas podem ser sintetizadas, funcionalizadas e estabilizadas por LIs. Graças a versatilidade desses sais orgânicos, o trabalho

apresentado é uma das etapas de desenvolvimento de materiais com QDs e LIs, almejando-se explorar essas partículas quanto ao tipo e quanto ao sal, adicionando-se mais anéis imidazólicos ao núcleo catiônico, alterando-se o ânion e a extensão da cadeia alquila, além de avaliar outras propriedades dos materiais desenvolvidos.

REFERÊNCIAS

ABBASZADEGAN, A. et al. Positively charged imidazolium-based ionic liquid-protected silver nanoparticles: a promising disinfectant in root canal treatment. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 48, n. 8, p. 790-800, Aug. 2015.

ALANIA, Y. et al. Bioactive composites containing TEGDMA-functionalized calcium phosphate particles: Degree of conversion, fracture strength and ion release evaluation. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 32, n. 12, p. e374-e381, Dec. 2016.

ANDRE, C. B. et al. Dentine bond strength and antimicrobial activity evaluation of adhesive systems. **J. Dent.**, Bristol, v. 43, n. 4, p. 466-475, Apr. 2015.

ANDRZEJEWSKA, E. Photopolymerization kinetics of multifunctional monomers. **Prog. Polym. Sci.**, London, v. 26, n. 4, p. 605-665, May 2001.

BELLI, R. et al. Strengthening of dental adhesives via particle reinforcement. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, Amsterdam, v. 37, Supplement C, p. 100-108, Sep. 2014.

BERTASSONI, L. E. et al. The dentin organic matrix – limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. **Acta Biomater.**, Oxford, v. 8, n. 7, p. 2419-2433, July 2012.

BIMBERG, D.; POHL, U. W. Quantum dots: promises and accomplishments. **Mater. Today**, Amsterdam, v. 14, n. 9, p. 388-397, Sep. 2011.

CAI, X. et al. Morphology evolution of immiscible polymer blends as directed by nanoparticle self-agglomeration. **Polymer**, Oxford, v. 53, n. 1, p. 259-266, Jan. 2012.

CHOI, H. S. et al. Design considerations for tumour-targeted nanoparticles. **Nat. Nano.**, London, v. 5, n. 1, p. 42-47, Jan. 2010.

COCCO, A. R. et al. A systematic review about antibacterial monomers used in dental adhesive systems: Current status and further prospects. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 31, n. 11, p. 1345-62, Nov. 2015.

COLLARES, F. M. et al. Influence of 2-hydroxyethyl methacrylate concentration on polymer network of adhesive resin. **J. Adhes. Dent.**, New Malden, v. 13, n. 2, p. 125-9, Apr. 2011.

DE, S.; DE, G. In situ generation of au nanoparticles in uv-curable refractive index controlled SiO₂-TiO₂-PEO hybrid films. **J. Phys. Chem. C**, Washington, v. 112, n.28, p. 10378-10384, July 2008.

DEMARCO, F. F. et al. Should my composite restorations last forever? Why are they failing? **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 31, suppl. 1:e56, Aug. 2017.

DUPONT, J.; SCHOLTEN, J. D. On the structural and surface properties of transition-metal nanoparticles in ionic liquids. **Chem. Soc. Rev.**, London, v. 39, n. 5, p. 1780-1804, May 2010.

DUPONT, J.; SUAREZ, P. A. Z. Physico-chemical processes in imidazolium ionic liquids. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, Cambridge, v. 8, n. 21, p. 2441-2452, Apr. 2006.

EFROS, A. L.; NESBITT, D. J. Origin and control of blinking in quantum dots. **Nat. Nanotechnol.**, London, v. 11, n. 8, p. 661-671, Aug. 2016.

FERRAZ, R. et al. Ionic liquids as active pharmaceutical ingredients. **ChemMedChem**, Weinheim, v. 6, n. 6, p. 975-985, June 2011.

FULLER, J. et al. Structure of 1-ethyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate: model for room. **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, p. 299-300, 1994.

GAGLIANONE L.A. et al. Mechanical properties and degree of conversion of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems cured by a quartz tungsten halogen lamp and a light-emitting diode. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, Amsterdam, v. 12, p. 139-43, Aug. 2012.

GARCIA, I. M. et al. Influence of different calcium phosphates on an experimental adhesive resin. **J. Adhes. Dent.**, New Malden, p. 1-6, Sep. 2017.

GARCIA, I. M. et al. Quantum Dots as Nonagglomerated Nanofillers for Adhesive Resins. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 95, n. 12, p. 1401-1407, Nov. 2016.

GARVEY, M. et al. Titania nanotube photocatalysts for effectively treating waterborne microbial pathogens. **J. Catal.**, New York, v. 344, Supplement C, p. 631-639, Dec. 2016.

GENARI, B. et al. Antimicrobial effect and physicochemical properties of an adhesive system containing nanocapsules. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 33, n. 6, p. 735-742, June 2017.

GHOSH, S.; DAS, A. P. Modified titanium oxide (TiO₂) nanocomposites and its array of applications: a review. **Toxicol. Environ. Chem.**, New York, v. 97, n. 5, p. 491-514, June 2015.

GIANNINI, M. et al. Self-etch adhesive systems: a literature review. **Braz. Dent. J.**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 3-10, Jan.-Feb. 2015.

GILMORE, B. F. et al. Enhanced antimicrobial activities of 1-alkyl-3-methyl imidazolium ionic liquids based on silver or copper containing anions. **New J. Chem.**, Paris, v. 37, n. 4, p. 873-876, Jan. 2013.

GINDRI, I. M. et al. Dicationic imidazolium-based ionic liquids: A new strategy for non-toxic and antimicrobial materials. **RSC Advances**, Cambridge, v. 4, n. 107, p. 62594-62602, Nov. 2014.

GINDRI, I. M. et al. Evaluation of mammalian and bacterial cell activity on titanium surface coated with dicationic imidazolium-based ionic liquids. **RSC Advances**, Cambridge, v. 6, n. 43, p. 36475-36483, Apr. 2016a.

GINDRI, I. M. et al. Improvement of tribological and anti-corrosive performance of titanium surfaces coated with dicationic imidazolium-based ionic liquids. **RSC Advances**, Cambridge, v. 6, n. 82, p. 78795-78802, Aug. 2016b.

GINDRI, I. M. et al. Ionic liquid coatings for titanium surfaces: effect of il structure on coating profile. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, Washington, v. 7, n. 49, p. 27421-27431, Dec. 2015.

HAQUE, F. Z.; NANDANWAR, R.; SINGH, P. Evaluating photodegradation properties of anatase and rutile TiO₂ nanoparticles for organic compounds. **Optik.**, Amsterdam, v. 128, n. Supplement C, p. 191-200, Jan. 2017.

HARDACRE, C. et al. Structure and solvation in ionic liquids. **Acc. Chem. Res.**, Washington, v.40, n.11, p.1146-1155, Nov. 2007.

HASHIMOTO, K; IRIE, H; FUJISHIMA A. TiO₂ photocatalysis: a historical overview and future prospects. **Jpn. J. Appl. Phys.**, Tokyo, v. 44, n. 12R, p. 8269, Dec. 2005.

HASHIMOTO, M. et al. Matrix metalloproteases inhibition and biocompatibility of gold and platinum nanoparticles. **J. Biomed. Mater. Res. A**, Hoboken, v. 104, n. 1, p. 209-217, Jan. 2016.

HE, Z.; ALEXANDRIDIS, P. Nanoparticles in ionic liquids: interactions and organization. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, Cambridge, v. 17, n. 28, p. 18238-18261, 2015.

HODYNA, D. et al. Efficient antimicrobial activity and reduced toxicity of 1-dodecyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ionic liquid/ β -cyclodextrin complex. **Chem. Eng. J.**, Lausanne, v. 284, n. Supplement C, p. 1136-1145, Jan 2016.

HSUEH, Y. H. et al. ZnO nanoparticles affect bacillus subtilis cell growth and biofilm formation. **PLoS One**, San Francisco, v. 10, n. 6, p. e0128457, Jun 2015.

IKEDA, T.; YAMAGUCHI, H.; TAZUKE, S. New polymeric biocides: synthesis and antibacterial activities of polycations with pendant biguanide groups. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 26, n. 2, 139-144, Aug. 1984.

ISAIFAN, R. J. et al. Improved self-cleaning properties of an efficient and easy to scale up TiO₂ thin films prepared by adsorptive self-assembly. **Sci. Rep.**, London, v. 7, n. 1, Aug. 2017.

JOHARI, N.; MADAAH HOSSEINI, H. R.; SAMADIKUCHAKSARAEI, A. Optimized composition of nanocomposite scaffolds formed from silk fibroin and

nano-TiO₂ for bone tissue engineering. **Mater. Sci. Eng. C. Mater. Bio. Appl.**, Amsterdam, v. 79, p. 783-792, Oct. 2017.

JORDAN, J. et al. Experimental trends in polymer nanocomposites-a review. **Mater. Sci. Eng. A**, Amsterdam, v. 393, n. 1, p. 1-11, Feb. 2005.

KAGIMOTO, J.; FUKUMOTO, K.; OHNO, H. Effect of tetrabutylphosphonium cation on the physico-chemical properties of amino-acid ionic liquids. **Chem. Commun.**, Cambridge, v. 4, n. 21, p. 2254-2256, June 2006.

KENAWY, E.R. et al. Biologically active polymers. V. Synthesis and antimicrobial activity of modified poly(glycidyl methacrylate-co-2-hydroxyethyl methacrylate) derivatives with quaternary ammonium and phosphonium salts. **J. Polym. Sci. A Polym. Chem., New York**, v. 40, n. 14, p. 2384-2393, July 2002.

KIM, C. H. et al. Bactericidal effect of the photocatalytic reaction of titanium dioxide using visible wavelengths on *Streptococcus mutans* biofilm. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, Amsterdam, v. 18, p. 279-283, June 2017.

LEITUNE, V. C. et al (a). Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin. **J Dent**, Kidlington, v. 41, n. 2, p. 106-113, Feb. 2013.

LEITUNE, V. C. et al (b). The addition of nanostructured hydroxyapatite to an experimental adhesive resin. **J. Dent.**, Bristol, v. 41, n. 4, p. 321-327, Apr. 2013.

LIM, X. The nanolight revolution is coming. **Nature**, London, v. 531, n. 7592, p. 26-28, Mar. 03 2016.

LOHBAUER, U. et al. Zirconia nanoparticles prepared by laser vaporization as fillers for dental adhesives. **Acta biomater.**, Oxford, v. 6, n. 12, p. 4539-4546, Dec. 2010.

LOZANO, P. et al. Green bioprocesses in sponge-like ionic liquids. **Catal. Today**, Amsterdam, v.255, p. 54-59, Oct. 2015.

LU, G.; WU, D.; FU, R. Studies on the synthesis and antibacterial activities of polymeric quaternary ammonium salts from dimethylaminoethyl methacrylate. **React. Funct. Polym.**, Amsterdam, v. 67, n. 4, p. 355-366, Apr. 2007.

ŁUCZAK, J. et al. Antimicrobial and surface activity of 1-alkyl-3-methylimidazolium derivatives. **Green Chem.**, Cambridge, v. 12, n. 4, p. 593-601, Mar. 2010.

ŁUCZAK, J. et al (a). Ionic liquids for nano- and microstructures preparation. Part 1: Properties and multifunctional role. **Adv. Colloid Interface Sci.**, Amsterdam, v. 230, p. 13-28, Apr. 2016.

ŁUCZAK, J. et al (b). Ionic liquids for nano- and microstructures preparation. Part 2: Application in synthesis. **Adv. Colloid Interface Sci.**, Amsterdam v. 227, p. 1-52, Jan. 2016.

MANJUNATH, M.; RENUKAPPA, N. M.; SURESHA, B. Influence of micro and nanofillers on mechanical properties of pultruded unidirectional glass fiber reinforced epoxy composite systems. **J. Compos. Mater.**, Lancaster, v. 50, n. 8, p. 1109-1121, June 2016.

MENG, H. et al. Aspect ratio determines the quantity of mesoporous silica nanoparticle uptake by a small gtpase-dependent macropinocytosis mechanism. **ACS Nano**, Washington D. C. v. 5, n. 6, p. 4434-4447, May 2012.

MEULENKAMP, E. A. Synthesis and growth of ZnO nanoparticles. **J Phys. Chem. B**, Eindhoven, v. 102, n. 29, p. 5566-5572, June 1998.

MOSZNER, N.; SALZ, U.; ZIMMERMANN, J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 21, n. 10, p. 895-910, Oct. 2005.

MULVANEY, P. Not all that's gold does glitter. **MRS Bull.**, Pittsburgh, v. 26, n. 12, p. 1009-1014, Dec. 2001.

NEDELJKOVIC, I. et al. Is secondary caries with composites a material-based problem? **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 31, n. 11, p. e247-277, Nov. 2015.

NIRMAL, M. et al. Fluorescence intermittency in single cadmium selenide nanocrystals. **Nature**, London, v. 383, p. 802–804, Oct. 1996.

NORONHA, V. T. et al. Silver nanoparticles in dentistry. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 33, n. 10, p. 1110-1126, Oct. 2017.

OPDAM, N. J. et al. Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 93, n. 10, p. 943-949, Oct. 2014.

OSORIO, R. et al. Zinc-doped dentin adhesive for collagen protection at the hybrid layer. **Eur. J. Oral Sci.**, Copenhagen, v. 119, n. 5, p. 401-410, Oct. 2011.

PENDLETON, J. N.; GILMORE, B. F. The antimicrobial potential of ionic liquids: A source of chemical diversity for infection and biofilm control. **Int. J. Antimicrob. Agents**, Amsterdam, v. 46, n. 2, p. 131-139, Aug. 2015.

PETERSEN, E. J. et al. DNA damaging potential of photoactivated p25 titanium dioxide nanoparticles. **Chem. Res. Toxicol.**, Washington, v. 27, n. 10, p. 1877-1884, Oct. 2014.

PEUMANS, M. et al. Clinical effectiveness of contemporaru adhesives for the restoration of non-carious cervical lesions. A systematic review. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 30, n.10, p. 1089-1103, Oct. 2014.

PINTO, D. et al. Mechanical properties of epoxy nanocomposites using titanium dioxide as reinforcement – A review. **Constr. Build. Mater.**, Amsterdam, v. 95, p. 506-524, Oct. 2015.

PRECHTL, M. H. G. et al. Imidazolium ionic liquids as promoters and stabilising agents for the preparation of metal(0) nanoparticles by reduction and decomposition of organometallic complexes. **Nanoscale**, Cambridge, v. 2, n. 12, p. 2601-2606, Dec. 2010.

QADIR, M. I.; SCHOLTEN, J. D.; DUPONT, J. TiO₂ nanomaterials: Highly active catalysts for the oxidation of hydrocarbons. **J. Mol. Catal. A Chem.**, Amsterdam, v. 383, p. 225-230, Mar. 2014.

RAGHUPATHI, K. R.; KOODALI, R. T.; MANNA, A. C. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. **Langmuir**, v. 27, n. 7, p. 4020-4028, Apr. 2011.

REGO, G. F. et al. Antibiofilm properties of model composites containing quaternary ammonium methacrylates after surface texture modification. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 33, n. 10, p. 1149-1156, Oct. 2017.

RODUNER, E. Size matters: Why nanomaterials are different. **Chem. Soc. Rev.**, London, v. 35, n. 7, p. 583-592, July 2006.

SABER-SAMANDARI, S. et al. The role of titanium dioxide on the morphology, microstructure, and bioactivity of grafted cellulose/hydroxyapatite nanocomposites for a potential application in bone repair. **Inter. J. Biol. Macromol.**, Amsterdam, Aug. 2017. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.08.031 [Epub ahead of print].

SAITO, T. et al. Effect of titania-based surface modification of polyethylene terephthalate on bone-implant bonding and peri-implant tissue reaction. **Acta biomaterialia**, v. 7, n. 4, p. 1558-1569, Apr. 2011.

SCARIOT, M. et al. Cobalt nanocubes in ionic liquids: synthesis and properties. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, Weinheim, v. 120, n. 47, p. 9215-9218, Oct. 2008.

SCHIROKY, P. R. et al. Triazine Compound as Copolymerized Antibacterial Agent in Adhesive Resins. **Braz. Dent. J.**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 196-200, Mar.-Apr. 2017.

SCHNEIDER, L. F. et al. Cross-link density evaluation through softening tests: effect of ethanol concentration. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 24, n. 2, p. 199-203, Feb. 2008.

SEDDON, K. R. Ionic liquids for clean technology. **J. Chem. Tech. Biotechnol.** Medford, v. 68, p. 351-356, 1997.

SHA, B. et al. The potential health challenges of TiO₂ nanomaterials. **J. Appl. Toxicol.**, Philadelphia, v. 35, n. 10, p. 1086-101, Oct. 2015.

SHAH, M. B.; FERRACANE, J. L.; KRUZIC, J. J. Mechanistic aspects of fatigue crack growth behavior in resin based dental restorative composites. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 25, n. 7, p. 909-16, July 2009.

SHIMIZU, T. et al. Bioactivity of sol-gel-derived TiO₂ coating on polyetheretherketone: In vitro and in vivo studies. **Acta biomater.**, Oxford, v. 35, p. 305-317, Apr. 2016.

SHORTALL, A. C., PALIN, W. M., BURTSCHER, P. Refractive index mismatch and monomer reactivity influence composite curing depth. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 87, n. 1, p. 84-88, Jan. 2008.

SOUZA, V. S. et al. Hybrid tantalum oxide nanoparticles from the hydrolysis of imidazolium tantalate ionic liquids: efficient catalysts for hydrogen generation from ethanol/water solutions. **J. Mater. Chem. A**, London, v. 4, n. 19, p. 7469-7475, Apr. 2016.

SUN, J. et al. Biophysical characterization of functionalized titania nanoparticles and their application in dental adhesives. **Acta Biomater.**, Oxford, v. 53, p. 585-597, Apr. 2017.

SUN, J. et al. Improving performance of dental resins by adding titanium dioxide nanoparticles. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 27, n. 10, p. 972-982, Oct 2011.

SUN, J. et al. Tuning photo-catalytic activities of TiO₂ nanoparticles using dimethacrylate resins. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 32, n. 3, p. 363-372, Mar. 2016.

SZCZEPANSKA, J. et al. 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), a tooth restoration component, exerts its genotoxic effects in human gingival fibroblasts through methacrylic acid, an immediate product of its degradation. **Mol. Biol. Rep.**, Amsterdam, v. 39, n. 2, p. 1561-74, Feb. 2012.

TAY, F. R.; MOULDING, K. M.; PASHLEY, D. H. Distribution of nanofillers from a simplified-step adhesive in acid-conditioned dentin. **J. Adhes. Dent.**, New Malden, v. 1, n. 2, p. 103-17, Summer 1999.

TAY, F. R.; PASHLEY, D. H. Biomimetic remineralization of resin-bonded acid-etched dentin. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 88, n. 8, p. 719-724, Aug. 2009.

TEZVERGIL-MUTLUAY, A. et al. Effects of composites containing bioactive glasses on demineralized dentin. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 96, n. 9, p. 999-1005, Aug. 2017.

VAN DE SANDE, F. H. et al. Patient risk factors' influence on survival of posterior composites. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 92, n. 7 Suppl, p. 78s-83s, July 2013.

VAN LANDUYT, K. L. et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, Guilford, v. 28, n. 26, p. 3757-3785, Sep. 2007.

VAN MEERBEEK, B. et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 26, n. 2, p. e100-21, Feb. 2010.

VEAMATAHAU, A. et al. Origin of surface trap states in CdS quantum dots: relationship between size dependent photoluminescence and sulfur vacancy trap states. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, Cambridge, v. 17, n. 4, p. 2850-2858, Jan. 2015.

WAGNER, A. et al. Biomimetically- and hydrothermally-grown HAp nanoparticles as reinforcing fillers for dental adhesives. **J Adhes Dent**, v. 15, n. 5, p. 413-422, Oct. 2013.

WALDEN, P. Molecular weights and electrical conductivity of several fused salts. **Bull. Russ. Acad. Sci.:Phys.**, St. Petersburg, 1800, 405-422, 1914.

WEINGÄRTNER, H. Understanding ionic liquids at the molecular level: facts, problems, and controversies. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.**, Weinheim, v. 47, n. 4, p. 654-670, Nov. 2008.

XU, W. et al. Correlated fluorescence blinking in two-dimensional semiconductor heterostructures. **Nature**, London, v. 541, n. 7635, p. 62-67, Jan. 2017.

YANG, X. et al. Preparation and performance of high refractive index silicone resin-type materials for the packaging of light-emitting diodes. **J. Appl. Polym. Sci.**, New York, v. 127, n. 3, p. 1717-1724, Feb. 2013.

YEAMAN, M. R.; YOUNT, N. Y. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. **Pharmacol. Rev.**, Baltimore, v. 55, n. 1, p. 27-55, Mar. 2003.

YESIL, Z. D. et al. Evaluation of the wear resistance of new nanocomposite resin restorative materials. **J. Prosthet. Dent.**, St Louis, v. 99, n. 6, p. 435-443, June 2008.

YOSHIHARA, K. et al. Bacterial adhesion not inhibited by ion-releasing bioactive glass filler. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 33, n. 6, p. 723-734, June 2017.

ZHANG, K. et al. Dual antibacterial agents of nano-silver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. **J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.**, Hoboken, v. 101, n. 6, p. 929-938, Aug. 2013.

ZHANG, Y. et al. Controlled synthesis of Ag₂S quantum dots and experimental determination of the exciton bohr radius. **J. Phys. Chem. C**, Washington, v. 118, n. 9, p. 4918-4923, Mar. 2014.

ZHU, J. et al. Size-dependent cellular uptake efficiency, mechanism, and cytotoxicity of silica nanoparticles toward HeLa cells. **Talanta**, Oxford, v. 107, p. 408-415, Mar. 2013.