



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas

Dissertação de Mestrado

“Síntese e Caracterização de Partículas Esféricas e Submicrométricas de Vidro Bioativo contendo Prata para Potencial Aplicação em Curativos Compósitos”

Autora: Amanda Maria Almeida Coco

Orientadora: Profa. Dra. Marivalda de Magalhães Pereira

Coorientadora: Dra. Talita Martins

Abril/2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas

Amanda Maria Almeida Coco

“Síntese e Caracterização de Partículas Esféricas e Submicrométricas de Vidro Bioativo contendo Prata para Potencial Aplicação em Curativos Compósitos”

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais

Orientadora: Profa. Dra. Marivalda de Magalhães
Pereira

Coorientadora: Dra. Talita Martins

Belo Horizonte - MG

Escola de Engenharia da UFMG

Abril de 2021

C667s	<p>Coco, Amanda Maria Almeida. Síntese e Caracterização de Partículas Esféricas e Submicrométricas de Vidro Bioativo contendo Prata para Potencial Aplicação em Curativos Compósitos [recurso eletrônico] / Amanda Maria Almeida Coco. – 2021. 1 recurso online (x, 72 f. : il., color.) : pdf.</p> <p>Orientadora: Marivalda de Magalhães Pereira. Coorientadora: Talita Martins.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.</p> <p>Bibliografia: f. 64-72.</p> <p>Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.</p> <p>1. Engenharia metalúrgica - Teses. 2. Materiais biomédicos - Teses. 3. Metais preciosos - Teses. 4. Sílica – Teses. 5. I. Pereira, Marivalda de Magalhães, 1960 -. II. Martins, Talita. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 669(043)</p>
-------	--



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENGENHARIA
Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Metalúrgica, Materiais e de Minas



Dissertação intitulada "**Síntese e Caracterização de Partículas Esféricas e Submicrométricas de Vidro Bioativo Contendo Prata para Potencial Aplicação em Curativos Compósitos**", área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais, apresentada pela candidata **Amanda Maria Almeida Coco**, para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas, aprovada pela comissão examinadora constituída pelos seguintes membros:

Prof^a Marivalda de Magalhães Pereira
Orientadora - PhD (UFMG)

Prof. Eduardo Henrique Martins Nunes
Dr. (UFMG)

Talita Martins
Dr^a (CNPq-UFMG)

Agda Aline Rocha de Oliveira
Dr^a (JHS)

Prof. Rodrigo Lambert Oréfice
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Metalúrgica, Materiais e de Minas/UFMG

Belo Horizonte, 16 de abril de 2021

“Us and them
And after all we're only ordinary men”
(Pink Floyd – Us and Them)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, Cida e Amadeu, e também ao meu irmão Amadeu por serem a melhor família que eu poderia ter. Sem o apoio de vocês, nada disso teria sido possível. Eu amo vocês com todo meu coração. Também gostaria de agradecer ao meu tio Lourenço por todo o suporte, e aos meus avós Amadeu, Palmira, João e Leopoldina (*in memoriam*), que eu tenho a certeza que acompanham meus caminhos no plano em que se encontram agora.

À minha orientadora, professora Marivalda, por me permitir fazer parte desse grupo de pesquisa tão incrível. Agradeço pelo exemplo de pesquisadora e por todo o auxílio em meu crescimento pessoal e profissional. À minha coorientadora Talita pela amizade que criamos ao longo desses anos. Agradeço por ter sido sua aluna e por todos os seus conselhos e direcionamentos. Eu aprendi muito trabalhando ao seu lado, e você tem toda a minha gratidão.

À minha irmã do coração e melhor amiga, Bianca, por toda a parceria, apoio, carinho e exemplo. Ao Matheus Soares, pelas conversas sempre tão profundas e extremamente necessárias. Obrigada por compartilhar comigo sua visão do universo, e sempre me trazer múltiplas visões sobre energia e espírito. Aos meus amigos do CEFET, principalmente Laura, Aninha, Ayeska, Gabi e Alemão que sempre me proporcionam momentos incríveis e muitas risadas. Não poderia esquecer dos meus amigos do anime, Gabriel e Jéssica, por serem as piores e as melhores pessoas ao mesmo tempo. Às minhas amigas Bárbara e Marília, de longuíssima data, espero que nossa amizade permaneça ainda por muitos mais anos, mesmo após a nossa saída do colégio. Ao Popov, por sempre me dar conselhos científicos, boas discussões sobre materiais e também pela amizade desde o intercâmbio. Estou morrendo de saudades de todos vocês.

Ao meu amigo Lucas David por me aguentar há tantos anos, e mesmo assim, sempre me colocar como prioridade em sua vida. Obrigada por sempre estar disposto a me ajudar. Agradeço também ao Lucas Fortunato que me ensina tanto todos os dias, e que a presença foi fundamental para que eu seguisse em frente nos momentos de maior cansaço.

Agradeço também à Dani e ao Gui, casal que sempre me espelha pela parceria e companheirismo. Mesmo com a distância física, estaremos sempre juntos.

Aos piores amigos que completam a maioria dos meus fins de semana - Hito, Otávio e Alex. Eu não podia deixar de agradecê-los por tantas horas de risada e choro ao mesmo tempo. Vocês foram sempre o meu ponto de equilíbrio entre diversão e trabalho.

Aos meus amigos do laboratório de Biomateriais: Andreia, Ingrid, Diogo, Iuri, Michelle, Layla, Luiza, Sandhra e Marcelo. Vocês são incríveis! Eu só tenho que agradecer pelo ambiente de trabalho tão leve que vocês me proporcionaram. Não tinha um dia que eu não ia à UFMG feliz por saber que trabalhava em um clima tão saudável. Um agradecimento especial ao Breno, que muito me ensinou ao longo desses dois anos, e à Priscilla, minha principal companheira de laboratório durante a pandemia de COVID-19. Nós trilhamos um árduo caminho para o desenvolvimento do nosso trabalho e, se não fosse essa parceria, tudo teria sido infinitamente mais difícil. Muito obrigada por tudo, Pri!

Ao prof. Eduardo pelas risadas, conselhos e auxílio na realização do FTIR, e ao prof. Rodrigo, por todos os ensinamentos e apoio. Agradeço também à Patrícia do MEV, sempre tão solícita, e ao Samuel do DRX, pela gentileza e realização dos ensaios. À Hellen e ao Filipe pela realização das minhas análises de ICP-OES e BET. Agradeço também pela disponibilidade da Alexandra na realização dos meus ensaios de XPS.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), e também ao PPGEM pelo suporte na execução do meu trabalho. Ao CEFET-MG por ser a minha primeira janela na Engenharia de Materiais, curso na qual sou apaixonada.

À FAPEMIG, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

Por fim, agradeço aos deuses e ao universo por me possibilitarem chegar até aqui, trilhando caminhos nos quais sou completamente realizada. Muito obrigada a todos.

RESUMO

Os biomateriais possuem como principal objetivo o suporte, reparo ou regeneração de um tecido lesionado com resposta imunológica insignificante pelo hospedeiro. Dentre as mais diversas aplicações desses materiais, tem seu emprego na assistência a lesões no tecido epitelial. Na pele, uma ferida está associada à ruptura da continuidade de seu revestimento em função de danos físicos, e que muitas vezes são acometidos por microorganismos, ocasionando processos septicêmicos e até a morte dos pacientes. Para esse uso, é desejável a formulação de um material que apresente propriedades como biocompatibilidade e bioatividade, incentivando a cicatrização local, e que carregue em si o caráter antimicrobiano. Um dos materiais com potenciais aplicações para esse fim é o Vidro Bioativo (VB), e seu emprego recente na área de tecidos moles tem como ênfase o seu potencial na aceleração de processos de cicatrização e ação como carreadores de íons terapêuticos. Durante a síntese do VB pela metodologia sol-gel, é possível a adição de agentes antibacterianos como prata (Ag), cuja efetividade já foi extensamente discutida, porém destaca-se a ausência na literatura da introdução desses íons em uma composição binária (Si-Ag). Portanto, no presente trabalho, foi realizado um estudo sistemático da obtenção de partículas esféricas e submicrométricas de VB com adição de diferentes concentrações de íons de prata (0, 1, 5 e 10% em mol) obtidos por uma metodologia sol-gel simplificada e rápida. Os ensaios de ICP indicaram a presença de Ag nos VB, e análises morfológicas de TEM, SEM e tamanho de partícula (DLS) demonstraram a obtenção do sistema binário (SiO₂-Ag₂O) com partículas esféricas na escala submicrométrica com tamanhos entre 119-220nm. Nas análises de TEM também foi possível averiguar a formação de nanopartículas de prata (AgNP), detectadas também por análise de DRX. O Potencial Zeta indicou carga superficial próxima a -30mV, demonstrando as condições de uma dispersão coloidal considerada estável. Análises de XPS evidenciaram a presença de Ag⁺, indicando a probabilidade de incorporação de íons prata na estrutura de silicato além de sua presença na forma de NP metálicas. Sendo assim, a metodologia sol-gel empregada apresenta uma maneira rápida e facilitada para a obtenção de partículas submicrométricas, esféricas e mesoporosas de VB binário (Si-Ag), com potencial aplicação como biocerâmica em curativos compósitos.

Palavras chave: vidro bioativo, sílica, prata, submicrométrico, antibacteriano.

ABSTRACT

Biomaterials have as main objective the support, repair or regeneration of an injured tissue, with an insignificant immune response. Among the most diverse applications of these materials, there is their use in assisting lesions in the epithelial tissue. In the skin, a wound is associated with the rupture of its coating continuity due to physical damage, which is often affected by microorganisms, causing septicemia processes and even the death of patients. For this use, it is desirable to formulate a material that has properties such as biocompatibility and bioactivity, encouraging local healing, and that carries an antimicrobial character. One of the possible materials with applications for this purpose is Bioactive Glass (BG), and its recent use in the soft tissue area is highlighted by its potential in the acceleration of healing processes and action as carriers of therapeutic ions. During the synthesis of BG by the sol-gel methodology, it is possible to add antibacterial agents such as silver (Ag), which effectiveness has already been extensively discussed, but we have the absence in the literature of these ions introduction in a binary composition (Si-Ag). Therefore, in the present work, a systematic study of the obtainment of spherical and submicron BG particles was carried out with the addition of different concentrations of silver ions (0, 1, 5 and 10 mol%) obtained by a simplified and fast sol-gel methodology. The ICP assays indicated the presence of Ag in the BG, and morphological analyzes of TEM, SEM and particle size (DLS) demonstrated the achievement of the binary system (SiO₂-Ag₂O) with spherical particles in the submicrometric scale with sizes between 119-220nm. In the TEM analyzes it was also possible to verify the formation of silver nanoparticles (AgNP), also detected by XRD analysis. The Zeta Potential indicated a surface charge close to -30mV, demonstrating the conditions of a colloidal dispersion considered stable. XPS analyzes showed the presence of Ag⁺, indicating the probability of silver ions incorporation in the silicate structure in addition to its presence in the form of metallic NP. Thus, the sol-gel methodology used presents a quick and easy way to obtain submicron, spherical and mesoporous particles of binary VB (Si-Ag), with potential application as bioceramics in composite dressings.

Keywords: bioactive glass, silica, silver, submicron, antibacterial.

Lista de Figuras

Figura 1: Camadas da pele.....	5
Figura 2: Estratos da Epiderme.	6
Figura 3: Diferentes composições de vidros bioativos..	14
Figura 4: Etapas envolvidas em um processamento de vidro bioativo por sol-gel que contém fósforo e cálcio em sua rede.....	16
Figura 5: Metodologias de Síntese de NP de Vidro Bioativo por Sol-gel.....	19
Figura 6: Fluxograma das etapas do Procedimento Experimental.	25
Figura 7: Fluxograma das etapas da Síntese das partículas submicrométricas de Vidro Bioativo com incorporação de íons prata.	27
Figura 8: Estruturas de vidros bioativos com cálcio e prata.	34
Figura 9: Espectros de FTIR obtidos para os VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag, VB10Ag.	37
Figura 10: Padrões de DRX correspondentes às amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag, VB10Ag.	39
Figura 11: Espectros de ampla varredura de XPS para as amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag, respectivamente.	41
Figura 12: Espectro de alta resolução Si 2p XPS das amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag.	42
Figura 13: Espectro de alta resolução O 1s XPS das amostras de VB.	44
Figura 14: Espectro de alta resolução Ag 3d XPS das amostras de VB que foram submetidas à deconvolução Gaussiana.	45
Figura 15: Imagens das partículas de VB obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) A) VB0Ag B) VB1Ag C) VB5Ag D) VB10Ag.....	47
Figura 16: Imagens das diferentes partículas submicrométricas de VB obtidas por MET. A e B: VB0Ag; C e D: VB1Ag; E e F: VB5Ag; G e H: VB10Ag.	49
Figura 17: Espectro 2 pontual da região mais escura da amostra (correspondente à spect2 na imagem acima), correspondente às AgNP das amostras de VB10Ag.	50
Figura 18: Isotermas de adsorção de N ₂ e distribuição do diâmetro médio de poros das amostras A) VB0Ag B) VB1Ag C) VB5Ag e D) VB10Ag, utilizando-se algoritmo BJH derivado das curvas de dessorção.	55
Figura 19: Perfis de liberação de íons A) Si e B) Ag e C) variação do pH em função do tempo para as amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag.	57

Lista de Tabelas

Tabela 1: Tipos de Curativos e Indicações de Uso.....	10
Tabela 2: Composição e propriedade de vidros bioativos e vitrocerâmicas em usos clínicos para aplicações médicas..	13
Tabela 3: Aplicação de Vidros Bioativos em contato com Tecidos Moles.....	19
Tabela 4: Estudo comparativo de vidros bioativos contendo prata utilizando-se a metodologia sol-gel e seus respectivos resultados antibacterianos.	22
Tabela 5: Estudo comparativo de nanopartículas de vidros bioativos contendo prata utilizando-se diferentes metodologias.	23
Tabela 6: Composição nominal (%mol) das amostras de Vidro Bioativo.....	27
Tabela 7: Composição química nominal e medida pelo método de digestão de HNO ₃ e análise por ICP-OES (%mol) dos vidros bioativos sintetizados.....	33
Tabela 8: Bandas típicas obtidas para os vidros bioativos.....	38
Tabela 9: Ângulos correspondentes a Ag e seus respectivos planos cristalinos.....	40
Tabela 10: Composição química (%atômico) semi-quantitativa das diferentes composições de VB.	46
Tabela 11: Análise dos diâmetros das partículas de VB e das NPAg por análises de DLS e MET, e valores de potencial Zeta.	51
Tabela 12: Propriedades texturais para as amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag obtidas por BET e BJH.	56

Lista de Notações

Ag NP	Nanopartículas de Prata
BET	Brunauer-Emmett-Teller
BI	Energia de Ligação (<i>binding energy</i>)
BO	Oxigênio Ligante (<i>bridging oxygen</i>)
CTAB	Brometo de Cetrimônio
DI	Água Deionizada
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
DRX	Difração de Raios-X
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva
ET	Engenharia de Tecidos
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
ICP	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NBO	Oxigênio não ligante (<i>non-bridging oxygen</i>)
NP	Nanopartículas
PZ	Potencial Zeta
SBF	Fluido Corporal Simulado (<i>simulated body fluid</i>)
Si-Ag	Sistema Silica-Prata
TEOS	Tetraetil Ortosilicato
VB	Vidro Bioativo
VBAg	Vidro Bioativo com incorporação de íons prata
VB0Ag	Vidro Bioativo com 0% (mol) de prata
VB1Ag	Vidro Bioativo com 1% (mol) de prata
VB5Ag	Vidro Bioativo com 5% (mol) de prata
VB10Ag	Vidro Bioativo com 10% (mol) de prata
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X

Sumário

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
Lista de Figuras.....	vi
Lista de Tabelas	vii
Lista de Notações.....	viii
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	4
2.1 Objetivo Geral.....	4
2.2 Objetivos Específicos.....	4
3. Revisão Bibliográfica	5
3.1 Pele.....	5
3.1.1 Lesões Cutâneas e Cicatrização	7
3.2 Curativos Tópicos	9
3.3 Vidro Bioativo.....	11
3.3.1 Histórico.....	11
3.3.2 Estrutura.....	12
3.3.3 Metodologia Sol-Gel.....	15
3.3.3.1 Síntese de nanopartículas por sol-gel.....	16
3.3.4 Propriedades e Aplicações dos VB.....	19
3.4 A Prata e suas Aplicações Biomédicas	21
4 Procedimento Experimental	25
4.1 Materiais.....	26
4.2 Síntese de Partículas Submicrométricas de Vidro Bioativo contendo Prata por Processo Sol-Gel	26
4.3 Caracterizações das partículas de VB	28
4.3.1 Estudo da Composição Química por Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES).....	28
4.3.2 Caracterização Estrutural.....	28
4.3.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	29
4.3.2.2 Difração de Raios-X (DRX)	29
4.3.2.3 Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS).....	29
4.3.3 Análises Morfológicas e Tamanho de Partícula	30
4.3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV/EDS).....	30
4.3.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET/EDS)	30
4.3.3.3 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta (PZ).....	30

4.3.4	Propriedades Texturais	31
4.3.4.1	Adsorção de Nitrogênio por BET	31
4.3.5	Avaliação da Liberação Iônica	31
5.	Resultados e Discussão.....	33
5.1.	Estudo da Composição Química por ICP-OES	33
5.1.	Caracterização Estrutural.....	36
5.1.1.	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	36
5.1.2.	Difração de Raios-X (DRX)	38
5.1.3.	Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS)	40
5.2.	Análises Morfológicas e de Tamanho de Partícula	46
5.2.1.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV/EDS).....	47
5.2.2.	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET/EDS)	48
5.2.3.	Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta (PZ).....	51
5.3.	Propriedades Texturais (BET).....	53
5.4.	Avaliação da Liberação Iônica	57
6.	Conclusões.....	62
7.	Sugestão para Trabalhos Futuros.....	63
8.	Publicações relacionadas com o Mestrado	63
	Referências.....	64

1. Introdução

Os biomateriais podem ser denominados como uma classe de materiais, de origem natural ou sintética, que visam dar assistência às funções de um tecido danificado. Historicamente, a pesquisa desses materiais implantáveis era dirigida tão somente àqueles de propriedades quase completamente inertes e que reagem minimamente com o ambiente biológico. Atualmente, esses materiais emergem com capacidades de propiciar um ambiente químico e físico para as células e com papel essencial em sua adesão, proliferação e diferenciação, auxiliando no reparo de falhas teciduais (ABBASIAN et al., 2019; BAINO et al., 2016). Dentre as aplicações dos biomateriais, tem-se a sua utilização em lesões em tecidos moles, como a pele.

A pele é considerada o maior órgão no corpo humano e atua como uma barreira entre o ambiente interno e externo do organismo (MORI; MORIMOTO; TAKEUCHI, 2017). Nesse tipo de tecido, uma ferida está associada à ruptura da continuidade de seu revestimento ou mucosa em função de injúrias, doenças ou danos físicos. Essa lesão pode ser subdividida entre feridas de natureza aguda ou crônica dependendo da duração e da natureza de seu processo de cura (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015).

Lesões agudas são associadas a feridas súbitas cujo tempo de cura esperado está geralmente entre 8 a 12 semanas. Essa faixa temporal irá depender do tamanho, da extensão e da profundidade da lesão causada na epiderme e na derme. Já as feridas crônicas estão associadas a processos não normais de cicatrização e que progridem de maneira desordenada. Esse tipo de ferimento é resultante, por exemplo, de queimaduras e úlceras de pressão (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015). Essas feridas se tornaram nos últimos anos um dos grandes desafios à saúde pública e também um grande causador de amputação de membros. É estimado que feridas crônicas atinjam de 2 a 4,5 milhões de pessoas nos Estados Unidos, ocasionando um custo econômico de US\$ 25 bilhões por ano. Valores tão elevados estão associados ao envelhecimento da população mundial e a maior incidência de doenças como a diabetes, aumentando-se a necessidade de investimentos na área da cicatrização de feridas (DERAKHSHANDEH *et al.*, 2018).

Em um comércio em crescente ascensão, a tecnologia que envolve o cuidado de feridas pode alcançar até US\$15 bilhões, enquanto a ciência de prevenção de cicatrizes de pele representa valores próximos de US\$12 bilhões (HAN; CEILLEY, 2017). Mesmo com o enorme montante que envolve o mercado de cuidado de ferimentos e da prevenção de cicatrizes, e com números superiores a 3000 tipos de curativos disponíveis no mercado, ainda não há relatos de um recobrimento que possa ser considerado ideal e que atenda todos os requisitos em aplicações de lesões crônicas (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015). Considerando-se valores tão elevados no mercado de cuidado de feridas, ressalta-se a necessidade do desenvolvimento de um novo material curativo capaz de superar fatores que interferem no processo normal de cicatrização, auxiliando pacientes e profissionais responsáveis pelo tratamento de feridas.

Um dos materiais estudados na regeneração do Tecido Epitelial é o vidro bioativo (VB), principalmente cujo íon formador é a sílica (Si). Embora sua maior gama de aplicações encontra-se na reparação e regeneração óssea em função de suas propriedades osteocondutivas, estudos de diversos pesquisadores como Miguez, Hensch e Boccaccini (2015), e também de BAINO *et al.* (2016) relatam que as aplicações do VB na área de tecidos moles têm sido cada vez mais estudadas. Como exemplo, tem-se o uso desses materiais em reparações neuromusculares, córnea artificial, implantes orbitais, engenharia de tecidos epitelial e cardíaco, tratamento de gastrites, dentre outras (BAINO *et al.*, 2016; ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Outros estudos complementares, realizados por Lin e seus colaboradores (2012) e Groether *et al.* (2013) indicaram que materiais inorgânicos contendo Si, como pomadas de VB e sílica-gel, apresentaram resultados de cicatrização mais rápidos e eficientes quando utilizados em aplicações epiteliais (QUIGNARD *et al.*, 2017).

Além das propriedades biológicas atreladas à sílica, ressalta-se a necessidade da contenção de possíveis infecções bacterianas no leito das lesões da pele. Feridas crônicas e pós-cirúrgicas exibem longos tempos de cicatrização. Como exemplo, as queimaduras geralmente apresentam elevados níveis de exsudato, proporcionando ambiente úmido e rico em nutrientes que facilitam o crescimento bacteriano. Ressalta-se também que a contaminação por bactérias em ferimentos na pele é o causador de elevados índices de mortalidade (SIMÕES *et al.*, 2018). Dessa maneira, visando um

material ainda mais completo e objetivando melhorias nas características antimicrobianas do curativo, se faz necessário a adição de agentes antibacterianos durante a síntese do vidro bioativo. Diversos estudos já relataram a efetividade da atividade antibacteriana da prata (Ag) (VERNÈ *et al.*, 2005), e estudos de Bellantone, Williams e Hench (2002) e Wilkinson (2018) e seus colaboradores relataram que a introdução da Ag se torna uma abordagem viável para conferir uma resistência antimicrobiana em materiais e dispositivos médicos, e que a produção dos VB_{Ag} via metodologia sol-gel permite a obtenção de um sistema controlado para a liberação desse íon (BELLANTONE; WILLIAMS; HENCH, 2002; WILKINSON *et al.*, 2018). Além de sua forma iônica na rede silicato, é possível que haja a possível formação de nanopartícula de prata metálica durante a síntese do VB, e mesmo na forma de NP, ressalta-se o efeito antibacteriano prolongado desse material, sendo utilizado em diversas aplicações médicas como em curativos, bisturis e agulhas (CHEN *et al.*, 2021; CHERNOUSOVA; EPPLE, 2013; ZHENG *et al.*, 2019)

Diante das necessidades citadas, o presente trabalho visa o desenvolvimento de um material capaz de ser utilizado no mercado atual de feridas crônicas, com ação bioativa, auxiliando no processo de cicatrização epitelial, e que traga um caráter antimicrobiano, protegendo o leito da ferida de uma contaminação local. Em combinação, a obtenção das partículas submicrométricas de elevada área superficial proporciona um aumento da superfície de contato entre o material e o leito da ferida, potencializando as propriedades supracitadas. Destaca-se a produção do vidro bioativo binário com incorporação de íons de prata por abordagens reprodutíveis e acessíveis. Até o momento não é de nosso conhecimento o estudo sistemático da introdução de diferentes concentrações de íons prata em partículas submicrométricas de VB (sistema binário SiO₂-Ag₂O), obtidas pela metodologia sol-gel, para potencial aplicação em lesões cutâneas. Enfatiza-se a capacidade de proliferação e migração de células de fibroblastos apresentado pelo vidro bioativo à base de sílica, auxiliando em processos de cicatrização, e o caráter antimicrobiano dos íons de prata visando a produção de materiais com características adequadas para aplicações em lesões epiteliais.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de partículas esféricas e submicrométricas de Vidro Bioativo, a partir de um sistema binário sílica-prata, e a investigação do impacto de diferentes concentrações desse íon na estrutura do vidro para potencial aplicação dessa biocerâmica em materiais curativos.

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir um sistema binário de partículas submicrométricas de VB com incorporação de íons prata, nas proporções de 0, 1, 5 e 10% em mol, através de uma rota sol-gel simplificada;
- Avaliar a Composição Química dos VB obtidos por Espectroscopia de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) e, de maneira complementar, utilizando-se a Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) acoplado à Microscopia Eletrônica de Transmissão;
- Caracterizar a morfologia e o tamanho das partículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta (PZ);
- Analisar as amostras texturalmente por BET;
- Caracterizar as partículas estruturalmente por Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios-X (DRX) e Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS).
- Avaliar a liberação iônica por ICP-OES, com as amostras em triplicata, em diferentes tempos (0, 4, 8, 24h, 3, 7 e 14 dias).

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Pele

A pele é considerada o maior órgão no corpo humano e atua como uma barreira entre o ambiente interno e externo do organismo e, considerando-se o tecido epitelial, tem-se que seu peso consiste em cerca de 15% em relação ao total corporal do ser humano quando adulto (VIG *et al.*, 2017). Dentre as diversas funções que esse tecido possui, destaca-se seu papel na regulação da temperatura corpórea e na prevenção de perda de líquido, atuando em conjunto com sistema nervoso e anexos, dentre eles os folículos capilares e as glândulas sudoríparas e sebáceas (MORI; MORIMOTO; TAKEUCHI, 2017).

Esse órgão é composto por três camadas denominadas de epiderme, derme e hipoderme ou tecido subcutâneo (LOSQUADRO, 2017), como pode ser visto na Figura 1.

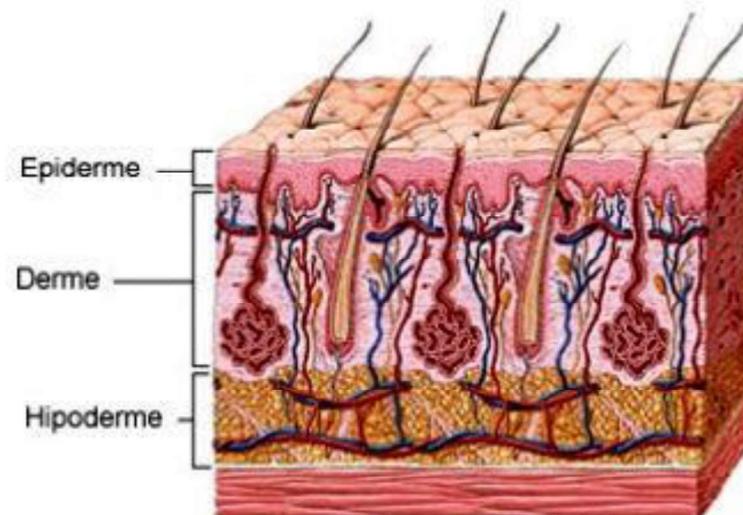


Figura 1: Camadas da pele. Fonte: Magalhães (2018).

A epiderme é a camada mais externa da pele, cuja composição primária baseia-se na presença de queratinócitos, seguida por melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. Essa parte do tecido é responsável pela umidade, textura e coloração da pele. A epiderme é subdividida em quatro estratos, cujas camadas representam a

maturação dos queratinócitos da camada mais profunda até a mais superficial da pele. Esse processo de queratinização permite o desenvolvimento de filamentos da proteína queratina, responsável pela composição primária da epiderme (LOSQUADRO, 2017).

A camada mais profunda desse tecido é denominada de estrato basal, composto por células tronco (células basais), geralmente com a espessura de apenas uma célula. Nessa região inicia-se a divisão para formação dos queratinócitos. A segunda camada é denominada de estrato espinhoso, em que os queratinócitos começam a formar ligações intercelulares, migrando então para a terceira camada, denominada de granulosa. Nesse estrato, os filamentos de queratina começam a se agregar, resultando em estruturas mais complexas. Por fim, tem-se a camada mais externa e compacta da epiderme, denominada de estrato córneo e local de conclusão da queratinização (LOSQUADRO, 2017). A estratificação da epiderme pode ser visualizada na Figura 2.

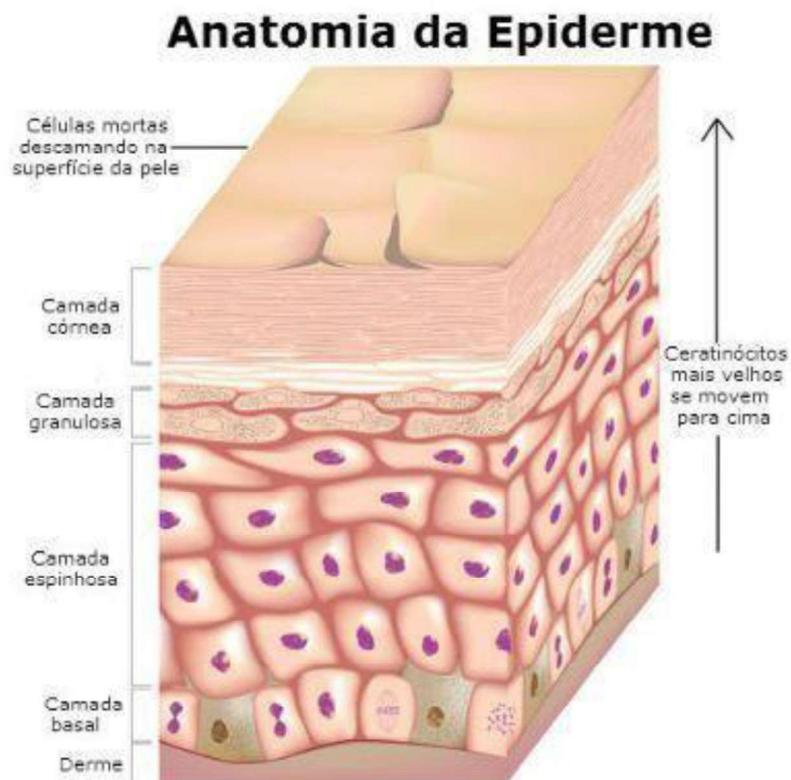


Figura 2: Estratos da Epiderme. Fonte: Magalhães (2018).

Entre a epiderme e a derme, tem-se uma região de junção. A camada basal da

epiderme (o estrato mais profundo) é conectada à derme a partir de uma membrana base denominada de junção dérmico-epidérmica (LOSQUADRO, 2017).

Posteriormente à junção intermediária, inicia-se a derme. Esse tecido está situado entre a epiderme e a hipoderme (tecido subcutâneo), e é responsável pela variação de espessura presente na pele. Sua composição primária é à base de colágeno, mas também contém elastina, nervos, vasos sanguíneos e glândulas sudoríparas. Nesse tecido, a célula primária dérmica são os fibroblastos, que produzem colágeno, elastina e outras proteínas relevantes ao tecido (LOSQUADRO, 2017).

Por fim, tem-se a camada mais interna da pele, denominada de hipoderme ou tecido subcutâneo. Essa região é composta basicamente de tecido conjuntivo adiposo (GUERRA; BELINHA; JORGE, 2018) e é responsável pela conexão entre a pele e os tecidos mais internos, como ossos e músculos (LOSQUADRO, 2017).

A conexão eficaz entre a pele e os tecidos mais internos, e a manutenção correta dos componentes da matriz extracelular, das populações celulares, de mecanismos reguladores e do sistema vascular da pele é essencial para o funcionamento eficaz do tecido epitelial e da homeostase corporal (GUERRA; BELINHA; JORGE, 2018). Em tecidos saudáveis, os vasos sanguíneos maduros são cercados por uma membrana basal, de composição principalmente à base de colágeno tipo IV, em ambiente propício à sobrevivência das células endoteliais e que permite a estabilidade dos vasos sanguíneos (CARMELIET, 2003). Em situações como a cicatrização de feridas, vasos inativos são expostos a fatores pró-angiogênicos. A angiogênese é um processo fisiológico de extrema relevância durante a cicatrização de ferimentos, uma vez que fornece o restabelecimento do fluxo sanguíneo normal e, conseqüentemente, permite o intercâmbio suficiente de oxigênio e nutrientes, e a remoção de resíduos metabólicos (CARMELIET; JAIN, 2011). Uma falha na regulação do crescimento de vasos sanguíneos pode causar lesões cutâneas, como úlceras (GUERRA; BELINHA; JORGE, 2018).

3.1.1 Lesões Cutâneas e Cicatrização

As lesões cutâneas estão associadas à ruptura da continuidade do revestimento

da pele ou mucosa em função de danos externos. Esses tipos de lesões podem ser subdividida em feridas de natureza aguda ou crônica dependendo da duração e da natureza de seu processo de cura (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015).

Lesões agudas são associadas às feridas súbitas cujo tempo de cura esperado está geralmente no período entre 8 a 12 semanas. Essa faixa temporal irá depender do tamanho, da extensão e da profundidade da lesão causada na epiderme e na derme (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015). Já as feridas crônicas estão associadas a processos de cura que progridem de maneira não normal. Esse tipo de ferimento é resultante, por exemplo, de queimaduras e úlceras de pressão (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015).

Após a ocorrência da lesão tecidual, inicia-se seu processo de reparação. A cicatrização de um ferimento é complexa e dinâmica, e a regeneração do tecido segue basicamente quatro fases: (i) imediatamente após a lesão, tem-se a coagulação e hemostase; (ii) seguida pela inflamação e inchaço da região; (iii) como consequência, tem-se a proliferação, em que há a formação de novos tecidos e vasos sanguíneos e, por fim, (iv) a maturação, em que há a remodelação tecidual. Essas reações ocorrem em cascata, de maneira ordenada, e dependem do tipo de ferida, dos tipos de material empregados no curativo e das condições patológicas (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015).

A cicatrização em feridas é desregulada quando ocorrem ferimentos crônicos. Diversos fatores, locais e sistêmicos, podem afetar negativamente a cicatrização do ferimento. Dentre esses fatores, têm-se o aumento de pressão local, infecção, baixa nutrição e inflamação crônica. Para que seja possível uma cicatrização bem sucedida, é necessária a oxigenação adequada no leito da ferida, assim como a entrega de nutrientes. Dessa maneira, o tecido do ferimento deve ser vascularizado, evitando-se também a carga bacteriana e minimizando-se a formação anormal de exsudato. Além disso, os ferimentos de origem crônica apresentam um ambiente hipóxico, propício e rico em proteínas, acarretando em elevado risco de infecções bacterianas (DERAKHSHANDEH *et al.*, 2018).

Dessa maneira, o tratamento ideal para cuidado das lesões cutâneas possui diversas condições que podem ser subdivididas em: i) ambiente úmido, limpo e quente;

ii) proteção do leito da ferida contra traumas mecânicos e infiltrações bacterianas; iii) controle do nível de exsudato; iv) permeabilidade gasosa; v) promoção de um isolamento térmico; vi) ser não citotóxico e não alergênico; vii) liberação de compostos terapêuticos com perfil ideal de tempo (DERAKHSHANDEH *et al.*, 2018). Esses requisitos devem ser atendidos na confecção de um material à ser empregado como Curativo Tópico.

3.2 Curativos Tópicos

Com o envelhecimento gradual da população mundial e a redução natural da capacidade de funcionamento do corpo, a falha da funcionalidade de tecidos e órgãos resulta em doenças e lesões, sendo considerado um problema atual e relevante. Alguns métodos de tratamento para contornar essa problemática incluem dispositivos mecânicos, terapias, próteses artificiais, enxertos (humanos ou xenotransplantes) e reparos cirúrgicos. Ainda assim, os resultados com essas abordagens nem sempre são completamente satisfatórios para o reparo ou regeneração tecidual (ABBASIAN *et al.*, 2019).

Uma das ferramentas mais estudadas com o intuito de dar assistência às funções de um tecido danificado são os biomateriais, que podem ser de origem natural ou sintética. Dentre suas especificidades, é necessário que o biomaterial a ser aplicado seja biocompatível, biodegradável, possua propriedades mecânicas adequadas à região lesionada, com arquitetura adequada e com uma tecnologia de manufatura viável comercialmente e reprodutível (O'BRIEN, 2011).

O tratamento adequado de feridas epiteliais consiste em uma prioridade internacional, uma vez que a pele atua como proteção contra agentes externos, auxiliando na termorregulação, equilíbrio de fluidos, produção de vitamina D e componentes do sistema imunológico, dentre outras funções (HARVEY, 2005). Além disso, doenças crônicas nesse tecido, como úlceras diabéticas nos pés e por pressão, representa um montante significativo aos gastos públicos no âmbito da saúde (DERAKHSHANDEH *et al.*, 2018).

No tratamento dessas feridas, a seleção do curativo depende das características

do ferimento e de sua aplicabilidade como recobrimento (ABDELRAHMAN; NEWTON, 2011). A Tabela 1 descreve diferentes usos de curativos no mercado e suas aplicações dependendo da região lesionada.

Tabela 1: Tipos de Curativos e Indicações de Uso. Fonte: Adaptado de Abdelrahman; Newton (2011).

Tipo de Produto	Indicações de Uso	Exemplo de Produtos
Filmes Semipermeáveis	Feridas superficiais e secas. Pode ser usado como curativo secundário. Não consegue lidar com exsudatos	C View; Tegaderm; Hydrofilm; Opsite
Contato não-aderente	Onde existe risco de adesão. Pode ser usado como uma camada de transporte para géis ou pomadas	NA Ultra; Mepitel; Atrauman
Espumas	Feridas exsudativas moderadas a pesadas. Pode ser usado como curativo primário ou secundário. Pode ser usado como enchimento de cavidades	Allevyn; Biatain; Mepilex; Tielle
Hidrogel	Indicado para feridas secas, necróticas e espessas	Activheal; Intrasite; Actiform Cool
Antimicrobiano	Feridas infectadas e criticamente colonizadas. Pode ser usado em feridas molhadas e secas	Acticoat; Iodoflex; Inadine; Honey

No campo da cicatrização de feridas e na regeneração do tecido epitelial, conquistas acerca da biologia celular e molecular acarretaram em avanços promissores nas últimas três décadas. Diversos produtos estão em desenvolvimento enquanto outros já estão disponíveis comercialmente, e estima-se que mais de 200.000 pacientes já foram tratados com produtos destinados a pele provenientes da Engenharia de Tecidos (ET) (ZHONG; ZHANG; LIM, 2010).

Na esfera da ET, existem diversos biomateriais empregados como curativos e que ultrapassam sua aplicação somente como recobrimento na promoção de uma barreira física para a proteção da ferida (ZHONG; ZHANG; LIM, 2010). Tanaka, Nagate e Matsuda (2005) relataram que a gelatina, proteína derivada do colágeno, foi investigada como uma matriz desidratada para a ET epiteliais, na forma de filme ou espumas. Como resultado na cicatrização de feridas, esses materiais promoveram uma

epitelização e a formação do tecido granular.

Ainda que estejam em amplo estudo, existem falhas associadas aos curativos tópicos em uso no mercado, como por exemplo, o não impedimento da contração do tecido lesado, bem como da formação de cicatrizes hipertróficas, além do elevado custo dos curativos, gerando a necessidade de estudos a fim de criarmos novas combinação de diferentes biomateriais e técnicas de fabricação na tentativa de se eliminar esses problemas nos processos de cicatrização (ZHONG; ZHANG; LIM, 2010).

Considerando-se a necessidade na formulação de materiais aplicáveis para a regeneração da pele, tratamentos baseados em materiais inorgânicos têm sido cada vez mais empregados em aplicações da engenharia de tecidos, como vidros bioativos à base de silicatos (WANG; CHANG; WU, 2018). Estudos de Jugdoahsingh e seus colaboradores (2013) relataram que a liberação de Si de materiais curativos pode estar associada à sua metabolização na forma de ácido ortossilícico em humanos. Pesquisas complementares de Hanasano et al. (2004) indicaram que o Si atinge as células epidérmicas basais, auxiliando na regulação de expressão de fator de crescimento de fibroblastos (QUIGNARD et al., 2017). Wang e seus colaboradores (2019) demonstraram que, durante os processos de degradação de biocerâmicas à base de silicato, os íons de Si liberados demonstraram uma aceleração em processos de cicatrização de feridas diabéticas (WANG; CHANG; WU, 2018). Ressalta-se também a capacidade dos vidros de serem dopados com óxidos metálicos como estratégia para a entrega controlada de íons terapêuticos *in situ*, auxiliando, por exemplo, na prevenção de infecções (BAINO et al., 2016). Dessa maneira, os vidros bioativos emergem como material promissor em aplicações em tecidos moles.

3.3 Vidro Bioativo

3.3.1 Histórico

Em 1969, os pesquisadores Hench, Splinter, Allen e Greenlee foram

responsáveis pelo desenvolvimento de vidros com composições de $\text{Na}_2\text{O} - \text{CaO} - \text{P}_2\text{O}_5 - \text{SiO}_2$ capazes de formar uma ligação forte e aderente com o osso. Com essa evidência, iniciou-se uma nova era para os Biomateriais, em que se expandiram os estudos de materiais que eram caracterizados como 'bioinertes' para novos materiais considerados como 'bioativos'. Essa bioatividade foi atrelada às reações controladas em meio fisiológico, proporcionando ligações entre o material sintético do implante e o tecido vivo (HENCH, 2015).

A descoberta da bioatividade por Hench, Allen e Greenlee resultou, em 1968, na submissão de uma proposta de pesquisa na *US Army Medical R and D Command*, baseado na hipótese do corpo humano rejeitar materiais poliméricos e metálicos de origem sintética, formando tecido cicatricial, pelo fato dos tecidos vivos não serem compostos por esses materiais. Dessa maneira, considerando-se que o osso contém um componente de fosfato de cálcio hidratado (hidroxiapatita (HA)), os pesquisadores propuseram que, se um material for capaz de formar uma camada de HA *in vivo*, ele não deverá ser rejeitado pelo organismo pela semelhança de suas propriedades com o tecido original (HENCH, 2015).

A proposta foi realizada após um ano de testes da hipótese levantada, por meio da formulação das primeiras composições do vidro por Hench e aplicadas em ratos a partir de modelos de implantes femorais projetados por Greenlee. Em 1971 o primeiro artigo foi publicado no *Journal of Biomedical Materials Research* com a realização de ensaios *in vitro* e *in vivo* que atestaram a ligação interfacial entre o material implantado e o osso (HENCH, 2015).

3.3.2 Estrutura

As primeiras composições de vidro bioativo para os ensaios em modelos de implantes femorais de ratos, realizados a partir das hipóteses de Hench e projetados pelo Dr. Ted Greenlee (HENCH, 2015), podem ser vistos na Tabela 2.

Tabela 2: Composição e propriedade de vidros bioativos e vitrocerâmicas em usos clínicos para aplicações médicas. Fonte: Adaptado de Hench (2015).

Composição (% peso)	45S5 Biovidro (NovaBone, PerioGlas, Novamin)	S53P4 (AbminDent1) (BonAlive)	A-W Vidro- Cerâmica (Cerabone)
Na ₂ O	24,5	23,0	0,0
CaO	24,5	20,0	44,7
CaF ₂	0,0	0,0	0,5
MgO	0,0	0,0	4,6
P ₂ O ₅	6,0	4,0	16,2
SiO ₂	45,0	53,0	34,0
Fases	Vidro	Vidro	Apatita, Beta- Wollastonita e vidro
Classe de Bioatividade	A*	A	B

Considerando-se as composições estudadas por Hench, o VB de composição com 45% de sílica e produzido através dos tratamentos térmicos de fusão e recozimento (HENCH, 2015) apresentou os resultados mais promissores em aplicações clínicas e na Engenharia de Tecidos e foi patentado como 45S5 Bioglass®, (GERHARDT; BOCCACCINI, 2010). Essa composição consiste em uma rede a base de sílica (45% de SiO₂), incorporando-se 24,5% de Na₂O, 24,5% de CaO e 6% de P₂O₅ (%m/m) como modificadores de rede. Essa superfície é considerada altamente reativa em ambiente fisiológico principalmente em função da relação comparativamente alta de CaO/P₂O₅ e as elevadas quantidades de Na₂O e CaO na composição (HENCH, 2015). Diferentes composições de vidros bioativos e sua ligação com o tecido ósseo, inclusive correspondente ao 45S5 Bioglass®, foram desenvolvidas com o passar dos anos, conforme pode ser visto na Figura 3.

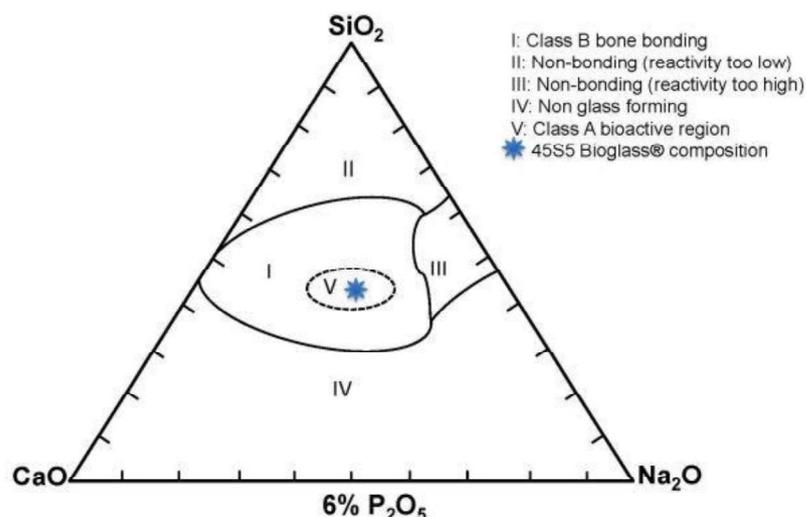


Figura 3: Diferentes composições de vidros bioativos. Fonte: Adaptado de Hench (2015).

Além disso, estudos prévios demonstram a existência de diferentes composições do vidro com a retirada de sódio ou com adição de elementos incorporados em sua rede silicato, dentre eles o flúor, magnésio e estrôncio (GERHARDT; BOCCACCINI, 2010).

De maneira geral, os vidros bioativos tem natureza amorfa, e sua estrutura é constituída por formadores e modificadores de rede, e também por óxidos intermediários. Sem a necessidade de componentes adicionais, os formadores de rede são capazes de formar a estrutura dos vidros de maneira independente. Como já mencionado, tem-se a sílica (SiO_2) como um dos formadores de rede mais investigado para os vidros bioativos, seguido por pentóxido de fósforo (P_2O_5) e trióxido de boro (B_2O_3) (ZHENG; BOCCACCINI, 2017).

Já os modificadores de rede alteram a estrutura do vidro ao se acoplar com átomos de oxigênio, como por exemplo, $Si - O - M^+$, em que M^+ é considerado um modificador de caráter catiônico. De maneira geral, esses óxidos intermediários podem atuar como modificadores ou serem incorporados como formadores de rede na estrutura do vidro (ZHENG; BOCCACCINI, 2017).

Existem dois principais métodos de manufatura dos vidros bioativos, sendo eles por fusão (método tradicional) e técnicas por sol-gel. Independente do tipo de processamento, os vidros bioativos produzidos possuem capacidade de formar fortes

ligações com o tecido ósseo e também com tecidos moles, interagindo com o organismo hospedeiro, sendo considerados materiais bioativos (GERHARDT; BOCCACCINI, 2010).

3.3.3 Metodologia Sol-Gel

A metodologia sol-gel consiste em um processo na qual precursores são misturados e submetidos a reações em condições controladas. Quando comparado à metodologia por fusão, esse processamento permite a obtenção de partículas de vidro bioativo com morfologia e tamanho mais definido, além do vidro bioativo fabricado ser estabilizado em temperaturas relativamente baixas, auxiliando a adição de biomoléculas durante o processo de síntese (EL-KADY et al., 2012; ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Outra característica positiva desse processamento é sua versatilidade e a não necessidade de uso de equipamentos sofisticados.

De maneira geral, o método sol-gel baseia-se em um processo de química úmida para a produção de materiais. Resumidamente esse processo pode ser dividido entre hidrólise e condensação de precursores, secagem e estabilização do material final. A metodologia sol-gel pode ocorrer em condições ácidas ou básicas, com consequências diretas nas propriedades do material resultante. Como exemplo de alterações nas propriedades finais em função das condições do meio, tem-se que se alterando o pH do solvente, é possível alcançar diferentes morfologias do vidro (ZHENG; BOCCACCINI, 2017).

Para a síntese sol-gel do vidro bioativo, usa-se normalmente do tetraetil ortosilicato (TEOS) como precursor de silicato, enquanto o etanol e/ou água são empregados como solventes. Em um típico processamento sol-gel, o TEOS sofre primeiramente hidrólise e condensação sob a influência de catalisadores, formando as partículas de SiO_2 . A adição de precursores de íons metálicos pode ser feita durante a hidrólise e condensação do TEOS ou posterior à formação das partículas de SiO_2 . Como resultado, é obtido um material cuja superfície apresenta um número razoável de ligações Si-OH, oferecendo sítios ativos para possíveis funcionalizações (ZHENG; BOCCACCINI, 2017).

Após a formação das partículas, tem-se a sua secagem e tratamento térmico, formando-se o vidro bioativo (ZHENG; BOCCACCINI, 2017). A Figura 4 esquematiza as etapas envolvidas em uma metodologia sol-gel de um vidro contendo sílica, cálcio e fósforo.

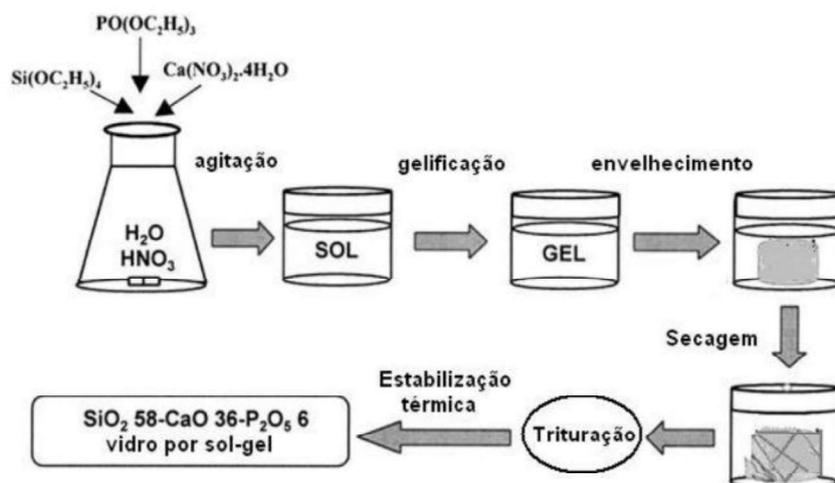


Figura 4: Etapas envolvidas em um processamento de vidro bioativo por sol-gel que contém fósforo e cálcio em sua rede. Fonte: Adaptado de Meseguer-Olmo *et al.*, 2002.

Por fim, é possível a utilização de outras técnicas atreladas ao processamento sol-gel para auxiliar a produção de partículas de vidro bioativo, como por exemplo, o método Stöber e a microemulsão (ZHENG; BOCCACCINI, 2017).

3.4.3.1 Síntese de nanopartículas por sol-gel

Os vidros bioativos possuem uma diversa gama de morfologias, dentre elas, as nanopartículas obtidas pela metodologia sol-gel. A Ciência dos Materiais determina que Nanomateriais serão aqueles cuja dimensão se enquadre na faixa de tamanho de 1 a 100nm. Porém a maioria dos trabalhos que abordam a produção de partículas nanométricas de vidro bioativo relatam um tamanho entre 100-999nm, sendo portanto classificados como partículas submicrométricas. Os vidros bioativos em escala nanométrica de dimensões inferiores à 100nm tendem a se aglomerar para grupos que geralmente ultrapassam esse valor (ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Embora não se saiba exatamente o início do uso da terminologia submicrométrica, Tufts e Lodge em

1958 já desenvolviam técnicas para a identificação química de haleto e sulfato em partículas nessas dimensões (KRC, 1959).

Os vidros nanoestruturados são materiais promissores como biomateriais em função de sua elevada área superficial específica, pequena dimensão, alta relação superfície/volume e propriedades de encapsulação (LEI et al., 2009; ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Estruturas porosas com elevadas áreas superficiais auxiliam na capacidade do vidro bioativo como portador de medicamentos e biomoléculas para entrega de fármacos e liberação controlada (ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Os VB também são capazes de incorporar íons em sua rede de silicato e atuar como veículos para sua entrega local, e que podem auxiliar determinadas funções celulares, como por exemplo, o emprego de íons cobalto para suprimir os fenômenos de hipóxia celular e, conseqüentemente, auxiliar na angiogênese (BARRIONI et al., 2018a; BOCCACCINI et al., 2010). Além disso, suas características morfológicas possibilitam sua aplicação na formação de materiais compósitos devido à sua facilidade de dispersão em matrizes poliméricas, podendo ser utilizado na criação de um revestimento bioativo em implantes ou mesmo em materiais injetáveis (VICHERY; NEDELEC, 2016).

As NP de vidro bioativo podem ser obtidas pela metodologia sol-gel, e seus métodos de síntese podem ser principalmente subdivididos em (i) Método catalisado por bases (método Stöber); (ii) Método co-catalisado ácido/base; (iii) Pós-modificação em nanopartículas derivadas de sol-gel; (iv) Método sol-gel assistido por microemulsão e (v) Método sol-gel assistido por aerossol (ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Um resumo de todos os métodos de síntese pode ser visualizado na Figura 5.

Método	Metodologia	Parâmetros e Aplicações	Observações
i) Stöber catalisado por base	Silicato e íons metálicos são adicionados a uma solução composta de água, álcool e NH ₄ OH. Muito utilizado o surfactante catiônico brometo de cetrimônio (CTAB) como agente formador de poros. Obtenção de partículas esféricas e monodispersas.	Adaptando-se parâmetro como pH e os tipos de precursores, é possível o ajuste das partículas e de sua morfologia. É empregado na síntese de NP (Si, C, TiO ₂ e híbridos)	Possível adição de espécies que atuam como agentes de forma ou impedimentos estéricos (dispersão das partículas e facilitadores de morfologias complexas)
ii) Co-catalisado ácido/base	Íons metálicos e TEOS misturados em condições ácidas anterior à adição de catalisadores básicos. VB são sintetizados na presença de um ácido como catalisador, concomitante com o uso de catalisadores básicos que tendem a aumentar o valor do pH, impedindo que o VB desenvolva uma estrutura gelificada.	Possibilidade de obtenção de VB que contém íons Ag, Zn e Cu	Possibilidade de formação de NP de metal ou de óxido de metal em contrapartida à incorporação de íons metálicos na estrutura do vidro
iii) Pós-modificação em NP derivadas de sol-gel.	Rota 01: NP de SiO ₂ sintetizadas são embebidas em soluções salinas que permitem a adsorção de íons metálicos, seguidas pela calcinação em elevadas temperaturas com o intuito de direcionar os íons para a rede de silicatos. Rota 02: Incorporação direta das NP metálicas. Estratégia executada alterando-se a proporção de peso do vidro em relação às nanopartículas metálicas	Rota 01: Quantidade de íons metálicos incorporados ajustável modificando-se a concentração da solução e temperatura. Rota 02: Incorporação direta das NP metálicas possibilita a formação de um material compósito com maior controle de composição	Rota 01: Quantidade de incorporação dos íons metálicos é limitada (pouca presença de sítios ativos capazes de adsorver esses íons). Rota 02: Material resultante pode gerar uma liberação indesejada de íons (as NP metálicas externas podem se dissolver mais rapidamente em função da exposição anterior ao fluido corporal)
iv) Microemulsão	Hidrólise e condensação dos precursores de silicato ocorrem no interior das gotículas aquosas que atuam como reatores. Consistem em sistemas de microemulsão dinâmicos. As gotículas aquosas colidem com frequência através do movimento aleatório browniano e coalescem para formar gotículas maiores. Dispersão satisfatória e composição homogênea, mas provavelmente não uniforme em tamanho (gotas de microemulsão podem se separar na colisão)	Necessária a lavagem para remoção do excesso de surfactante e a fase oleosa anterior à secagem e calcinação (espécies orgânicas residuais podem causar agregação das NP). Tamanho e volume dos poros, e o tamanho das partículas podem ser ajustados pelo solvente e pela concentração do CTAB	Podem se formar misturando-se os componentes e depois estabilizando o sistema com a utilização de surfactantes. As microemulsões podem ser subdivididas em (i) microemulsões diretas, (ii) reversas e (iii) bicontínuas
v) Aerossol	Precursores e surfactantes dissolvidos em solventes adequados para formar a dispersão de aerossol. As gotículas de aerossol atuam como reatores, e os precursores, surfactantes e a estrutura 3D gelatinizada são confinados no interior dessas gotículas. Após o tratamento térmico, as espécies orgânicas são removidas, obtendo-se a formação do VB mesoporoso com estrutura altamente ordenada	O tamanho das partículas é resultante das dimensões das gotículas formadas	Capacidade de produção escalonável em um tempo relativamente curto; porém as NP de VB mesoporoso sintetizadas são geralmente polidispersas e possuem dimensões não uniformes (reações ocorrem em condições turbulentas)

Figura 5: Metodologias de Síntese de NP de Vidro Bioativo por Sol-gel. Adaptado de Zheng; Boccaccini (2017).

3.3.4 Propriedades e Aplicações dos VB

Dentre as propriedades relacionadas à bioatividade dos vidros bioativos (VB), estão associadas a suas propriedades osteocondutivas, osteoindutivas e também por poderem estimular a angiogênese, através de variações em suas composições. Sua maior gama de aplicações encontra-se na reparação e regeneração óssea em função das propriedades já citadas (ZHENG; BOCCACCINI, 2017).

Ainda que sejam consolidadas suas aplicações na regeneração óssea, suas aplicações na área de tecidos moles têm sido cada vez mais estudadas (BAINO *et al.*, 2016; MIGUEZ-PACHECO; HENCH; BOCCACCINI, 2015), como por exemplo em sua atividade biológica nos estímulos à angiogênese (BARRIONI *et al.*, 2018a) e na atuação como agente antibacteriano (PALZA *et al.*, 2013). Essas propriedades são conduzidas pela liberação de íons biologicamente ativos de sua estrutura, auxiliando os processos de cura específica na cicatrização de feridas e na regeneração de tecidos moles (MIGUEZ-PACHECO; HENCH; BOCCACCINI, 2015). As aplicações do vidro bioativo além do sistema esquelético estão presentes na Tabela 3.

Tabela 3: Aplicação de Vidros Bioativos em contato com Tecidos Moles. Fonte: Adaptado de Baino *et al.* (2016)

Aplicação	Material/Implante	Uso Clínico	Observações
Reparação Nervos Periféricos	Tubo de vidro-fosfato, envoltório de fibra de vidro-fosfato, pacote de fibras de tamanho micro/nano, pó de vidro de fosfato tamanho micro/nano	Ensaio Clínico em Progresso	Experimentos em ovelhas e ratos; ensaios clínicos em andamento. Vidros em tubos e envoltórios podem ser uma alternativa eficaz ao reparo microcirúrgico do nervo; o VB pode melhorar as propriedades mecânicas e liberar íons que podem auxiliar o processo de cicatrização do nervo

Cicatrização de Feridas	Suturas poliméricas revestidas com vidro bioativo dopado com Ag, pomadas contendo pós de vidro bioativo, filmes compostos com vidro dopado com Ag.	Sim	Experimentos em humanos, cães, ratos; alguns produtos comerciais estão disponíveis. Íons liberados para os VB podem provocar efeito antibacteriano, antifúngico e/ou angiogênico (muito benéficos para a cicatrização de feridas) Os <i>scaffolds</i> foram capazes de suportar o alinhamento unidirecional das células musculares e causaram uma regulação positiva dos genes que codificam fatores reguladores miogênicos
Engenharia de Tecido Muscular	Fibras de fosfato isoladas ou incorporadas em construções compósitas de matriz polimérica	Ainda não (estudos <i>in vitro</i> com células)	Solubilidade das fibras afeta proliferação e crescimento de osteoblastos e fibroblastos humanos. Proposto simulação <i>in vitro</i> da interface osso-ligamento
Reparo de Ligamentos	Fibras de Fosfato	Ainda não (estudos <i>in vitro</i> com células)	

Como outros exemplos de aplicações desde a invenção do Bioglass 45S5 (1969), tem-se o tratamento de doenças de ouvido (1977), implantes oculares (1978), tratamento de câncer (1987), reparação do nervo periférico (1998), cicatrização de feridas (2000), aplicações gastrointestinais (2005), engenharia de tecidos cardiovasculares (2010), dentre outras (BAINO *et al.*, 2016)

Com o intuito de modelar as propriedades antibacterianas dos VB, e considerando-se que as infecções bacterianas são responsáveis por complicações na reconstrução óssea e uma das principais causas de mortalidade por lesões cutâneas (EL-KADY *et al.*, 2012; SIMÕES *et al.*, 2018), é possível a inserção de íons terapêuticos na estrutura do vidro bioativo, como por exemplo, íons de prata que possuem comprovada atividade antibacteriana. (BELLANTONE; WILLIAMS; HENCH, 2002; KARGOZAR; HAMZEHLU; BAINO, 2019).

3.4 A Prata e suas Aplicações Biomédicas

Atualmente um dos principais desafios clínicos para a eficácia da regeneração tecidual consiste nas infecções microbianas de implantes em tecidos lesionados. Nesse sentido, os antibióticos ainda consistem como principal esforço empregado para evitar o risco de infecções bacterianas, embora existam bactérias que apresentem uma evolução na resistência a fármacos, comprometendo sua eficácia. Considerando o aumento gradativo da resistência bacteriana a medicamentos, o uso clínico de materiais com atividade antibacteriana intrínseca à sua estrutura vem sendo cada vez mais empregado (ZHENG et al., 2019).

Um dos exemplos da construção desses materiais está na utilização de íons metálicos, que já são amplamente empregados com esse objetivo (ZHENG et al., 2019). O íon prata (Ag^+) tem comprovadamente ampla atividade antibacteriana e seus benefícios terapêuticos já são amplamente conhecidos e na cicatrização de feridas, por exemplo, os cremes tópicos contendo prata em sua composição foram considerados eficazes como regime antimicrobiano no combate às infecções patológicas (KUMAR et al., 2018). Diante disso, sua incorporação em vidros bioativos tende a aprimorar essa propriedade também nesses materiais (WILKINSON et al., 2018).

Em contato com um ferimento, a prata é capaz de reagir com a umidade da superfície da pele ou com os fluidos oriundos da ferida, de maneira que os íons liberados danifiquem o RNA e o DNA bacteriano e, conseqüentemente, impeçam sua replicação. Estudos de Kaya, Cresswell e Boccaccini (2018) alertam que a prata é potencialmente citotóxica quando liberada em elevadas frações, sendo necessário um controle rigoroso de sua quantidade ao ser introduzida no organismo.

A prata pode ser inserida no vidro bioativo utilizando-se a metodologia sol-gel. A funcionalização da superfície dos vidros pode ser realizada por meio de tratamentos de troca iônica, o que possibilita que a estrutura em massa e suas principais propriedades permaneçam inalteradas (KAYA; CRESSWELL; BOCCACCINI, 2018). Estudos de Nunzio, Newby, e Vernè comprovaram que a prata pode ser introduzida por troca iônica nas camadas mais externas da superfície do vidro, o que garante propriedades antibacterianas ao material sem alterar significativamente as características intrínsecas do vidro bioativo (DI NUNZIO et al., 2004; NEWBY et al.,

2011; VERNÈ *et al.*, 2005). Diversos estudos já foram realizados com vidros bioativos a base de sílica contendo prata em sua composição com o intuito de criar materiais com potencial efeito inibitório do crescimento bacteriano (ZHENG *et al.*, 2019). A Tabela 4 apresenta composições, métodos de síntese e resultados antibacterianos obtidos desses VB-Ag utilizando-se a metodologia sol-gel.

Tabela 4: Estudo comparativo de vidros bioativos contendo prata utilizando-se a metodologia sol-gel e seus respectivos resultados antibacterianos. Fonte: Adaptado de Kaya; Cresswell; Boccaccini (2018).

Referência	Composição	Método de Síntese	Resultados Antibacterianos
Bellantone, Coleman e Hench 2000	76SiO ₂ , 19CaO, 5P ₂ O ₅ , 3Ag ₂ O (%massa)	Sol-gel	Efeito bacteriostático em E. coli com crescimento bacteriano reduzido em 0,01%
Bellantone, Williams e Hench 2002	76SiO ₂ , 19CaO, 5P ₂ O ₅ , 3Ag ₂ O (%massa)	Sol-gel	Concentração bactericida mínima (99,9% de morte) para VB-Ag de 1, 0,5 e 0,5 mg/ml Para E. coli, P. aeruginosa e S. aureus, respectivamente
Balamurugan <i>et al.</i> 2008	64SiO ₂ , 26CaO, 10P ₂ O ₅ , 5Ag ₂ O (%mol)	Sol-gel	Concentração bactericida mínima de VB=Ag: 1 mg/ml para E. coli (> 99% de eficiência de morte)
Palza <i>et al.</i> 2013	62.3SiO ₂ , 28.9CaO, 8.6P ₂ O ₅ , 4 e 8Ag ₂ O (%massa)	Sol-gel	4Ag ₂ O e 8Ag ₂ O: Concentração bactericida mínima 100-150 mg/ml para E. coli e 5-10 mg/ml para S. mutans

A prata em dimensões nanométricas apresenta propriedades físicas e químicas singulares, sendo considerada mais eficaz em finalidades tópicas quando comparadas às suas partículas micrométricas. Esse fato é decorrente de sua maior superfície exposta à ação de microorganismos (KUMAR *et al.*, 2018). Estudos anteriores já demonstraram

o sucesso na síntese de nanopartículas de VB com incorporação de íons prata (VICHERY; NEDELEC, 2016) e a Tabela 5 apresenta composições e métodos de síntese e de vidros bioativos contendo prata em sua estrutura.

Tabela 5: Estudo comparativo de nanopartículas de vidros bioativos contendo prata utilizando-se diferentes metodologias.

Referência	Composição	Método de Síntese
EL-KADY <i>et al.</i> , 2012	58SiO ₂ , 9P ₂ O ₅ , (33-x)CaO, xAg ₂ O x = 1, 3, 5 e 10% Ag ₂ O (%massa)	Sol-gel rápido mediado por álcalis
DELBEN <i>et al.</i> , 2009	60SiO ₂ , 36CaO, 4P ₂ O ₅ com 0, 1, 3 e 5Ag ₂ O (%mol)	Sol-gel
ZHENG <i>et al.</i> , 2019	87SiO ₂ , 10.4CaO, 2.6Ag ₂ O (%mol)	Sol-Gel assistido por microemulsão
KOZON <i>et al.</i> , 2016	(96.60; 95,61; 95,46; 95.69)SiO ₂ , (3.40; 4,26; 4,35; 4,07)CaO, xAg ₂ O x = 0,12; 0,19; 0,24% (%mol)	Método Stöber modificado
MOUSSA <i>et al.</i> , 2018	80SiO ₂ , (20 - x)CaO, xAg ₂ O x = 0.6, 1.2, 3 e 4% (%massa)	Sol-gel modificado
EL-RASHIDY <i>et al.</i> , 2018	58SiO ₂ , 33CaO, 9P ₂ O ₅ , 0Ag ₂ O 58SiO ₂ , 28CaO, 9P ₂ O ₅ , 5Ag ₂ O (Sol-gel convencional) 50SiO ₂ , (50-x)CaO, xAg ₂ O x = 0, 5% (Método Stöber modificado) (%massa)	Sol-gel convencional e Stöber modificado

UR RAHMAN <i>et al.</i> , 2020	51SiO ₂ , 20CaO, 20Na ₂ O, 4P ₂ O ₅ , 5Ag ₂ O (%mol)	Sol-gel
MARSH <i>et al.</i> , 2019	58.6SiO ₂ , 24.9CaO, 7.2P ₂ O ₅ , 4.2Al ₂ O ₃ , 1.5Na ₂ O, 1.5K ₂ O, 2.1Ag ₂ O (%massa)	Sol-gel e método de modelo de sacrifício

Além da atuação antibacteriana apresentada pela prata na forma iônica, estudos de Chen e seus colaboradores (2021) e Zheng et al. (2019) demonstraram a eficácia antimicrobiana da prata na forma de nanopartículas metálicas formadas durante a síntese de vidros bioativos. A coexistência dessas diferentes formas de prata em VB acarreta em uma atividade antibacteriana sustentada em função das nanopartículas de prata, que são consideradas como depósitos de íons Ag, além da ação antibacteriana em tempos relativamente curtos característica desses íons (CHEN et al., 2021; ZHENG et al., 2019)

Para aplicações antibacterianas, ressalta-se ainda que o sistema binário Si-Ag se faz vantajoso, uma vez que a sílica (SiO₂) pode ser utilizada como matriz estabilizadora para impedir a agregação das partículas de prata. Além disso, as partículas de SiO₂ possuem elevada estabilidade química e térmica, são biocompatíveis e atuam como excelente sistema para liberação de agentes antibacterianos, como íons Ag⁺ (MOSELHY *et al.*, 2017).

Embora a introdução desse íon metálico seja considerada como um dos métodos mais satisfatórios para conferir um aspecto antimicrobiano à materiais e dispositivos médicos (BELLANTONE; WILLIAMS; HENCH, 2002), ressalta-se até o momento a ausência de um estudo sistemático da composição binária de partículas submicrométricas de vidro bioativo (sílica-prata) obtido por metodologia sol-gel para aplicações em cicatrização de ferimentos cutâneos.

4 Procedimento Experimental

A metodologia desse estudo foi subdividida em duas etapas, a primeira referente a síntese de partículas submicrométricas de vidro bioativo com a incorporação de íons prata por meio da técnica sol-gel, e a segunda com enfoque na caracterização química, estrutural, morfológica e textural dos diferentes VB obtidos. Dessa maneira, o fluxograma presente na Figura 6 sumariza as etapas do presente trabalho.

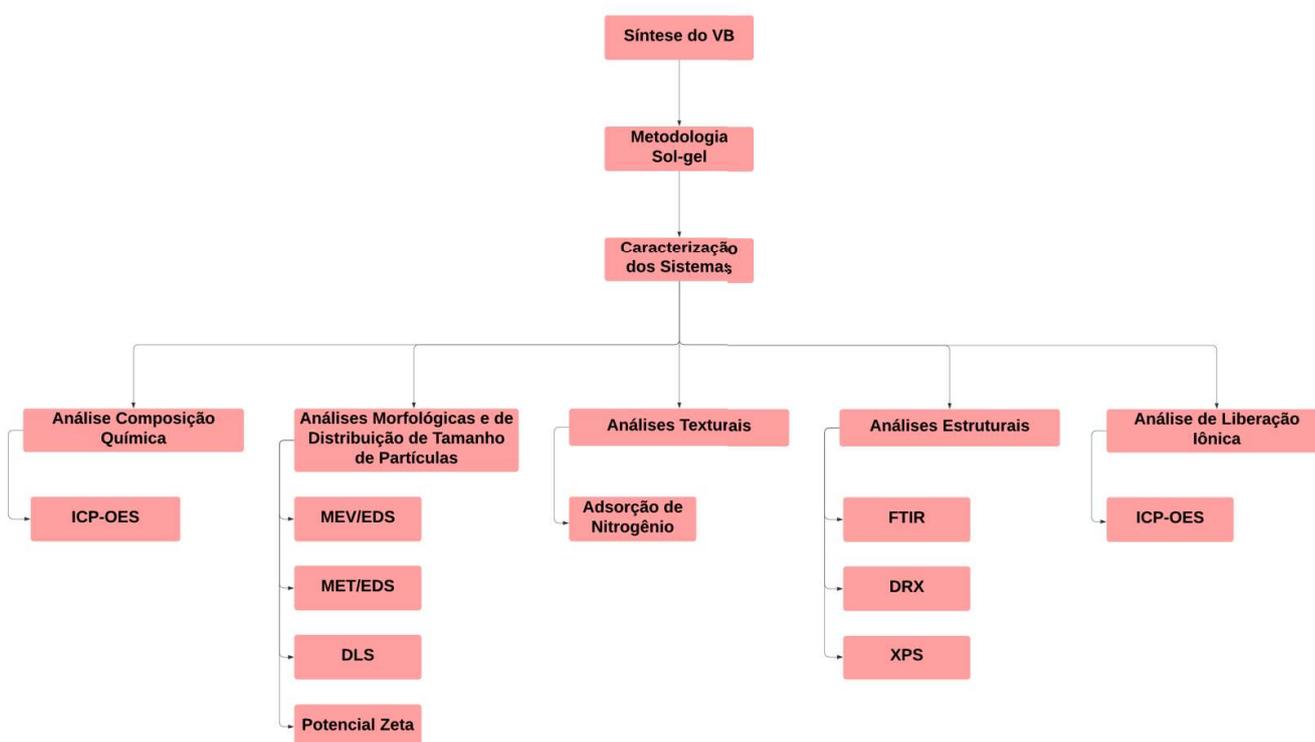


Figura 6: Fluxograma das etapas do Procedimento Experimental.

4.1 Materiais

Todos os sais e reagentes foram utilizados em grau analítico (P.A) e para a composição de todas as soluções foi utilizada Água Deionizada (H₂O/milli-Q, com resistividade mínima de 18,0M.cm a 25°C).

Para a síntese do vidro bioativo, foram utilizados Tetraetilortosilicato (TEOS: C₈H₂₀O₄Si - 98% de pureza, Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA) como precursor da sílica, hidróxido de amônio NH₄OH (Synth), Brometo de Cetiltrimetilamônio (CTAB) (CH₃(CH₂)₁₅N(Br)(CH₃)₃, de peso molar 364,46 g.mol⁻¹ – 99% de pureza, Vetec) como agente surfactante catiônico, Álcool Etil Absoluto (ETOH, C₂H₆O- 95% de pureza, Synth) atuando como solvente e Nitrato de Prata (AgNO₃, ACS reagent > 99,0% da Sigma-Aldrich) como precursor da prata.

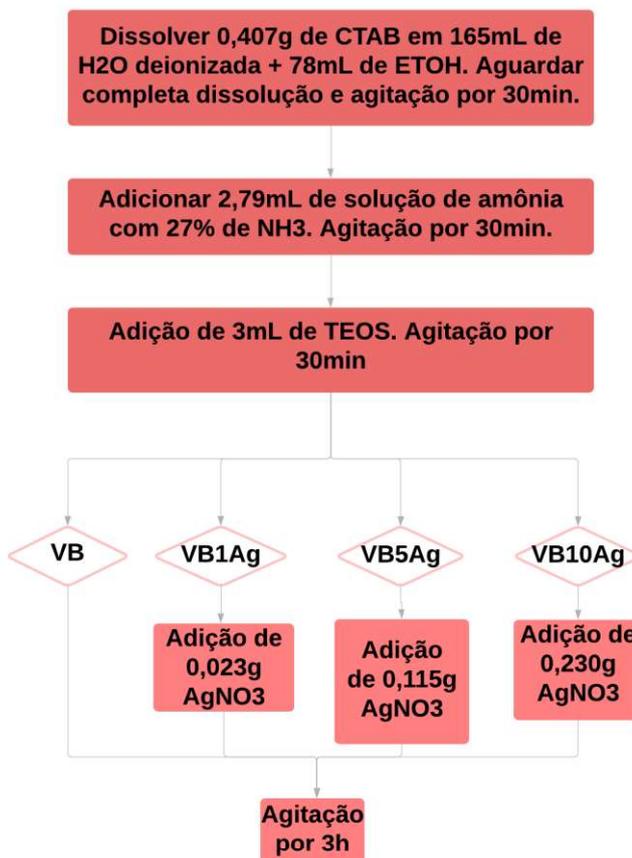
4.2 Síntese de Partículas Submicrométricas de Vidro Bioativo contendo Prata por Processo Sol-Gel

A síntese das partículas submicrométricas de vidro bioativo foi adaptada a partir da metodologia sol-gel simplificada empregada por Hu e seus colaboradores (2014) e adaptada por Mosqueira et al (2020), em que visou-se a obtenção de um sistema binário Si-Ag utilizando como precursores TEOS e AgNO₃ (HU et al., 2014a; MOSQUEIRA et al., 2020). As composições nominais dos vidros bioativos produzidos estão descritas na Tabela 6. Para a seleção das composições no presente trabalho, os valores referência foram baseados em estudos presentes na literatura (CHEN et al., 2021; DELBEN et al., 2009; MOUSSA et al., 2018). Embora as composições variem em relação ao % (mol) de Ag, os vidros dos diferentes estudos geralmente apresentaram composições ternárias que contém fósforo e cálcio e são obtidos por outras formas de processamento. Assim, denotou-se a ausência na literatura de um estudo sistemático com diferentes %Ag (mol) em um VB binário Si-Ag.

Tabela 6: Composição nominal (%mol) das amostras de Vidro Bioativo.

Amostras	Composição (%mol)
VB	100%SiO ₂
VB1Ag	99%SiO ₂ e 1%Ag ₂ O
VB5Ag	95%SiO ₂ e 5%Ag ₂ O
VB10Ag	90%SiO ₂ e 10%Ag ₂ O

A Figura 7 apresenta a sucessão de etapas e os tempos de adição dos reagentes para a produção dos vidros com e sem adição dos íons prata em sua composição.

**Figura 7:** Fluxograma das etapas da Síntese das partículas submicrométricas de Vidro Bioativo com incorporação de íons prata.

Posteriormente à adição dos reagentes e a agitação das soluções por um período de 3 horas, foi realizada a centrifugação das amostras por 15 minutos, utilizando-se a

centrífuga para 4 tubos, modelo Q222T104 da Quimis, com velocidade máxima de 3400rpm, descartando-se o sobrenadante para a obtenção das partículas. Por fim, os VB produzidos foram submetidos à processos de secagem em estufa à 60°C por um período de 24 horas.

Após secagem as amostras foram posicionadas em um cadinho de alumina e inseridas na mufla, sendo tratadas termicamente em uma temperatura de 650°C ao longo de 180 minutos com uma taxa de aquecimento de 2°C.min⁻¹, visando a remoção do CTAB por calcinação e a estabilização da prata no sistema.

4.3 Caracterizações das partículas de VB

4.3.1 Estudo da Composição Química por Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

As composições das partículas submicrométricas produzidas foram analisadas por meio de ICP-OES no equipamento Perkin Elmer AAnalyst 300, com comprimento de onda de 338,3nm, fenda de 0,7mm e corrente de lâmpada de 12mA. Para evitar a possível precipitação da prata na forma de AgCl devido ao meio clorado, comumente utilizado para a análise no ICP-OES, a metodologia adaptada efetuou a diluição das partículas submicrométricas apenas em HNO₃, criando uma forma de abertura para o silício e para a prata capaz de ser lida pelo equipamento. O material de referência para a sílica foi o padrão IPT 63, composto por 96% de SiO₂. Dessa maneira, realizou-se uma digestão por HNO₃, em que inicialmente pesou-se 0,1g de cada amostra, transferindo-as para o tubo de vidro, onde foi adicionado 5,0 mL de HNO₃ concentrado. Os VB foram inseridos no bloco digestor por 2 h a (80 ± 5)°C e, em seguida, o conteúdo foi transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL e avolumado com água ultrapura (18,2 MΩ.cm a 25°C). O meio da curva e diluição das amostras provenientes da digestão foi em HNO₃ 5% v/v.

4.3.2 Caracterização Estrutural

4.3.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Com o intuito de se investigar os grupos funcionais dos diferentes VB, foram realizadas análises de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier FTIR (Bruker Alpha) em cada uma das amostras sólidas com a técnica de reflectância total atenuada ATR (*Attenuated Total Reflectance*), utilizando-se um cristal de diamante, resolução 4cm^{-1} e 128 varreduras. A faixa de trabalho empregada foi de $4000 - 400\text{cm}^{-1}$.

4.3.2.2 Difração de Raios-X (DRX)

A análise das fases cristalinas das partículas submicrométricas de VB com incorporação de íons de prata foi realizada por meio da Difração de Raios-X (DRX). As amostras foram caracterizadas no equipamento Phillips PW1700, radiação Cu-K com $\lambda=1,54018\text{Å}$, a $40\text{kV}.40\text{mA}^{-1}$, em modo de varredura e eixo de transmissão de 2θ . O ângulo de varredura foi de $4,05 - 89,95^\circ$, com um passo de $0,06^\circ$ e tempo de aquisição de 1,5s.

4.3.2.3 Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS)

A análise de XPS foi conduzida utilizando-se o equipamento Amicus, Kratos, com radiação Mg-K-alfa e 120 W. As condições para o ensaio podem ser descritas por uma inspeção no intervalo entre 0-1100 eV, passo de 1 eV, tempo de permanência de 100 ms e varredura igual à 1. O intervalo de inspeção empregado variou para cada um dos elementos, utilizando-se o necessário para que os picos fossem centralizados durante a análise. Os valores de passo e tempo de permanência também foram dependentes do elemento, utilizando-se a definição do equipamento para cada componente analisado, enquanto os valores de varredura visavam a melhoria do sinal-ruído.

Para a construção dos gráficos de XPS, foi utilizado a linha correspondente ao

carbono C 1s, com valores de 284,8eV, corrigindo dessa maneira os deslocamentos remanescentes de energia de ligação (BE – *binding energy*) (KUBALA-KUKUŚ et al., 2018). Os resultados corrigidos foram submetidas à deconvolução Gaussiana.

4.3.3 Análises Morfológicas e Tamanho de Partícula

4.3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV/EDS)

Para a análise de MEV, as amostras de foram recobertas com uma camada de carbono por pulverização catódica. As morfologias das partículas de VB foram analisadas no Microscópio Eletrônico de Varredura - FEI Quanta 200 FEG, com tensão de aceleração do feixe de 5kV, no Centro de Microscopia da UFMG.

4.3.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET/EDS)

Os vidros foram também submetidos à técnica de análise por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) no Centro de Microscopia da UFMG, utilizando-se o Microscópio Eletrônico de Transmissão Tecnai G2-20 - FEI SuperTwin 200 kV.

Para o preparo das amostras, os VB foram sonificados e dispersos em álcool etílico absoluto por 20min na concentração de 0,1mg.mL⁻¹. Posteriormente ao banho ultrassônico, uma gota da solução de VB foi colocada em uma grade de cobre de 400mesh apropriada para utilização no MET.

Para investigar o tamanho de partícula das amostras, imagens de diferentes áreas da grade contendo as partículas foram tiradas a partir do MET, possibilitando a medição de seus diâmetros com o auxílio do software ImageJ. Foi feito a contagem, em média, de 100 partículas de cada uma das composições de VB, conforme a metodologia empregada por Greasley e seus colaboradores (GREASLEY et al., 2016).

4.3.3.3 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta (PZ)

Visando a leitura do diâmetro hidrodinâmico das partículas de VB e seu Potencial Zeta após o tratamento térmico de 650°C, as amostras foram inseridas na concentração de 0,01g.mL⁻¹ em tubo falcon com etanol, para análise de DLS, e em água deionizada, para o ensaio de Potencial Zeta. Posteriormente os VB foram submetidos ao ultrassom de ponta, pelo período de 10 minutos, seguido pelo banho ultrassônico por cerca de 20 minutos.

As análises foram conduzidas pelo equipamento Zetasizer 3000 HS 1256, munido de um laser de 4mW de hélio/neon, de comprimento de onda 633nm. Esse instrumentário é capaz de medir o tamanho de partícula utilizando um ângulo de detecção de 173° em uma tecnologia de retroespalhamento não invasiva. As medições de dispersão de luz foram conduzidas à 25 ± 1°C, e nas medições hidrodinâmicas, foi utilizado um ângulo de 90°. Os resultados finais foram obtidos a partir de uma média aritmética de 5 medições. Para a análise, foi utilizado o método cumulativo para diâmetro médio aparente e índice de polidispersão (PDI).

4.3.4 Propriedades Texturais

4.3.4.1 Adsorção de Nitrogênio por BET

Visando a obtenção das propriedades texturais e de porosimetria dos VB, previamente às análises, as amostras foram desgaseificadas a 200° por 24h. Com auxílio do equipamento Quantachrome NOVA 2200 ver. 6.11, à 77K, foi possível a obtenção das isotermas de adsorção e dessorção de N₂. A área superficial específica das amostras foram determinadas pela metodologia de Brunauer-Emmett-Teller (BET), com os pontos de adsorção com pressão relativa (P/P₀) entre 0,01 e 0,30. Utilizando os dados das curvas de dessorção, o diâmetro e a distribuição de poros foi calculado pelo método Barrett-Joyner-Halenda (BJH). Ressalta-se a preferência das curvas de dessorção à adsorção nesta metodologia, por estar submetida à uma menor pressão relativa e, conseqüentemente, ser considerada uma melhor aproximação do equilíbrio termodinâmico (BARRIONI et al., 2017).

4.3.5 Avaliação da Liberação Iônica

Seguindo a metodologia adaptada por Maçon *et al.*, primeiramente foi pesado 0,075g de nanopartículas dos VB para 50mL de água deionizada (DI), mantendo as amostras à 37°C em banho-maria pelo período de 0, 4, 8, 24h e 3, 7 e 14 dias. Todas as análises foram realizadas em triplicatas (MAÇON et al., 2015), com a medição do pH nos respectivos intervalos durante a liberação de íons. A cada período de tempo citado, alíquotas de 1mL das amostras foram retiradas, diluídas para 9mL de ácido nítrico HNO₃ 2mol.L⁻¹ e 1mL de água deionizada foi recolocada nos recipientes. A diluição em HNO₃ auxilia o término de reações e a estabilização dos VB, além de propiciar a leitura das soluções na concentração e volume adequados para a leitura no ICP-OES. A concentração de íons Si e Ag liberadas das diferentes composições de VB foi medida por emissão óptica por plasma acoplada indutivamente (ICP-OES) utilizando o equipamento Perkin Elmer Optima 7300DV e potência de plasma 1500W.

5. Resultados e Discussão

5.1. Estudo da Composição Química por ICP-OES

A Tabela 7 apresenta as composições químicas (%mol) nominal e a obtida através da técnica de digestão de HNO₃ e análise por ICP-OES das amostras de vidros bioativos, sintetizados via metodologia sol-gel e tratados termicamente a 650°C.

Tabela 7: Composição química nominal e medida pelo método de digestão de HNO₃ e análise por ICP-OES (%mol) dos vidros bioativos sintetizados.

Amostras	Composição Nominal (%mol)		Composição ICP-OES (%mol)	
	SiO ₂	Ag ₂ O	SiO ₂	Ag ₂ O
VB0Ag	100	-	100 ± 0	0 ± 0
VB1Ag	99	1	99,72 ± 0,01	0,28 ± 0,01
VB5Ag	95	5	99,30 ± 0,00	0,70 ± 0,00
VB10Ag	90	10	98,01 ± 0,02	1,99 ± 0,02

Comparando-se a composição nominal e a obtida por ICP-OES, tem-se que somente 28, 15 e 20% do teor nominal de prata foi realmente incorporado nas amostras VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag, respectivamente. É possível notar diferenças expressivas obtidas entre as composições nominal e por ICP-OES das amostras, e cujos valores distintos podem ser justificados por diversos fatores. O primeiro deles está na possível perda da prata não incorporada durante os processos de centrifugação. Para a obtenção das partículas, todas as amostras foram centrifugadas após a sua síntese, enquanto o sobrenadante, em tons arroxeados, foi descartado. Considerando-se que o AgNO₃ é solúvel em água, e que este é o meio de síntese empregado para a obtenção dos VB neste trabalho, é possível inferir que parte da prata possivelmente foi descartada junto ao sobrenadante após a obtenção do material final (BOLDBAATAR et al., 2019; KHANDURI; PANWAR; MOHANTY, 2021; KUMAR; PARVATAM; RAVISHANKAR, 2009). Para justificar a provável dificuldade de incorporação dos íons de prata que foram descartadas no sobrenadante, é possível levantar algumas hipóteses.

Considerando-se um sistema mais complexo de vidro bioativo, porém de rota de síntese semelhante, Mosqueira e seus colaboradores (2021) indicaram que a incorporação de íons como estrôncio na rede silicato substituindo os íons cálcio é facilitada por esses íons apresentarem a mesma valência e tamanhos similares de raio iônico. Em relação a introdução da prata, tem-se a valência distinta quando comparado ao cálcio, comumente incorporado na rede silicato. Essa diferença de valência possivelmente implicará em consequências na ligação da prata em estruturas de oxigênio do VB. De forma comparativa, El Kady e seus colaboradores (2012) sintetizaram vidros bioativos com a incorporação de íons de prata ao substituírem os íons de cálcio (Ca^{+2}) na rede. Os tetraedros de SiO_4 são conectados aos oxigênios para formar uma rede tridimensional contínua. Assim, íons modificadores reduzem o grau de conectividade dessa rede pela interrupção de sua continuidade e substituem os grupos oxigênio ligante (BO – *bridging oxygen*), que formam as ligações entre os tetraedros de silício, por grupos de oxigênio não ligante (NBO - *non-bridging oxygen*). Novamente comparando-se os íons Ca e Ag, tem-se que os íons de cálcio são divalentes, de maneira que é necessário um íon cálcio para produzir dois grupos oxigênio NBO. Já os íons prata são monovalentes, sendo necessário dois íons Ag para produzir o mesmo grupo de oxigênio NBO, conforme pode ser visto na Figura 8.

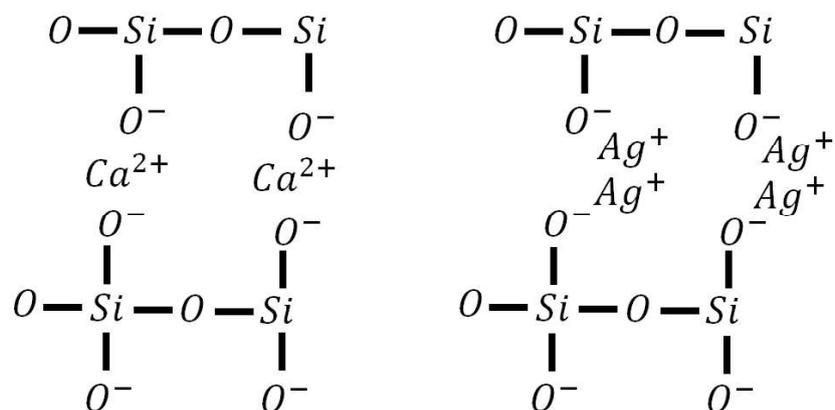


Figura 8: Estruturas de vidros bioativos com cálcio e prata.

Além disso, o íon Ag tem uma maior eletronegatividade em relação ao íon de cálcio, afetando a covalência de sua ligação com o oxigênio. Dessa maneira, as diferentes propriedades desse íon podem influenciar na incorporação da prata na rede (EL-KADY et al., 2012; MOSQUEIRA et al., 2021; RABIEE et al., 2015).

A segunda possível hipótese para esta diferença obtida entre a composição final e a do ICP-OES está na caracterização usada para a análise dos compostos. A metodologia usualmente empregada para análise da composição química para este equipamento realiza abertura por fusão de metaborato de lítio, porém, a prata não pode ser aberta por esse método neste determinado instrumento de ICP-OES. Então, para averiguar o percentual de prata presente no sistema, foi-se criado um material de referência utilizando-se a digestão por HNO₃, o padrão ITP 63 de SiO₂ e uma quantidade conhecida de AgNO₃, material precursor da prata para a síntese do VB. Ressalta-se que, durante a abertura das amostras com o ácido nítrico, as soluções das amostras com maior %mol de prata (VB5Ag e VB10Ag) adquiriram tons amarelados, indicando a primeira possível evidência da presença de nanopartículas de prata no sistema, cuja caracterização é dificultada (MELO et al., 2012). Como a execução dessa técnica necessitou de uma solução livre de sólidos, foi necessário centrifugar a solução, e foi reportado a presença de particulados depositados em tons amarelados. Para evitar o entupimento de capilares do instrumento em função das NP, nos deparamos com o limite da técnica. Como os resultados %mol obtidos estão relacionados com a presença de Ag no sólido, é possível justificar que os percentuais obtidos abaixo do esperado entre a composição nominal e a analisada podem estar relacionados aos íons incorporados no sistema, não avaliando-se completamente a prata que, por uma primeira evidência, está na forma de nanopartícula deste metal. Embora exista a disponibilidade de diversas técnicas instrumentais para análise de composição química, há uma lacuna em relação às melhores abordagens para a detecção precisa e economicamente viável da medição e caracterização das nanopartículas em um sistema (BADALOVA *et al.*, 2019). Uma metodologia alternativa para este tipo de abordagem e já empregada na literatura seria a utilização de sp-ICP-MS (*single particle – inductively coupled plasma – mass spectrometry*). Em relação às outras técnicas, o sp-ICP-MS é capaz de distinguir analitos dissolvidos e particulados, possibilitando a contagem e dimensionamento de partículas em concentrações relativamente baixas, além da obtenção de informações sobre a composição química elementar de nanomateriais não carbonados (BADALOVA *et al.*, 2019; LABORDA; BOLEA; JIMENEZ-LAMANA, 2014). Por fim, outra possível causa para a diferença entre a composição nominal e a analisada, ainda que provavelmente influenciando em menor escala, está na precipitação de espécies, impureza dos precursores, umidade absorvida, dentre outros (BARRIONI et

al., 2018b; HASAN; WERNER-ZWANZIGER; BOYD, 2015). Dessa maneira, considerando-se os resultados obtidos e a metodologia empregada, é possível sugerir que os percentuais obtidos para a prata medidos pelo ICP corresponde somente à prata iônica incorporada na estrutura dos VB.

Em relação ao SiO₂, pelos resultados obtidos, também é possível constatar que as amostras de VB apresentaram elevado percentual de sílica (valores acima de 90% em mol). Os VB com alto teor de Si obtidos via metodologia sol-gel apresentam bioatividade em função de sua elevada área superficial e por possuírem uma ampla distribuição de conectividade de rede (número médio de pontes de O₂ por átomo de silício). Essa propriedade está relacionada ao hidrogênio atuando como um modificador adicional da rede, interrompendo a rede de sílica e criando uma considerável concentração dos grupos Si-OH, garantindo-se uma elevada taxa de dissolução dos VB (LABBAF *et al.*, 2011).

5.1. Caracterização Estrutural

5.1.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Após a normalização dos espectros as principais bandas de vibração foram atribuídas a seus respectivos grupos químicos. Os espectros de FTIR das diferentes composições de vidros bioativos contendo prata podem ser vistos na Figura 9.

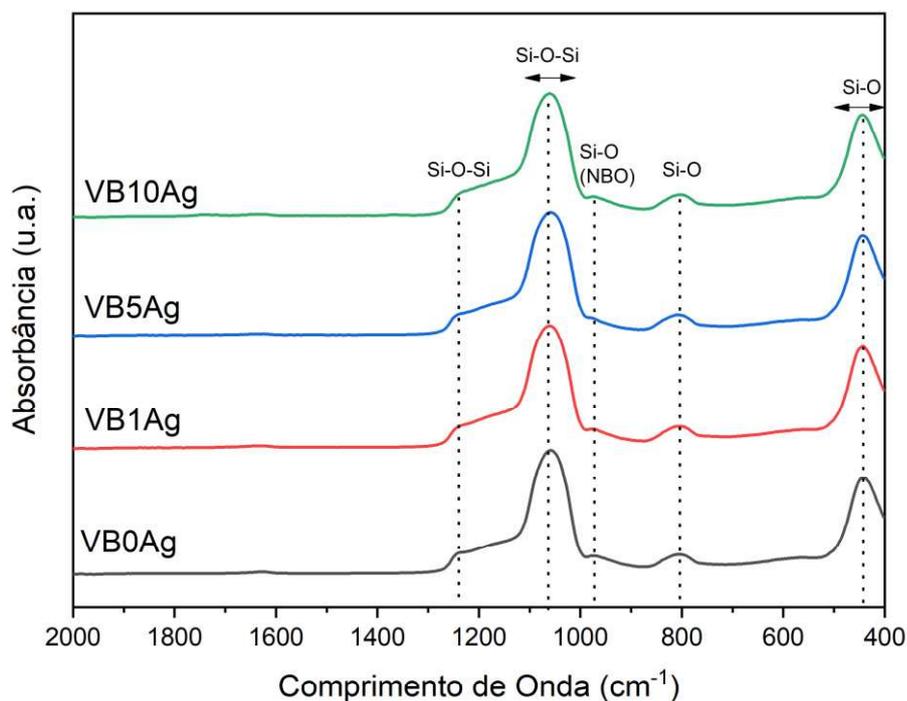


Figura 9: Espectros de FTIR obtidos para os VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag, VB10Ag.

Conforme apresentado, é possível averiguar as principais bandas típicas correspondentes a esse tipo de material. A absorvância próxima a 450cm^{-1} corresponde à flexão de ligações Si-O, atribuída à deformação angular de ligações Si-O-Si de estruturas amorfas (DE LAIA et al., 2020; EL-KADY et al., 2012). Para as bandas entre 725 e 810cm^{-1} , tem-se o estiramento simétrico de Si-O (MARTINS et al., 2017; UR RAHMAN et al., 2020). Em 965cm^{-1} , pode-se visualizar uma banda de absorção de fraca intensidade atrelada à ligação Si-O com um oxigênio não ligante (Si-O-NBO) por tetraedro de SiO_4 (BARRIONI et al., 2017; DELBEN et al., 2009). Por fim, valores próximos à 1030 e 1210cm^{-1} correspondem às bandas de absorvância referentes ao estiramento simétrico e assimétrico, respectivamente, das ligações Si-O-Si (MARSH et al., 2019).

As principais bandas de vibração nos espectros são apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8: Bandas típicas obtidas para os vidros bioativos.

v (cm-1)	Atribuição	Referências
450	Flexão Si-O, atribuída à deformação angular de ligações Si-O-Si de estruturas amorfas	De Laia <i>et al.</i> , 2020 El-Kady <i>et al.</i> , 2012
725-810	Estiramento Simétrico Si-O	Martins <i>et. al.</i> , 2017 Ur Rahman <i>et al.</i> 2020
965	Ligações Si-O-NBO (non-bridging oxygen - oxigênio não ligante) por tetraedro de SiO ₄	Barrioni <i>et al.</i> , 2017; Delben <i>et. al.</i> , 2009
1030	Estiramento simétrico Si-O-Si	Marsh <i>et al.</i> , 2019
1210	Estiramento assimétrico Si-O-Si	Marsh <i>et al.</i> , 2019

Não foram observadas diferenças significativas nos espectros de FTIR do vidro bioativo que não contém prata em sua composição em relação aos demais VB-Ag com concentrações variantes desse íon, certificando que todos os materiais obtidos apresentam estrutura de silicato semelhantes (KUNG *et al.*, 2018). Outros estudos corroboram com esses resultados, como por exemplo, o relato de Kozon e seus colaboradores (2016) ao sintetizaram nanopartículas monodispersas de VB dopados com prata utilizando-se a metodologia de Stöber modificada. Como resultado das análises de FTIR, os VB não tiveram alterações significativas em suas estruturas.

5.1.2. Difração de Raios-X (DRX)

A Figura 10 apresenta os difratogramas contendo as fases cristalinas das partículas de vidro bioativo com diferentes composições de prata, obtidos por meio da análise de Difração de Raios-X.

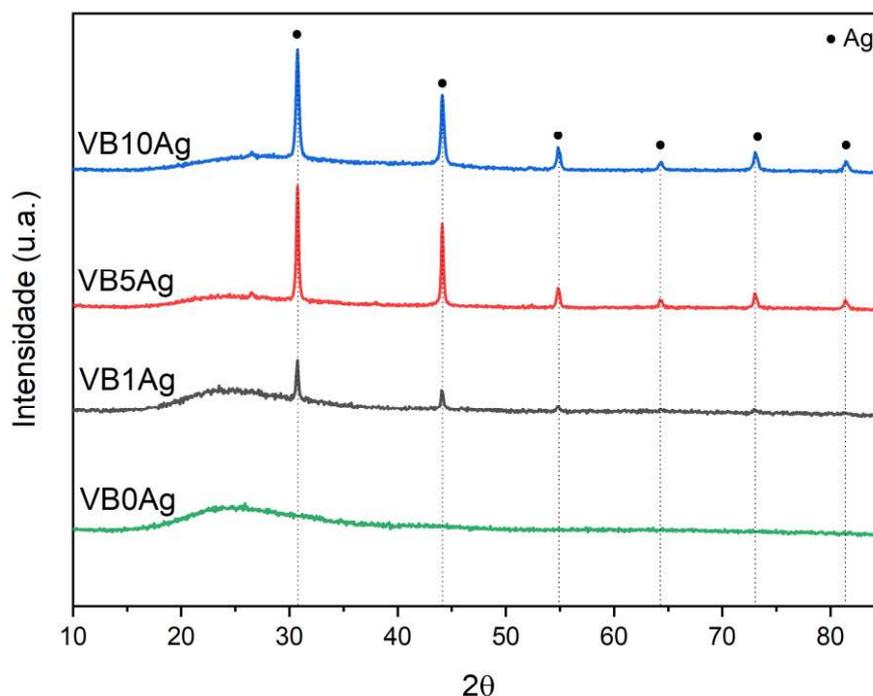


Figura 10: Padrões de DRX correspondentes às amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag, VB10Ag.

Entre os ângulos $2\theta = 15$ e 35° , é possível observar para todas as amostras a presença de um halo amplo e difuso, característico de estruturas de sílica predominantemente amorfas (GARGIULO et al., 2013; MOSQUEIRA et al., 2021). Ressalta-se que a presença deste halo amorfo no material garante uma estrutura parcialmente aberta da rede, possibilitando a penetração de moléculas de água de maneira facilitada e, conseqüentemente, a dissolução do material e um possível aumento de sua bioatividade (BARRIONI et al., 2018b; BRAUER, 2015).

Os ângulos dos picos cristalinos correspondentes à prata metálica têm seus valores aproximados em $2\theta = 30, 44, 55, 64, 73, \text{ e } 81^\circ$ (JCPDS 87-0597 e 04-0783). Com o acréscimo da quantidade de prata adicionada ao sistema, é possível notar a ampliação da intensidade nos picos de reflexão dos difratogramas. Concomitante ao gráfico, a Tabela 9 apresenta os planos cristalinos da prata, que corrobora com a hipótese da formação de nanopartículas de Ag e de acordo com os planos encontrados, tratando-se de uma estrutura cúbica de face centrada (CORSINO; BALELA, 2017; GOVARTHANAN et al., 2014; KUNG et al., 2018; VANAJA; ANNADURAI, 2013).

Apesar de grande parte da prata adicionada não ter sido incorporada na estrutura do vidro, ressalta-se que a presença de nanopartículas de prata metálica pode acarretar em uma atividade antibacteriana sustentada a longo prazo. Essa ocorrência é explicada pela dissolução mais lenta das nanopartículas de Ag em condições fisiológicas, característica promissora para um biomaterial com potencial aplicação antibacteriana (ZHENG et al., 2019). Estudos de Loher e seus colaboradores (2008) avaliaram a liberação de Ag NP de cerâmicas de fosfato de cálcio. Como resultado, foi relatado que a liberação de íons Ag pelas NP ocorre por oxidação lenta. A cinética de liberação desses íons está diretamente relacionada com o tamanho das nanopartículas, a funcionalização de sua superfície, a temperatura e a composição do meio que a envolve. De maneira geral, as nanopartículas de prata podem ser consideradas como um depósito de íons Ag^+ (CHERNOUSOVA; EPPLE, 2013).

Tabela 9: Ângulos correspondentes a Ag e seus respectivos planos cristalinos

2θ (°)	Plano Cristalino	Referência
30	Ag: (2 2 0)	Vanaja e Annadurai, 2013
44	Ag: (2 0 0)	Kung <i>et al.</i> , 2018
55	Ag: (2 0 0)	Govarthanan <i>et al.</i> , 2014
64	Ag: (2 2 0)	Kung <i>et al.</i> , 2018
73	Ag: (3 1 1)	Kung <i>et al.</i> , 2018
81	Ag: (2 2 2)	Corsino e Balela, 2017

Considerando-se a eficácia antibacteriana, a AgNP é utilizada para revestir instrumentos e materiais biomédicos, como por exemplo bisturis, agulhas, cateteres venosos, urinários e de drenagem, curativos para ferimentos e queimaduras (CHERNOUSOVA; EPPLE, 2013).

5.1.3. Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS)

A Figura 11 apresenta o espectro de varredura obtido por XPS para as amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag, respectivamente.

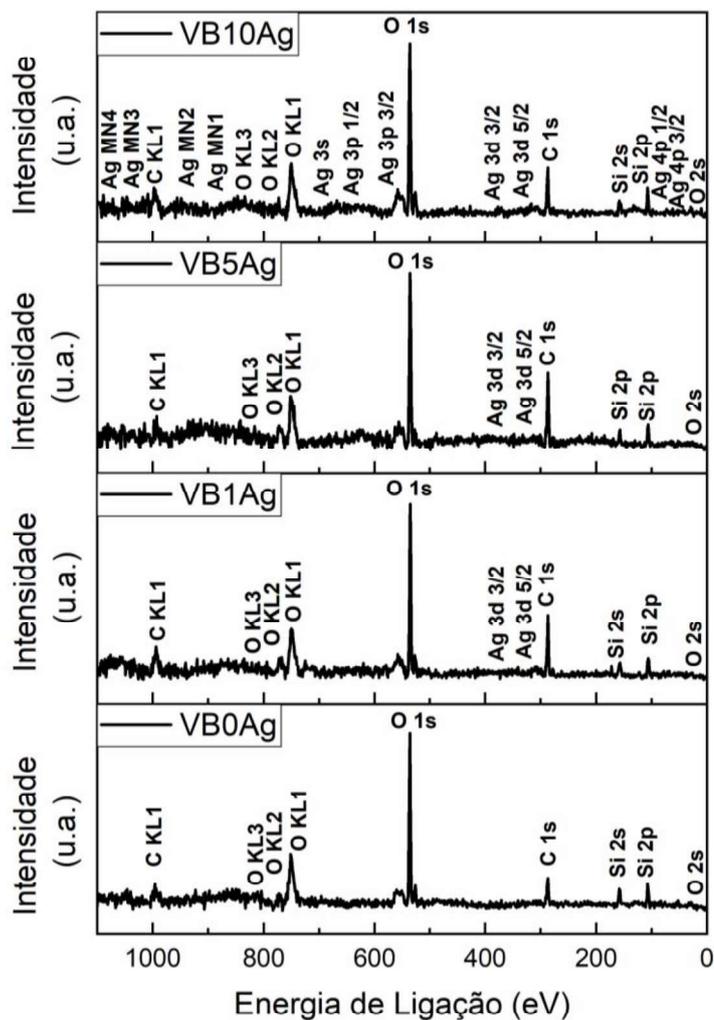


Figura 11: Espectros de ampla varredura de XPS para as amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag, respectivamente.

É possível notar as linhas Auger e de fotoemissão de XPS característicos correspondentes às diferentes composições de vidro bioativo. Ademais, avalia-se a presença do carbono C 1s, que possivelmente está relacionado a absorção de hidrocarbonetos como impurezas e que podem estar presentes na superfície dos VB (SERRA et al., 2003).

Considerando-se a presença de impurezas, o pico de carbono C 1s, denominado de ‘carbono adventício’ foi empregado como correção de carga das amostras para a

análise de XPS. Todos os elementos presentes nos VB tiveram os valores corrigidos utilizando-se como referência a calibração de energia de ligação do carbono (*BE, binding energy*), no valor de 284,8eV. Posteriormente à correção desses valores, todas as curvas foram submetidas à deconvolução Gaussiana e passaram por diversas iterações visando o menor valor de erro possível (KUBALA-KUKUŠ et al., 2018; SERRA et al., 2003).

A Figura 12 apresenta o espectro de alta resolução correspondente ao silício Si 2p.

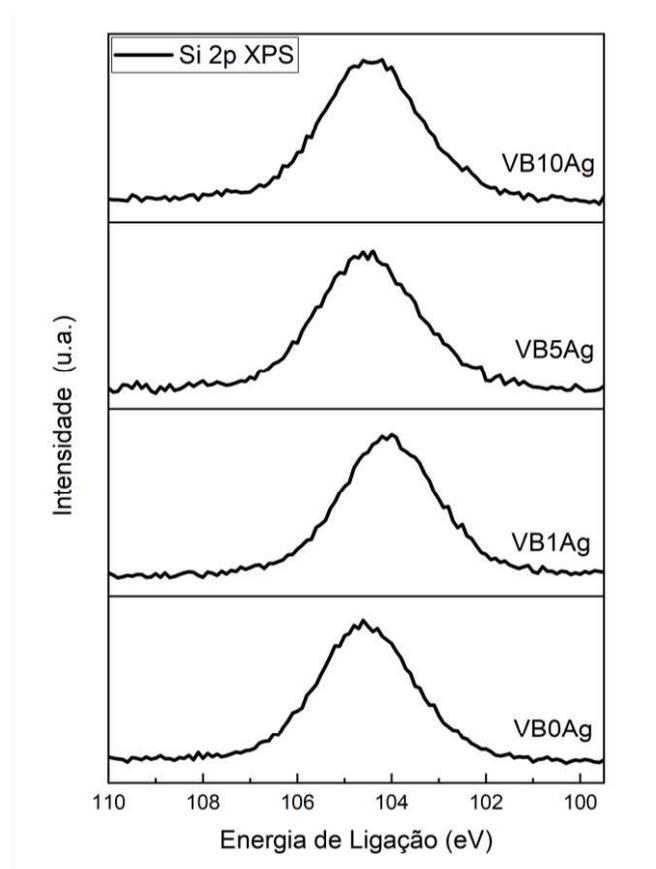


Figura 12: Espectro de alta resolução Si 2p XPS das amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag.

É possível avaliar uma banda larga para todas as amostras de VB, com valores máximos próximos a 104,7, 104,1, 104,5 e 104,5eV para as amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag, respectivamente. Ressalta-se que as grandezas estão próximas ao que é esperado para a faixa de vidros a base de silicato (TOUFIQ *et al.*, 2013). Também é possível notar o pico Si 2p mais estreito da amostra VB0Ag em relação às demais que contém prata em sua composição, e ligeiramente deslocado para maiores valores de energia de ligação. Essa diferença pode estar associada à alteração de proporção na

formação de diferentes espécies de silicato na rede dos VB após a incorporação de outros componentes. Em vidros cujo formador de rede é a sílica, o oxigênio responsável por unir dois átomos de silício (Si-O-Si) é denominado de oxigênio ligante (BO) e o oxigênio não ligante (NBO, também detectado nas análises de FTIR), está relacionado à sua ligação com Si e um cátion metálico (Si-O-X⁺, em que X é o modificador de caráter catiônico) (DALBY et al., 2007). Na estrutura tetraédrica de sílica, tem-se a formação de espécies denominadas de Qⁿ, em que o n corresponde ao número de ligações desse oxigênio ligante (BO). A incorporação de íons modificadores é responsável por desorganizar a rede da sílica, substituindo as unidades BO por NBO, e conseqüentemente, alterando a proporção de espécies Qⁿ presentes nos VB (BARRIONI et al., 2019a). Como a densidade de elétrons de cada átomo de Si está diretamente relacionada à quantidade de BO ou NBO ligados à ele, tem-se uma alteração na energia de ligação para diferentes espécies de Qⁿ. Assim, para estruturas contendo maior quantidade de NBO, e que possivelmente estão associados à ligação Si-O-X⁺, observa-se menores valores de energia de ligação (NESBITT et al., 2011). Dessa maneira, ao se considerar a avaliação a nível do núcleo do Si 2p, tem-se um indicativo de que os íons de prata incorporados podem estar substituindo ligações BO por estruturas NBO, e conseqüentemente, atuando como modificadores na estrutura de rede de sílica do VB. Além disso, VB1Ag apresentou menor valor de BE (104,1eV), enquanto esse valor aumentou para VB5Ag (104,5eV) e VB10Ag (104,5eV). Isso pode indicar que um menor teor de prata pode ser incorporado na rede do vidro, e quando maior teor de Ag é utilizado durante a síntese do VB, a formação de prata metálica é favorecida, não influenciando no número de NBO e possivelmente estando depositadas como segunda fase na superfície do VB. Resultados semelhantes foram obtidos por Chen et. al (2021), em que as composições de VB com 1% Ag (mol) apresentaram maior porcentagem de prata no estado oxidativo +1, enquanto vidros com 5 e 10% Ag (mol) apresentaram maior formação de prata metálica (CHEN et al., 2021).

O espectro de oxigênio O 1s para as diferentes amostras pode ser visualizado na Figura 13.

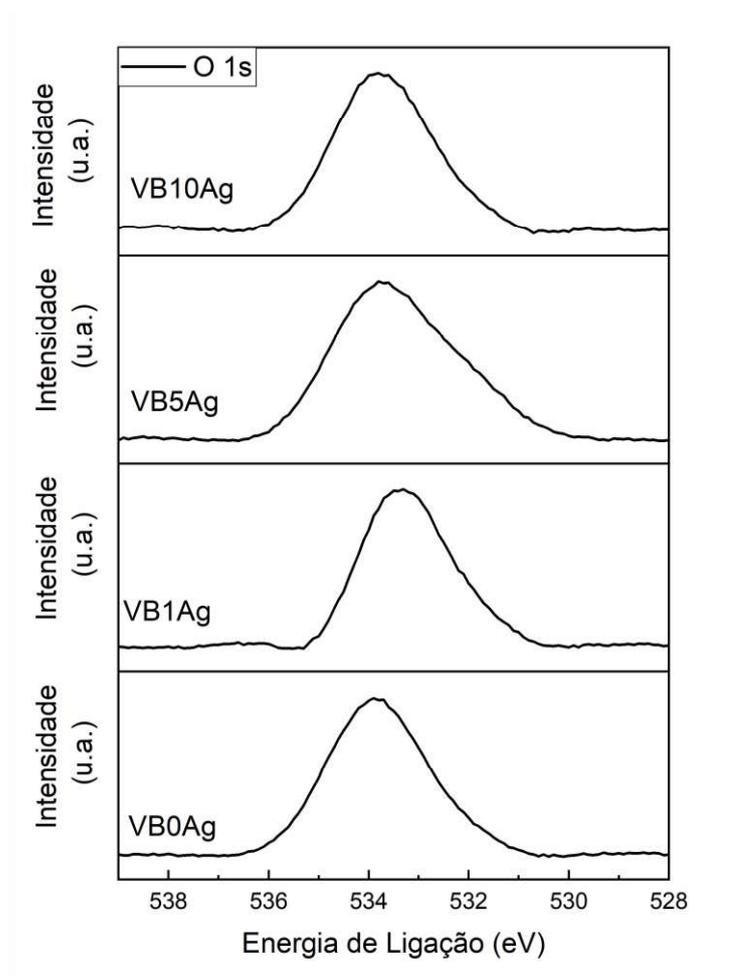


Figura 13: Espectro de alta resolução O 1s XPS das amostras de VB.

Como resultado, um pico de O 1s simétrico a 534 eV para a amostra VB0Ag pode ser observado, enquanto que para as amostras contendo Ag os máximos ligeiramente desviados para valores de energia de ligação mais baixos. Estudos anteriores mostraram que isso também pode estar relacionado a um aumento no número de estruturas NBO devido aos modificadores da rede de incorporação na estrutura de vidro. Estudos de Dalby e seus colaboradores (2007), Nesbitt et al. (2011) e Barrioni et al. (2019) mostraram que o sinal O 1s BO está localizado em energias de ligação mais altas quando comparado ao NBO em vidros de silicato, de maneira a indicar que a incorporação de diferentes íons na estrutura pode estar interrompendo a rede de sílica, formando estruturas NBO (Si-O-X^+). Os resultados apresentados aqui estão de acordo com os observados anteriormente para a avaliação do Si 2p, confirmando que a incorporação de prata pode estar aumentando a contribuição do NBO devido ao seu papel como modificador de rede na estrutura do

vidro, embora também possa formar Ag metálico como mostrado por DRX.

A Figura 14 apresenta os resultados obtidos por XPS correspondentes ao espectro de alta resolução da Ag 3d, exibindo a estrutura de duplete 3d típica e com a energia típica aproximada de 368eV com divisão de duplete de $\Delta=6\text{eV}$ (KIRAN; RONERS; MATHEW, 2020).

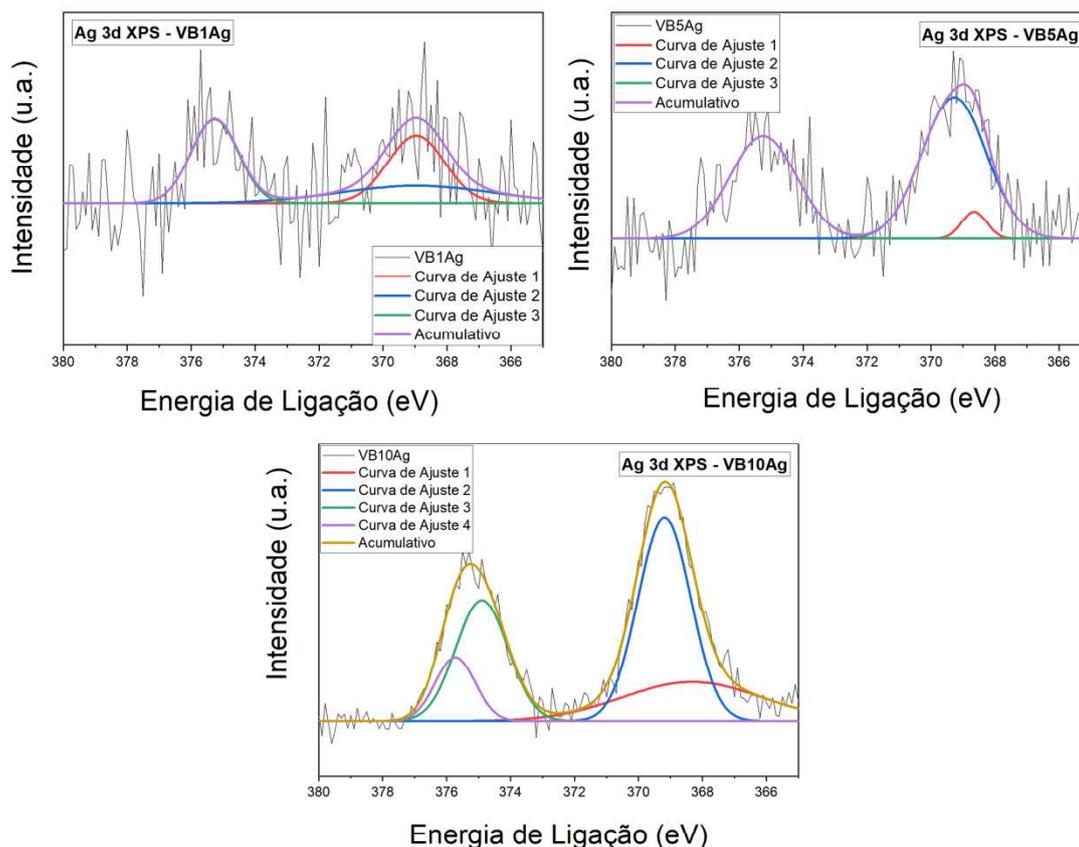


Figura 14: Espectro de alta resolução Ag 3d XPS das amostras de VB que foram submetidas à deconvolução Gaussiana.

Como esperado, não foi notada a presença da prata para o VB0Ag, e houve um aumento da intensidade dos picos em função da elevação da prata adicionada (%mol) no sistema. Para investigar o estado de oxidação das espécies de prata presente nas amostras VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag, foi realizada a deconvolução do duplete 3d. O pico de menor e maior energia correspondem ao Ag 3d 5/2 e Ag 3d 3/2, respectivamente (MARSH et al., 2019). Após a deconvolução, denota-se Ag(1) como a presença da prata no estado de oxidação +1, e Ag(0) confirma a presença de prata no estado metálico. Para o VB1Ag, o

espectro de prata foi deconvoluído em Ag(0) para os valores 369,0 e 375,2eV e Ag(1) no valor de 368,7eV. Para o VB5Ag foi deconvoluído em Ag(0) para 369,2eV, e Ag(1) para 368,7 e 375,0eV. Por fim, nas amostras de VB10Ag, foi obtido por deconvolução a Ag(0) para 369,2 e 375,6eV e Ag(1) para 368,1 e 374,9eV. Esses resultados estão próximos aos valores obtidos por Chen e seus colaboradores (2021). Dessa maneira, em concomitância aos espectros obtidos para o O e Si, afirma-se que parte da prata foi possivelmente incorporada na forma iônica, além da formação das nanopartículas de prata metálica, observadas pelos espectros de DRX.

A Tabela 10 apresenta a composição química semi quantitativa, expressa em porcentagem atômica, da superfície dos vidros bioativos obtida por XPS. Como citado anteriormente, os elevados valores de carbono possivelmente estão atrelados à presença de impurezas na forma de hidrocarbonetos na superfície dos VB (BARRIONI et al., 2019b). Também é possível observar a presença da prata no sistema, em concordância com outros resultados obtidos, e que indica que a metodologia de síntese empregada no presente trabalho foi bem sucedida.

Tabela 10: Composição química (%atômico) semi-quantitativa das diferentes composições de VB.

Amostra	% Atômico			
	Si	C	Ag	O
VB0Ag	20.2	30.6	-	49.3
VB1Ag	15.3	42.1	0.1	42.4
VB5Ag	12.8	47.9	0.2	39.2
VB10Ag	16.8	37.6	0.5	45.2

5.2. Análises Morfológicas e de Tamanho de Partícula

5.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV/EDS)

A morfologia das amostras de vidro bioativo com diferentes concentrações de prata podem ser visualizadas na Figura 15.

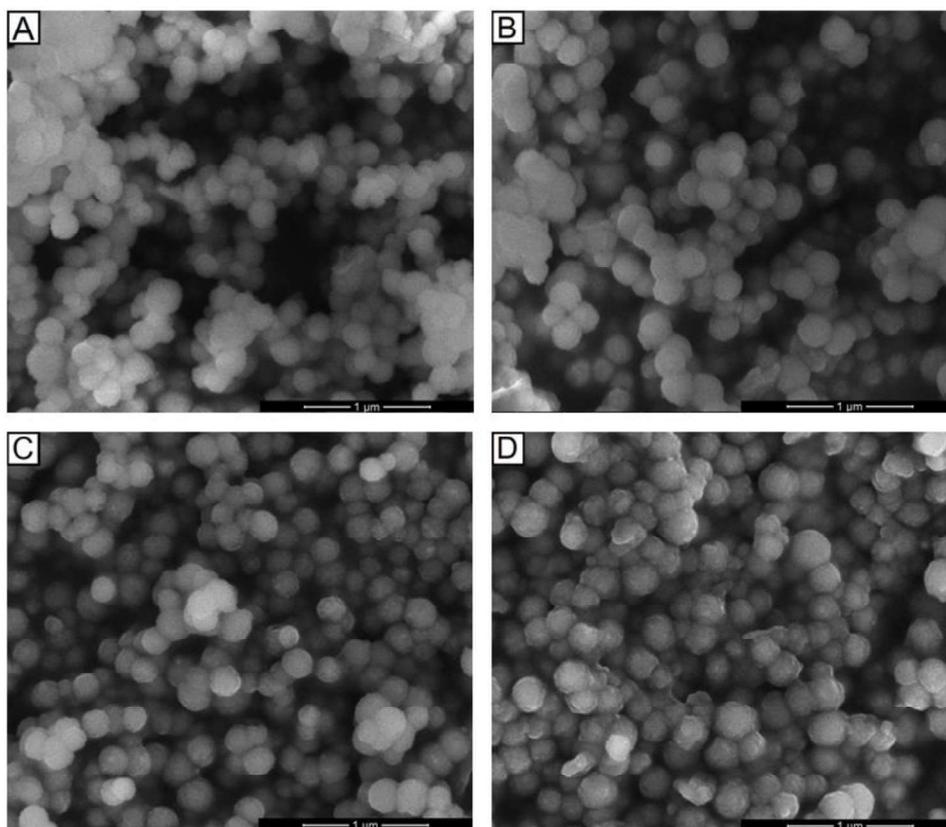


Figura 15: Imagens das partículas de VB obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) A) VB0Ag B) VB1Ag C) VB5Ag D) VB10Ag.

É possível notar que as partículas obtidas, independente da porcentagem de prata no sistema, apresentam morfologia esférica. Estudos demonstram que esse tipo de estrutura, quando comparada às partículas que apresentam formatos irregulares, possui propriedades físico-químicas e biológicas aprimoradas, como a minimização de possíveis reações inflamatórias (HU et al., 2014b; LEI et al., 2011).

Comparando-se as características morfológicas das quatro amostras, é possível visualizar a presença de uma estreita rugosidade superficial que circunda o entorno das partículas de VB em função do aumento do valor percentual (em mol) de prata no sistema. De acordo com Hu e seus colaboradores (2014), superfícies rugosas em uma esfera de vidro bioativo podem estar associadas a um acúmulo de numerosas

nanopartículas e que resultam na alteração da morfologia da superfície do VB em nanoescala. Dessa maneira, a rugosidade no entorno dessas estruturas está associada à possível presença da NP de prata metálica formada nas superfícies dos VB verificadas por DRX.

5.2.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET/EDS)

A Figura 16 apresenta as imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão das amostras de vidro bioativo.

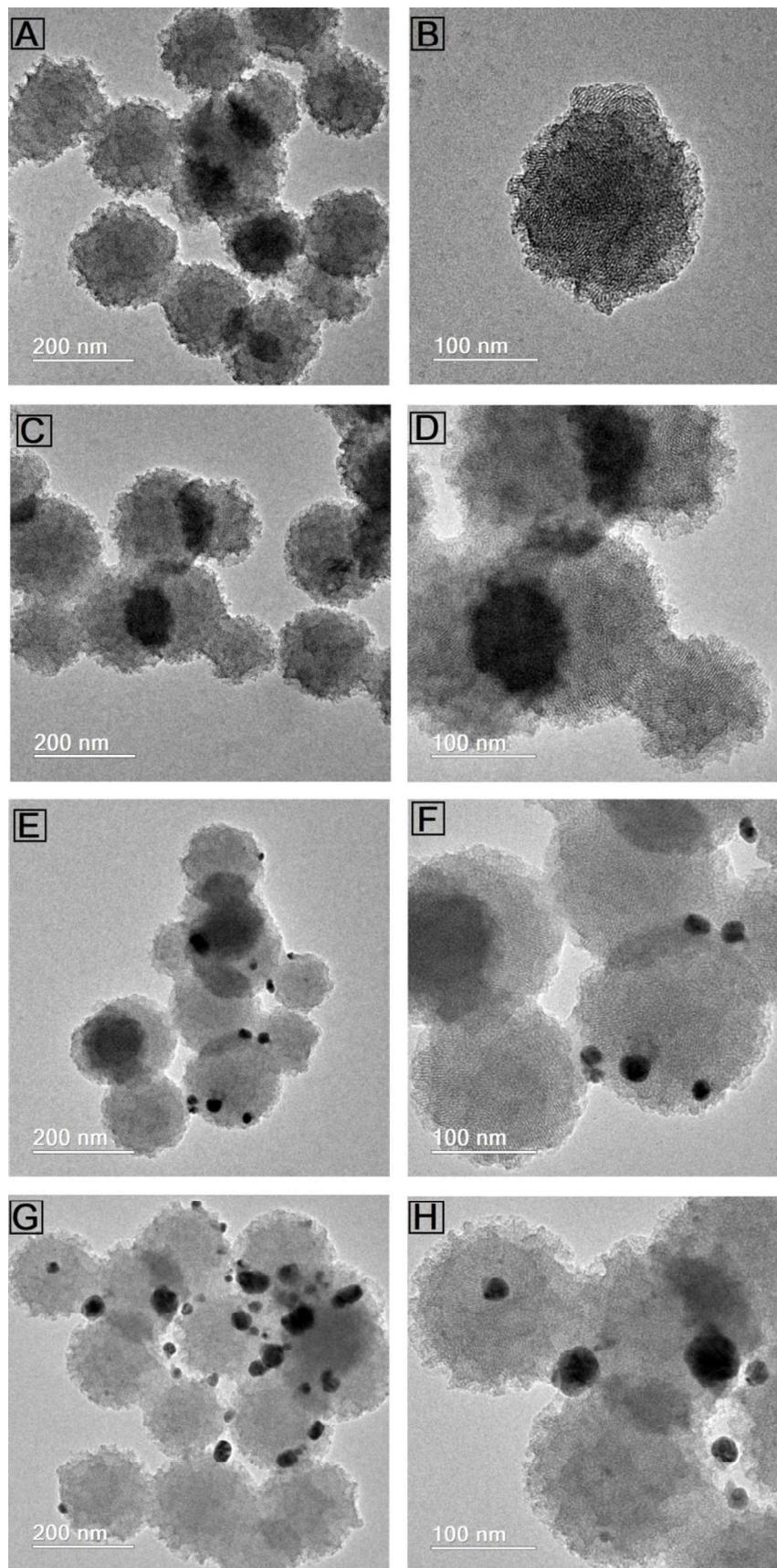


Figura 16: Imagens das diferentes partículas submicrométricas de VB obtidas por

MET. A e B: VB0Ag; C e D: VB1Ag; E e F: VB5Ag; G e H: VB10Ag.

Analisando-se as imagens, é possível notar uma estrutura mesoporosa parcialmente organizada, cuja característica de ordenação pode ser obtida para síntese de partículas esféricas de sílica utilizando-se CTAB como surfactante iônico (PUTZ *et al.*, 2015). Porém, ressalta-se que o tamanho das partículas de VB, suas dimensões e o volume de poros podem ser alterados variando-se o solvente empregado e a concentração de CTAB utilizada durante o processo de síntese (DESHMUKH *et al.*, 2020).

A Figura 17 apresenta o espectro pontual de EDS da amostra VB10Ag.

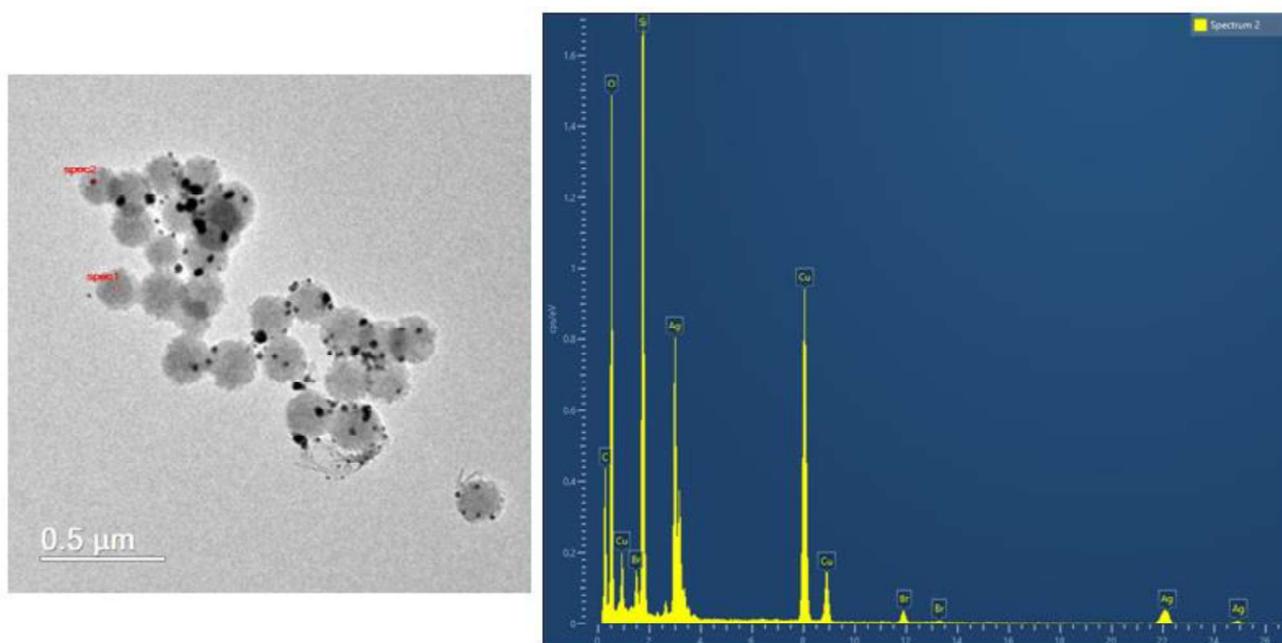


Figura 17: Espectro 2 pontual da região mais escura da amostra (correspondente à spect2 na imagem acima), correspondente às AgNP das amostras de VB10Ag.

As manchas escuras presentes nas amostras de VB5Ag e VB10Ag analisadas pelo EDS são evidências que corroboram a formação de NP de Ag metálico no sistema VB, constatada pela análise de DRX, e semelhante aos estudos de Chen *et al.* (2021), que indicou a formação de AgNP em superfícies de vidros bioativos. Uma possível justificativa está associada ao nitrato de prata (AgNO_3), utilizado como precursor de íons Ag^+ , que pode ser facilmente reduzido a AgNP metálicas por fatores como raios-X, agentes redutores químicos ou tratamento em elevadas temperaturas, como no caso da síntese dos VB no presente trabalho (ZHENG *et al.*, 2019). Por fim, ressalta-se que o

elevado valor de cobre encontrado pelo EDS está associado à grade empregada durante a análise de MET.

5.2.3. Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e Potencial Zeta (PZ)

Os resultados correspondentes ao tamanho das partículas e das NP Ag obtidos pela análise DLS e MET, o Índice de Polidispersividade (PDI) e os valores de Potencial Zeta das amostras de VB estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11: Análise dos diâmetros das partículas de VB e das NP Ag por análises de DLS e MET, e valores de potencial Zeta.

Amostras	Diâmetro Médio DLS (nm)	Diâmetro Médio MET (nm)	Diâmetro Médio NP Ag MET (nm)	Índice de Polidispersividade	Potencial Zeta (mV) (pH = 7; 25°C)
VB0Ag	194 ± 48	185 ± 35	-	0,2 ± 0,1	-30,8 ± 1,7
VB1Ag	146 ± 35	204 ± 36	-	0,3 ± 0,1	-34,2 ± 1,5
VB5Ag	162 ± 11	184 ± 25	24 ± 7	0,2 ± 0,0	-29,4 ± 2,3
VB10Ag	119 ± 14	219 ± 35	30 ± 6	0,3 ± 0,1	-29,7 ± 4,1

As diferentes composições de vidro bioativo contendo prata apresentaram tamanhos hidrodinâmicos inferiores aos medidos por Microscopia de Transmissão. Considerando-se as análises de DRX e as imagens de MET, é possível constatar a formação de NP de prata na superfície dos VB como uma segunda fase, e que suas dimensões são muito inferiores aos das partículas de VB (CHEN et al., 2021). No DLS, as amostras são submetidas ao banho ultrassônico anterior à análise, de maneira que possivelmente os resultados referentes ao diâmetro médio do sistema disperso corresponde à média dos tamanhos das partículas submicrométricas de VB e das nanopartículas de Ag. Para as amostras VB1Ag, também houve a formação de NP Ag, porém em quantidades insuficientes para que fossem contabilizadas no MET, mas ainda assim, possivelmente lidas pela análise de DLS. Como a medição do diâmetro médio por MET é contado por partícula de VB de maneira individual, pode-se dizer que os valores obtidos pela microscopia estão mais próximos dos tamanhos reais das partículas

de vidro bioativo.

Em conformidade com os estudos de Zheng e seus colaboradores (2019), a introdução de Ag no sistema de vidro bioativo não acarretou em uma influência expressiva no diâmetro médio obtido. Independente da análise empregada, as amostras de VB permaneceram na escala submicrométrica. Partículas de dimensões submicrométricas apresentam tamanhos relativamente pequenos e uma elevada área superficial específica, tornando-se uma alternativa atraente em relação ao uso das partículas micrométricas (LABBAF *et al.*, 2011).

As NP Ag também justificam os valores obtidos em relação ao Índice de Polidispersividade (PDI). No PDI, é possível notar um pequeno aumento dos valores nos vidros bioativos que contém prata na composição em relação ao VB0Ag. Como as NP de prata formadas podem atuar como agentes de ligação entre as partículas, sugere-se que a alteração no PDI pode estar relacionada a uma dispersividade reduzida das amostras em função dessas NPAg como possíveis agentes de ligação (ZHENG *et al.*, 2019).

Considerando-se os resultados referentes ao Potencial Zeta (PZ), é possível notar que todas as amostras apresentaram carga superficial negativa e valores próximos à -30mV. O Potencial Zeta está ligado à estabilidade de suspensões, indicando o grau de repulsão entre partículas adjacentes com cargas semelhantes. Dessa maneira, elevados valores de PZ, positivos ou negativos, conferem às partículas estabilidade elétrica, evitando-se a sua aglomeração ou floculação (DOOSTMOHAMMADI *et al.*, 2011). Os resultados alcançados para VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag foram de -30,8, -34,2, -29,4 e -29,7mV, respectivamente, e esses valores se aproximam de -30mV para todas as amostras, assemelhando-se às condições de uma dispersão coloidal considerada estável (BHATTACHARJEE, 2016).

Estudos prévios demonstraram que, para aplicações biomédicas, o PZ negativo em meio biológico apresenta importantes efeitos *in vivo*, além do baixo potencial zeta promover a proliferação e fixação celular (DE OLIVEIRA *et al.*, 2013). Dessa maneira, essa propriedade não afeta somente o comportamento das partículas em meio aquoso, mas também o comportamento celular no entorno dessas partículas (DOOSTMOHAMMADI *et al.*, 2011).

5.3. Propriedades Texturais (BET)

Propriedades texturais como área superficial, volume e tamanho de poro foram obtidas utilizando-se a análise de adsorção de N₂ e são apresentadas nas isotermas presentes na Figura 18.

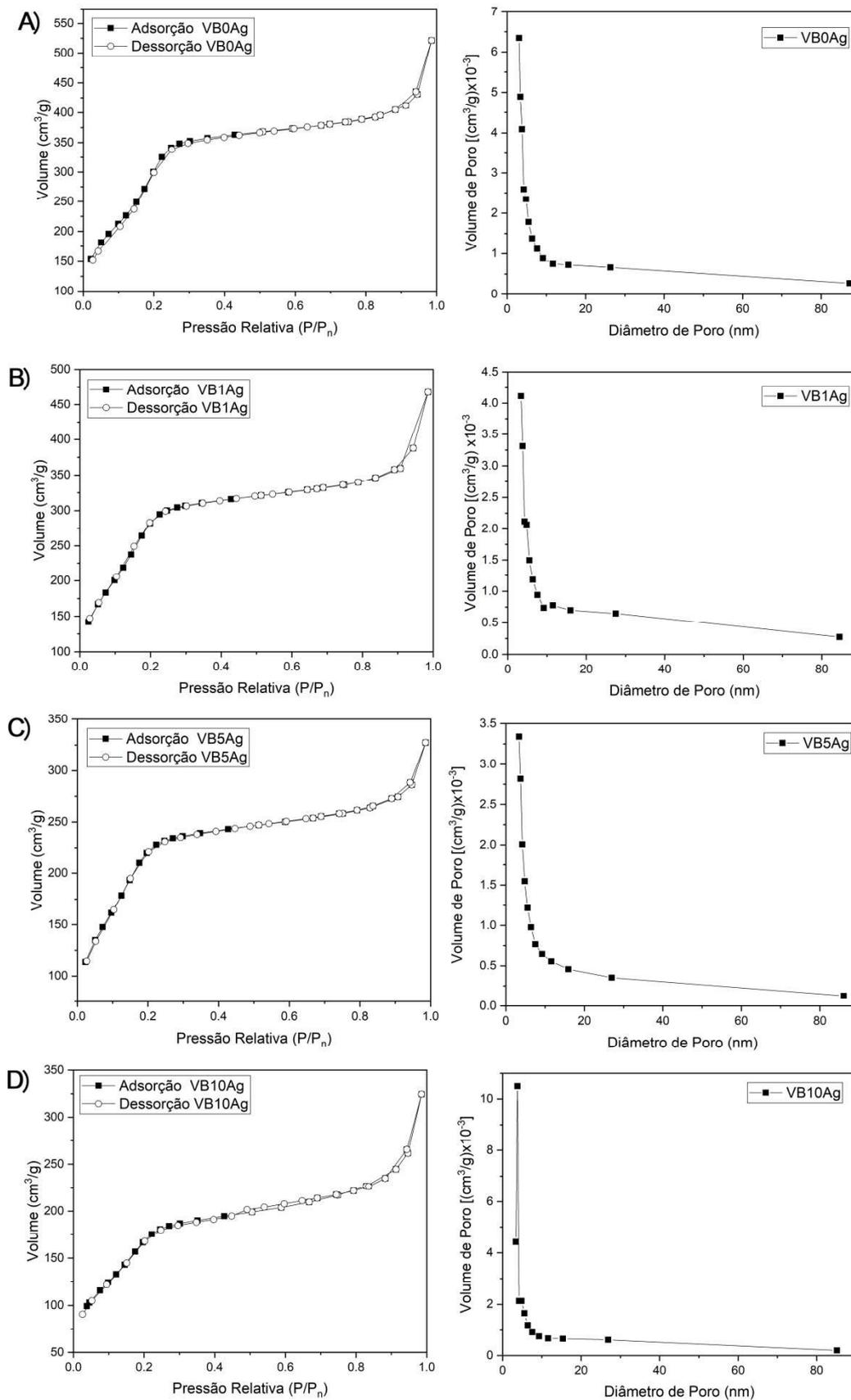


Figura 18: Isotermas de adsorção de N₂ e distribuição do diâmetro médio de poros das amostras A) VB0Ag B) VB1Ag C) VB5Ag e D) VB10Ag, utilizando-se algoritmo BJH derivado das curvas de dessorção.

As curvas de distribuição de tamanho de poros são resultantes da derivada da dessorção (modelo BJH) associadas aos VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag. Por meio das análises de BET é possível identificar isotermas do tipo IV, típicas de materiais mesoporosos (poros entre 2 e 50nm), com histereses do tipo H1, de acordo com a classificação da IUPAC (JOARDAR *et al.*, 2021; KUNG *et al.*, 2018).

A histerese do tipo H1 é frequentemente associada à materiais que apresentam mesoporos com formato de canais cilíndricos bem definidos (ALOTHMAN, 2012; MELCHERS *et al.*, 2016). É importante salientar que a mesoporosidade é comumente associada à síntese de vidros bioativos na presença de surfactantes como o CTAB, que atua como agente formador de poros (ZHENG; BOCCACCINI, 2017). Outros métodos de obtenção de microesferas de VB mesoporosas foram relatadas na literatura nos últimos anos. Stucky e seus colaboradores (2006), por exemplo, obtiveram os VB mesoporosos por um método assistido por aerossol, enquanto Zhu *et al.* (2012) adquiriu vidros com essa mesma estrutura utilizando uma metodologia de evaporação de solvente por emulsificação (MIAO *et al.*, 2013). Atraindo de maneira crescente a atenção de pesquisadores, partículas de VB mesoporosas apresentam potencial aplicação biomédica, pois além da de sua biocompatibilidade, esse sistema é caracterizado por sua estrutura porosa, elevada área superficial específica e grande razão superfície/volume (JOARDAR *et al.*, 2021; ZHENG *et al.*, 2019). A maior área superficial e a estrutura porosa de VB mesoporosos, para aplicações biomédicas, permite a eficácia no carregamento e a entrega de fármacos e moléculas bioativas, como antibióticos e fatores de crescimento. Além disso, os VB mesoporosos se mostraram adequados para atuar como plataformas de transporte eficientes para a liberação local de íons terapêuticos, como por exemplo, íons de prata (Ag⁺), Zinco (Zn⁺²) e cobre (Cu⁺ e Cu⁺²) (KARGOZAR *et al.*, 2018).

Os valores de área superficial específica, volume de poros total e diâmetro médio de poros, obtidos pelo ensaio BET, são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Propriedades texturais para as amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag obtidas por BET e BJH.

Amostras	Área Superficial Específica (m ² .g ⁻¹)	Volume de Poros Total (cm ³ .g ⁻¹)	Diâmetro Médio de Poros (nm)
VB0Ag	85	0,30	3,0
VB1Ag	65	0,27	3,4
VB5Ag	48	0,16	3,4
VB10Ag	77	0,25	3,8

Com base nos resultados, é possível avaliar uma diminuição da área superficial específica com a adição da prata no vidro. Para as amostras que contém a formação de NP de prata depositados na superfície e nos poros do vidro, as AgNP estão distribuídas no material de maneira a dificultar a adsorção de N₂, ocasionando uma diminuição significativa na área superficial específica e no volume de poros quando comparados aos VB0Ag (KUNG *et al.*, 2018). O aumento da área superficial específica do VB10Ag, quando comparado ao VB5Ag, pode estar relacionado a um maior tamanho de partícula de AgNP formada e depositada na superfície do vidro, conforme observado pelo tamanho médio de NP_{Ag} obtido pelo TEM, dificultando a deposição de AgNP dentro dos poros do vidro, e portanto apresentando menor influência na área superficial total (ZHENG *et al.*, 2019). Os resultados do volume de poros mostraram um perfil semelhante, reduzindo para as amostras contendo Ag quando comparadas ao VB0Ag, porém aumentando para as amostras com maior teor de Ag, devido à formação de AgNPs com maior tamanho de partícula na superfície do vidro, mas não dentro dos poros do vidro. Em relação ao diâmetro médio de poros, foi obtido valores na faixa entre 3,0 - 3,8 nm, característica de materiais mesoporosos (HOANG THI *et al.*, 2019). A bioatividade do VB é influenciada pela taxa de dissolução, favorecida para amostras com alta área superficial específica e porosidade, como as partículas obtidas neste trabalho, sendo um potencial material para liberação de prata.

5.4. Avaliação da Liberação Iônica

A concentração dos íons Si e Ag em solução após a imersão das amostras de vidros bioativos em água deionizada e em diferentes tempos (0, 4, 8, 24h e 3, 7 e 14 dias), obtida pela análise de ICP-OES, e a variação do pH nos respectivos tempos podem ser visualizados na Figura 19. Estudos prévios indicaram a precipitação de AgCl em vidros bioativos imersos em fluido corporal simulado (SBF), de maneira a justificar a escolha neste trabalho da análise das concentrações dos íons Ag em função do tempo em água deionizada, evitando-se a formação deste composto insolúvel na presença de SBF (CIRALDO *et al.*, 2018).

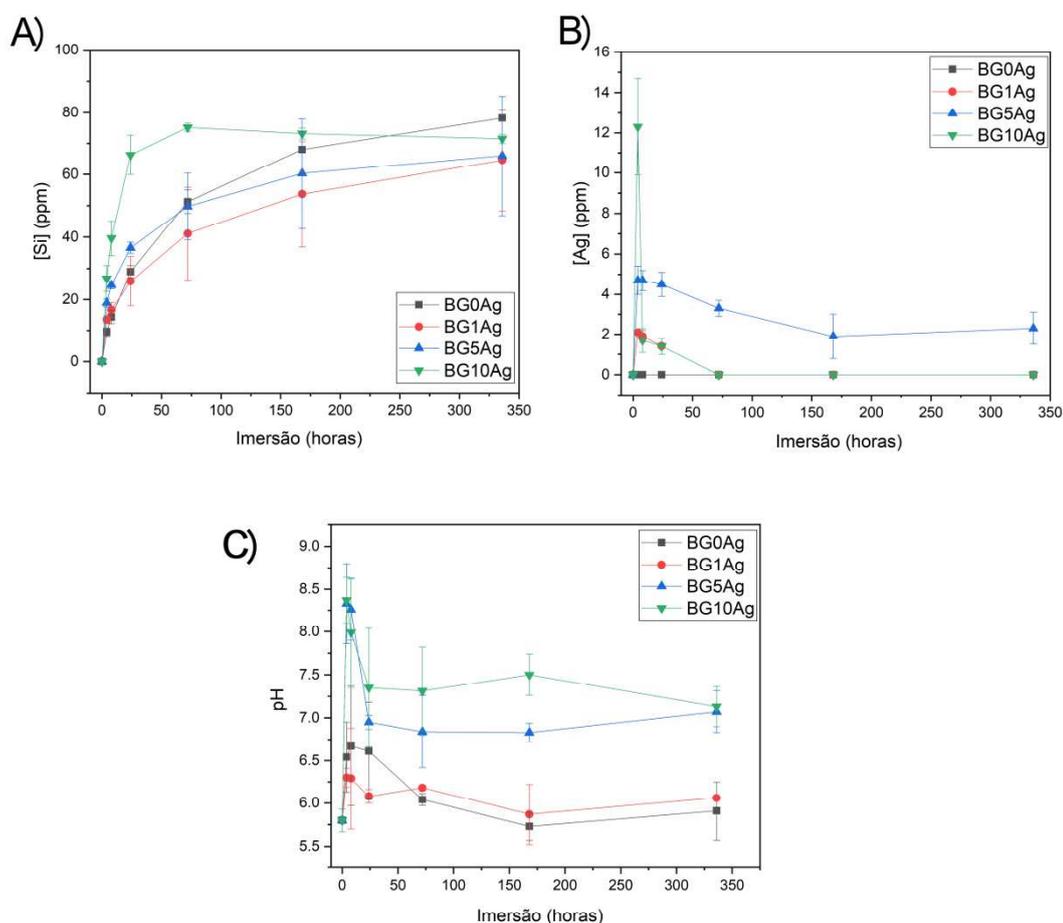


Figura 19: Perfis de liberação de íons A) Si e B) Ag e C) variação do pH em função do tempo para as amostras VB0Ag, VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag.

Em concordância ao que é relatado por Mosqueira et al (2021), Ciraldo e seus colaboradores (2018) e Cerruti, Greenspan e Powers (2005) é possível notar a liberação inicial de sílica e a dissolução dos vidros logo nas primeiras horas para todas as amostras de VB (Figura 19A) (CERRUTI; GREENSPAN; POWERS, 2005; CIRALDO et al., 2018; MOSQUEIRA et al., 2021). Para todos os VB_{Ag}, as quantidades máximas desse íon estão na faixa de de 54-78 ppm durante o ensaio. A liberação da sílica, em um intervalo de 0,1 a 100ppm, pode apresentar efeitos estimuladores nas células ao favorecer a citocompatibilidade (BARRIONI et al., 2018a).

Em se tratando de aplicações cutâneas como em lesões epiteliais e cicatrização de feridas, estudos como os de Quignard e seus colaboradores relatam os efeitos das partículas de SiO₂ na proliferação e migração de fibroblastos da pele humana, aspecto de extrema importância no aspecto de reparo de feridas (NETHI *et al.*, 2019). Os fibroblastos podem ser definidos como células residentes no tecido conjuntivo e que excretam matriz extracelular (ECM), constituindo-se de fundamental importância no reparo tecidual (MASCHARAK; DESJARDINS-PARK; LONGAKER, 2020). De maneira geral, essas células têm a capacidade de reabitar os defeitos do tecido na ferida ao fornecer a ECM, e consequentemente, acarretar em um fechamento do ferimento (STUNOVA; VISTEJNOVA, 2018). Dessa maneira, os resultados de Quignard *et al.* indicaram que é possível o emprego de partículas de sílica como aplicação tópica para a cicatrização de feridas (NETHI *et al.*, 2019). Assim, considerando-se as aplicações biomédicas Si, partículas mesoporosas de sílica são vistas como estruturas inorgânicas utilizadas para possíveis aplicações como biomaterial, em função de seu tamanho ajustável, elevada área superficial, mesoporosidade, eficácia na entrega de fármacos, boa biocompatibilidade e custo de produção relativamente baixo (NIGRO *et al.*, 2018).

A liberação de Ag está pode ser visualizada na Figura 19B. Nessa análise e como esperado, não houve liberação da prata para as amostras VB_{0Ag}. Nas demais amostras, é possível notar a presença de íons Ag⁺, e um aumento de sua liberação em relação à crescente introdução desses íons na composição nominal de VB-Ag. Dessa maneira, constata-se uma maior liberação de Ag em função das amostras VB_{1Ag}, VB_{5Ag} e VB_{10Ag}, em sequência. Uma rápida liberação da prata pode ser observada durante as primeiras horas do experimento, com valores máximos de 2,1, 4,7 e 12,3 ppm para VB_{1Ag}, VB_{5Ag} e VB_{10Ag}, respectivamente. Porém, a concentração da Ag na solução

decai após 24 h. Um comportamento similar foi realizado por Moussa e seus colaboradores (2018) (MOUSSA et al., 2018), em que a liberação da prata de um vidro mesoporoso e nanoparticulado foi estudado, alcançando valores de 11,5 ppm no quarto dia de experimento, porém com os valores de liberação de prata em solução decaindo para as amostras que contém 1%mol de Ag_2O em um vidro ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-Ag}_2\text{O}$. A dissolução dos VB na presença de água envolve o rompimento da matriz tetraédrica de sílica com a formação de grupos silanóis e a captação da molécula de H_2O pela estrutura dos VB (ZEITLER; CORMACK, 2006). Os passos para a dissolução do VB em água podem ser descritos por: (I) Uma troca rápida H^+ or H_3O^+ a partir da solução com os Ag^+ presentes na estrutura do vidro, seguindo a equação: $\text{Si-O-Ag} + \text{H}^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{SiOH} + \text{Ag}^+_{(\text{aq})} + \text{OH}^-$. A troca iônica dos H^+ com cátions resulta em um aumento do pH (RABIEE et al., 2015), que foi verificado no gráfico da Figura 19C). (II) O aumento da concentração de OH^- na solução resultou em um ataque da rede de sílica. A sílica solúvel (Si(OH)_4) perde a sua forma na solução, resultando na ruptura das ligações Si-O-Si e na formação contínua dos grupos silanol na interface do vidro (ZEITLER; CORMACK, 2006). (III) Com os íons Ag^+ em solução, é provável que tenha ocorrido a seguinte reação: $\text{Ag}^+_{(\text{aq})} + \text{OH}^-_{(\text{aq})} \rightleftharpoons \frac{1}{2} \text{Ag}_2\text{O}_{(\text{s})} + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}_{(\text{l})}$. O aumento do pH durante a análise limita a solubilidade do Ag_2O (MOLLEMAN; HIEMSTRA, 2017). O óxido de prata é insolúvel em água (CAMERON, 2009), de maneira que a sua precipitação a partir da solução durante a liberação de íons possivelmente acarretou em uma diminuição dos íons de prata. Além disso, comparando-se os resultados, os valores tão elevados de liberação dos íons em ppm obtidos nos estudos de Moussa e seus colaboradores (2018) podem ser atribuídos à substituição dos íons Ca^{+2} pelos íons Ag^+ na estrutura do VB, diminuindo suas taxas de dissolução, uma vez que as ligações Ag-O são mais covalentes do que as Ca-O (EL-KADY et al., 2012). Por fim, flutuações na concentração de Ag foram observadas, o que pode ser atribuído à possíveis perdas durante as etapas de filtração e diluição na preparação das amostras para a análise no ICP-OES. No entanto, a liberação da prata se estabilizou após 72h.

Assim, é possível averiguar que a composição do vidro bioativo, a rota de síntese, as propriedades texturais e o meio em que o material está imerso altera a sua taxa e cinética de dissolução. A liberação da prata, por exemplo, irá se alterar de acordo com o tamanho da partícula do vidro bioativo (SARAVANAPAVAN; PATEL; HENCH, 2003).

Dessa forma, para uma possível avaliação dos VB obtidos com atuação como biocerâmicas em curativos, serão necessários estudos futuros de citotoxicidade e da atividade antibacteriana dos materiais produzidos, avaliando se a liberação de íons Ag^+ é capaz de conferir ao material um caráter antibacteriano e não citotóxico.

A cicatrização de feridas é, por muitas vezes, comprometida pelo desenvolvimento de infecções bacterianas no leito do ferimento. Diversos estudos apontam os vidros bioativos como uma abordagem que apresenta efeito antibacteriano contra diversos tipos de bactérias, que pode ser atribuído aos seus elevados níveis de pH e efeitos osmóticos causados pela concentração de íons dissolvidos em sua estrutura (EL-RASHIDY et al., 2018). A prata, cujas propriedades antimicrobianas usualmente não são comprometidas com sua combinação na estrutura de vidros bioativos, é conhecida por apresentar um amplo espectro de atividade antibacteriana (ZHENG et al., 2019). Uma das justificativas para explicar o efeito antibacteriano em função do uso deste metal está na consequente perda da capacidade de replicação do DNA bacteriano, alterando a permeabilidade de sua membrana e acarretando na inativação de algumas proteínas e enzimas celulares. Dessa maneira, tanto os íons de prata adicionados às estruturas de vidro bioativo, quanto as NP de Ag que servem como depósito de íons Ag^+ podem ser lixiviados, garantindo potencial atividade antibacteriana e bactericida ao material final, minimizando riscos de contaminação microbiana e fornecendo efeitos bacteriostáticos em bactérias gram-positivas e gram-negativas (EL-RASHIDY et al., 2018; KAYA; CRESSWELL; BOCCACCINI, 2018).

De acordo com Zheng e seus colaboradores (2019), a obtenção de vidros bioativos contendo prata em sua composição pode ser realizada pela metodologia de “uma etapa”, em que todos os reagentes são adicionados durante a síntese, ou pelo método de “pós-modificação”, em que se faz necessário, por exemplo, múltiplos tratamentos térmicos para a incorporação de íons após a formação do vidro bioativo (ZHENG et al., 2019). Além disso, existem na literatura diversos estudos da obtenção de nanopartículas de vidro bioativo ternário, quaternário ou ainda mais complexos que contém Ag^+ e nanopartículas de prata metálica (BALAMURUGAN et al., 2008; BELLANTONE; WILLIAMS; HENCH, 2002; CHEN et al., 2021; CIRALDO et al., 2018; EL-RASHIDY et al., 2018; MOUSSA et al., 2018; PHETNIN; RATTANACHAN, 2015; SARAVANAPAVAN; PATEL; HENCH, 2003). Quando considera-se somente o sistema binário $\text{SiO}_2\text{-Ag}_2\text{O}$,

tem-se comumente a metodologia de obtenção de um sistema núcleo-concha (*core-shell*), em que as partículas de sílica são primeiramente formadas para posteriormente serem envolvidas com um recobrimento de prata nanoparticulada, e não um sistema em que ocorre a incorporação de íons Ag^+ em uma rede tridimensional de sílica atuando como carreador desses íons (FLORES et al., 2008; KALELE et al., 2005; MANIVANNAN et al., 2019). Dessa maneira, considerando o presente trabalho, a síntese do vidro bioativo pela metodologia de apenas uma etapa obteve um sistema binário $\text{SiO}_2\text{-Ag}_2\text{O}$ de partículas esféricas e submicrométricas por uma rota sol-gel rápida e facilitada, e que apresenta a íons Ag^+ ligados à sílica e a presença de NP de prata metálica, e cujas propriedades morfológicas, texturais e estruturais demonstraram, em conjunto, um potencial aplicação como biocerâmica em curativos compósitos.

6. Conclusões

As análises de ICP referentes à composição química indicaram a presença de prata nos VB1Ag, VB5Ag e VB10Ag;

Estruturas cristalinas de nanopartículas de prata metálica foram reportadas por DRX, e com base na caracterização por XPS, foi possível afirmar a presença da prata iônica, em concomitância às nanopartículas de Ag formadas;

A partir das análises morfológicas, foi constatado a obtenção de partículas esféricas e na faixa submicrométrica (184–219 nm). A MET também auxiliou na confirmação da formação de uma segunda fase, atribuída à nanopartículas de Ag metálica;

Análises de DLS e Potencial Zeta indicaram um diâmetro hidrodinâmico na faixa submicrométrica (119–194 nm), enquanto todas as amostras apresentaram carga superficial negativa próxima à -30 mV, assemelhando-se às condições de uma suspensão coloidal considerada estável;

Em relação às propriedades texturais, as diferentes composições nominais de VB apresentaram elevados valores de área superficial (48–85 m².g⁻¹) e diâmetros médios de poro na faixa mesoporosa (3,0–3,8 nm). Foi observado que as NPAg atuaram na diminuição da área superficial específica e no volume total de poros por estarem depositadas na superfície e nos poros de material, dificultando a adsorção de N₂;

A avaliação iônica indicou uma liberação de íons esperada e reportada anteriormente na literatura para os íons Si e Ag;

Considerando a metodologia sol-gel empregada neste trabalho, foi possível a obtenção de partículas submicrométricas e mesoporosas de VB contendo Ag, de maneira rápida e facilitada. A prata nos VB atua como modificador de rede e como NP metálica, e ambos apresentam aplicações antibacterianas já consolidadas pela literatura, de maneira a se tornar um material com potencial aplicação como biocerâmica em curativos compósitos.

7. Sugestão para Trabalhos Futuros

Avaliação dos VB obtidos como biocerâmicas ao serem adicionados em curativos compósitos;

Possível introdução dos vidros obtidos em uma matriz curativa polimérica, como por exemplo, o polímero PVA (poli álcool vinílico);

Realização de ensaios de citotoxicidade (Live and Dead, MTT) e ensaios antibacterianos;

Testar novas composições nominais e % de mol do sistema Si-Ag para avaliar a incorporação dos íons na rede silicato;

Caracterizar o material por Ressonância Magnética Nuclear (RMN), como resultado complementar para a compreensão da inserção da prata na estrutura silicata do VB;

Executar ensaios de degradação e traçar o perfil de liberação da Ag com a degradação.

8. Publicações relacionadas com o Mestrado

Artigo publicado em periódico científico:

1. COCO, A. M. A.; MARTINS, T.; BARRIONI, B.R.; PEREIRA, M.M.; “*Effect of Silver incorporation on the structure and ion release profile of binary SiO₂-Ag₂O mesoporous bioactive glass sub-micron spherical particles*”. *Ceramics International*. Aceito em: 01 de Junho de 2021.

Referências

- ABBASIAN, M. et al. Scaffolding polymeric biomaterials: Are naturally occurring biological macromolecules more appropriate for tissue engineering? **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 673–694, 2019.
- ABDELRAHMAN, T.; NEWTON, H. Wound dressings: Principles and practice. **Surgery**, v. 29, n. 10, p. 491–495, 2011.
- ALOTHMAN, Z. A. A review: Fundamental aspects of silicate mesoporous materials. **Materials**, v. 5, n. 12, p. 2874–2902, 2012.
- BADALOVA, K. et al. Possibilities of single particle—ICP-MS for determining/characterizing titanium dioxide and silver nanoparticles in human urine. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 54, n. March, p. 55–61, 2019.
- BAINO, F. et al. Bioactive glasses: Special applications outside the skeletal system. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 432, p. 15–30, 2016.
- BALAMURUGAN, A. et al. An in vitro biological and anti-bacterial study on a sol-gel derived silver-incorporated bioglass system. **Dental Materials**, v. 24, n. 10, p. 1343–1351, 2008.
- BARRIONI, B. R. et al. Sol-gel-derived manganese-releasing bioactive glass as a therapeutic approach for bone tissue engineering. **Journal of Materials Science**, v. 52, n. 15, p. 8904–8927, 2017.
- BARRIONI, B. R. et al. Evaluation of in vitro and in vivo biocompatibility and structure of cobalt-releasing sol-gel bioactive glass. **Ceramics International**, v. 44, n. 16, p. 20337–20347, 2018a.
- BARRIONI, B. R. et al. The influence of cobalt incorporation and cobalt precursor selection on the structure and bioactivity of sol-gel-derived bioactive glass. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 88, n. 2, p. 309–321, 2018b.
- BARRIONI, B. R. et al. Effects of manganese incorporation on the morphology, structure and cytotoxicity of spherical bioactive glass nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 547, p. 382–392, 2019a.
- BARRIONI, B. R. et al. Osteogenic potential of sol-gel bioactive glasses containing manganese. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 30, n. 7, 2019b.
- BELLANTONE, M.; WILLIAMS, H. D.; HENCH, L. L. Broad-Spectrum Bactericidal

Activity of Ag₂ O-Doped Bioactive Glass. v. 46, n. 6, p. 1940–1945, 2002.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 2016.

BOCCACCINI, A. R. et al. Polymer/bioactive glass nanocomposites for biomedical applications: A review. **Composites Science and Technology**, v. 70, n. 13, p. 1764–1776, 2010.

BOLDBAATAR, K. et al. Dual-ion delivery for synergistic angiogenesis and bactericidal capacity with silica-based microsphere. **Acta Biomaterialia**, v. 83, n. December 2018, p. 322–333, 2019.

BRAUER, D. S. Bioactive glasses - Structure and properties. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 54, n. 14, p. 4160–4181, 2015.

CAMERON, D. S. Chemistry, Electrochemistry, and Electrochemical Applications | Silver. **Encyclopedia of Electrochemical Power Sources**, v. M, p. 876–882, 2009.

CARMELIET, P. **Angiogenesis in health and disease** *Nature Medicine*, 1 jun. 2003.

CARMELIET, P.; JAIN, R. K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. **Nature**, v. 473, n. 7347, p. 298–307, 2011.

CERRUTI, M.; GREENSPAN, D.; POWERS, K. Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass® 45S5. **Biomaterials**, v. 26, n. 14, p. 1665–1674, 2005.

CHEN, Y. H. et al. Effects of AgNPs on the structure and anti-methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) properties of SiO₂-CaO-P₂O₅ bioactive glass. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 553, n. July 2020, p. 120492, 2021.

CHERNOUSOVA, S.; EPPLE, M. Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 6, p. 1636–1653, 2013.

CIRALDO, F. E. et al. Synthesis and characterization of silver-doped mesoporous bioactive glass and its applications in conjunction with electrospinning. **Materials**, v. 11, n. 5, 2018.

CORSINO, D. C.; BALELA, M. D. L. Room temperature sintering of printer silver nanoparticle conductive ink. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 264, n. 1, 2017.

DALBY, K. N. et al. Resolution of bridging oxygen signals from O 1s spectra of silicate glasses using XPS: Implications for O and Si speciation. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 71, n. 17, p. 4297–4313, 2007.

DE LAIA, A. G. S. et al. Therapeutic cobalt ion incorporated in poly(vinyl alcohol)/bioactive glass scaffolds for tissue engineering. **Journal of Materials Science**, v. 55, n. 20, p. 8710–8727, 2020.

DE OLIVEIRA, A. A. R. et al. Synthesis, characterization and cytocompatibility of spherical bioactive glass nanoparticles for potential hard tissue engineering applications. **Biomedical Materials (Bristol)**, v. 8, n. 2, 2013.

DELBEN, J. R. J. et al. Synthesis and thermal properties of nanoparticles of bioactive glasses containing silver. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 2, p. 433–436, 2009.

DERAKHSHANDEH, H. et al. Smart Bandages: The Future of Wound Care. **Trends in Biotechnology**, v. 36, n. 12, p. 1259–1274, 2018.

DESHMUKH, K. et al. Recent advances and future perspectives of sol-gel derived porous bioactive glasses: a review. **RSC Advances**, v. 10, n. 56, p. 33782–33835, 2020.

DHIVYA, S.; PADMA, V. V.; SANTHINI, E. **Wound dressings - A review** **BioMedicine (Netherlands)** China Medical University, , 1 dez. 2015.

DI NUNZIO, S. et al. Silver containing bioactive glasses prepared by molten salt ion-exchange. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 24, n. 10–11, p. 2935–2942, 2004.

DOOSTMOHAMMADI, A. et al. Bioactive glass nanoparticles with negative zeta potential. **Ceramics International**, v. 37, n. 7, p. 2311–2316, 2011.

EL-KADY, A. M. et al. Synthesis, characterization and microbiological response of silver doped bioactive glass nanoparticles. **Ceramics International**, v. 38, n. 1, p. 177–188, 2012.

EL-RASHIDY, A. A. et al. Preparation and in vitro characterization of silver-doped bioactive glass nanoparticles fabricated using a sol-gel process and modified Stöber method. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 483, n. December, p. 26–36, 2018.

FLORES, J. C. et al. Preparation of core-shell nanospheres of silica-silver: SiO₂@Ag. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 354, n. 52–54, p. 5435–5439, 2008.

GARGIULO, N. et al. Silver-containing mesoporous bioactive glass with improved antibacterial properties. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 24, n. 9, p. 2129–2135, 2013.

GERHARDT, L. C.; BOCCACCINI, A. R. Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds

for bone tissue engineering. **Materials**, v. 3, n. 7, p. 3867–3910, 2010.

GOVARTHANAN, M. et al. Biosynthesis and characterization of silver Nanoparticles using Panchakavya, an Indian traditional farming formulating agent. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, n. 1, p. 1593–1599, 2014.

GREASLEY, S. L. et al. Controlling particle size in the Stöber process and incorporation of calcium. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 469, p. 213–223, 2016.

GUERRA, A.; BELINHA, J.; JORGE, R. N. Modelling skin wound healing angiogenesis: A review. **Journal of Theoretical Biology**, v. 459, p. 1–17, 2018.

HAN, G.; CEILLEY, R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. **Advances in Therapy**, v. 34, n. 3, p. 599–610, 2017.

HARVEY, C. Wound healing. **Orthopaedic Nursing**, v. 24, n. 2, p. 143–157, 2005.

HASAN, M. S.; WERNER-ZWANZIGER, U.; BOYD, D. Composition-structure-properties relationship of strontium borate glasses for medical applications. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 103, n. 7, p. 2344–2354, 2015.

HENCH, L. L. Opening paper 2015- some comments on bioglass: Four eras of discovery and development. **Biomedical Glasses**, v. 1, n. 1, p. 1–11, 2015.

HOANG THI, T. T. et al. Functionalized mesoporous silica nanoparticles and biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 99, n. January, p. 631–656, 2019.

HU, Q. et al. Facile synthesis of hollow mesoporous bioactive glass sub-micron spheres with a tunable cavity size. **Materials Letters**, v. 134, p. 130–133, 2014a.

HU, Q. et al. Size control and biological properties of monodispersed mesoporous bioactive glass sub-micron spheres. **RSC Advances**, v. 4, n. 43, p. 22678–22687, 2014b.

JOARDAR, S. et al. Direct synthesis of silver nanoparticles modified spherical mesoporous silica as efficient antibacterial materials. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 313, n. April, p. 110824, 2021.

KALELE, S. A. et al. Optical detection of antibody using silica-silver core-shell particles. **Chemical Physics Letters**, v. 404, n. 1–3, p. 136–141, 2005.

KARGOZAR, S. et al. **Mesoporous bioactive glasses: Promising platforms for antibacterial strategies**. [s.l: s.n.]. v. 81

KARGOZAR, S.; HAMZEHLU, S.; BAINO, F. Can bioactive glasses be useful to accelerate the healing of epithelial tissues? **Materials Science and Engineering C**, v. 97, n. December 2018, p. 1009–1020, 2019.

KAYA, S.; CRESSWELL, M.; BOCCACCINI, A. R. Mesoporous silica-based bioactive glasses for antibiotic-free antibacterial applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 83, n. May 2017, p. 99–107, 2018.

KHANDURI, P.; PANWAR, V.; MOHANTY, S. Materials Today : Proceedings Analysis of PVDF / AgNO₃ conductive membrane. n. xxxx, 2021.

KIRAN, J. U.; RONERS, J. P.; MATHEW, S. XPS and thermal studies of silver doped SiO₂ matrices for plasmonic applications. **Materials Today: Proceedings**, v. 33, p. 1263–1267, 2020.

KOZON, D. et al. Synthesis of monodispersed Ag-doped bioactive glass nanoparticles via surface modification. **Materials**, v. 9, n. 4, 2016.

KRC, J. Progress in Chemical Microscopy : Kamb Theory of Isogyre Patterns in Interference Figures. v. III, 1959.

KUBALA-KUKUŚ, A. et al. Analysis of Ti and TiO₂ nanolayers by total reflection X-ray photoelectron spectroscopy. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 145, p. 43–50, 2018.

KUMAR, S. S. D. et al. Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, n. 2017, p. 165–175, 2018.

KUMAR, V.; PARVATAM, G.; RAVISHANKAR, G. A. AgNO₃ - A potential regulator of ethylene activity and plant growth modulator. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 2, 2009.

KUNG, J. C. et al. Antibacterial activity of silver nanoparticle (AgNP) confined mesoporous structured bioactive powder against *Enterococcus faecalis* infecting root canal systems. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 502, n. July, p. 62–70, 2018.

LABBAF, S. et al. Spherical bioactive glass particles and their interaction with human mesenchymal stem cells in vitro. **Biomaterials**, v. 32, n. 4, p. 1010–1018, 2011.

LABORDA, F.; BOLEA, E.; JIMENEZ-LAMANA, J. Powerful Tool for Nanoanalysis. **Analytical chemistry**, v. 86, p. 2270–2278, 2014.

LEI, B. et al. Synthesis and in vitro bioactivity of novel mesoporous hollow bioactive glass microspheres. **Materials Letters**, v. 63, n. 20, p. 1719–1721, 2009.

LEI, B. et al. Unique physical-chemical, apatite-forming properties and human marrow mesenchymal stem cells (HMSCs) response of sol-gel bioactive glass microspheres.

Journal of Materials Chemistry, v. 21, n. 34, p. 12725–12734, 2011.

LOSQUADRO, W. D. Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Nonmelanoma Skin Cancer. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 25, n. 3, p. 283–289, 2017.

MAÇON, A. L. B. et al. A unified in vitro evaluation for apatite-forming ability of bioactive glasses and their variants. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 26, n. 2, p. 1–10, 2015.

MANIVANNAN, K. et al. Fabrication of silver seeds and nanoparticle on core-shell Ag@SiO₂ nanohybrids for combined photothermal therapy and bioimaging. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 537, p. 604–614, 2019.

MARSH, A. C. et al. Fabrication and multiscale characterization of 3D silver containing bioactive glass-ceramic scaffolds. **Bioactive Materials**, v. 4, n. April, p. 215–223, 2019.

MARTINS, T. et al. Novel 3D composites with highly flexible behavior based on chitosan and bioactive glass for biomedical applications. **Materials Chemistry and Physics**, v. 189, p. 1–11, 2017.

MASCHARAK, S.; DESJARDINS-PARK, H. E.; LONGAKER, M. T. Fibroblast Heterogeneity in Wound Healing: Hurdles to Clinical Translation. **Trends in Molecular Medicine**, v. 26, n. 12, p. 1101–1106, 2020.

MELCHERS, S. et al. Effect of Aluminum Ion Incorporation on the Bioactivity and Structure in Mesoporous Bioactive Glasses. **Chemistry of Materials**, v. 28, n. 10, p. 3254–3264, 2016.

MELO, M. A. et al. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: Um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872–1878, 2012.

MESEGUER-OLMO, L. et al. Biocompatibility and in vivo gentamicin release from bioactive sol-gel glass implants. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 61, n. 3, p. 458–465, 2002.

MIAO, G. et al. Investigation of emulsified, acid and acid-alkali catalyzed mesoporous bioactive glass microspheres for bone regeneration and drug delivery. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 7, p. 4236–4243, 2013.

MIGUEZ-PACHECO, V.; HENCH, L. L.; BOCCACCINI, A. R. Bioactive glasses beyond bone and teeth: Emerging applications in contact with soft tissues. **Acta Biomaterialia**, v. 13, p. 1–15, 2015.

MOLLEMAN, B.; HIEMSTRA, T. Time, pH, and size dependency of silver nanoparticle dissolution: The road to equilibrium. **Environmental Science: Nano**, v. 4, n. 6, p. 1314–1327, 2017.

MORI, N.; MORIMOTO, Y.; TAKEUCHI, S. Skin integrated with perfusable vascular channels on a chip. **Biomaterials**, v. 116, p. 48–56, 2017.

MOSQUEIRA, L. et al. In vitro effects of the co-release of icariin and strontium from bioactive glass submicron spheres on the reduced osteogenic potential of rat osteoporotic bone marrow mesenchymal stem cells. **Biomedical Materials (Bristol)**, v. 15, n. 5, 2020.

MOSQUEIRA, L. et al. Strontium-releasing sol–gel bioactive glass spheres and their ability to stimulate osteogenic differentiation in osteoporotic bone marrow mesenchymal stem cells. **Journal of Materials Research**, 2021.

MOSSELHY, D. A. et al. Nanosilver–silica composite: Prolonged antibacterial effects and bacterial interaction mechanisms for wound dressings. **Nanomaterials**, v. 7, n. 9, p. 1–19, 2017.

MOUSSA, A. R. et al. Antimicrobial properties of tissue conditioner containing silver doped bioactive glass nanoparticles: In vitro study. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 9, n. 3, 2018.

NESBITT, H. W. et al. Bridging, non-bridging and free (O²⁻) oxygen in Na₂O-SiO₂ glasses: An X-ray Photoelectron Spectroscopic (XPS) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) study. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 357, n. 1, p. 170–180, 2011.

NETHI, S. K. et al. Recent advances in inorganic nanomaterials for wound-healing applications. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 7, p. 2652–2674, 2019.

NEWBY, P. J. et al. Ag-doped 45S5 Bioglass[®]-based bone scaffolds by molten salt ion exchange: Processing and characterisation. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 22, n. 3, p. 557–569, 2011.

NIGRO, A. et al. Dealing with skin and blood-brain barriers: The unconventional challenges of mesoporous silica nanoparticles. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, 2018.

O'BRIEN, F. J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. **Materials Today**, v. 14, n. 3, p. 88–95, 2011.

PALZA, H. et al. Designing antimicrobial bioactive glass materials with embedded metal ions synthesized by the sol-gel method. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 7, p. 3795–3801, 2013.

PHETNIN, R.; RATTANACHAN, S. T. Preparation and antibacterial property on silver incorporated mesoporous bioactive glass microspheres. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 75, n. 2, p. 279–290, 2015.

PUTZ, A. M. et al. Pore ordering in mesoporous matrices induced by different directing agents. **Journal of Porous Materials**, v. 22, n. 2, p. 321–331, 2015.

QUIGNARD, S. et al. Silica nanoparticles as sources of silicic acid favoring wound healing in vitro. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 155, p. 530–537, 2017.

RABIEE, S. M. et al. Effect of ion substitution on properties of bioactive glasses: A review. **Ceramics International**, v. 41, n. 6, p. 7241–7251, 2015.

SARAVANAPAVAN, P.; PATEL, M. H.; HENCH, L. L. Effect of Particle Size on the Concentration and Rate of Ag⁺ Release from Antimicrobial SiO₂-CaO-P₂O₅-Ag₂O Gel-Glasses. **Key Engineering Materials**, v. 240–242, p. 245–248, 2003.

SERRA, J. et al. FTIR and XPS studies of bioactive silica based glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 332, n. 1–3, p. 20–27, 2003.

SIMÕES, D. et al. Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 127, n. February, p. 130–141, 2018.

STUNOVA, A.; VISTEJNOVA, L. Dermal fibroblasts—A heterogeneous population with regulatory function in wound healing. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 39, n. February, p. 137–150, 2018.

TOUFIQ, A. M. et al. Influence of SiO₂ on the structure-controlled synthesis and magnetic properties of prismatic MnO₂ nanorods. **Nanotechnology**, v. 24, n. 41, 2013.

UR RAHMAN, M. S. et al. Osteogenic silver oxide doped mesoporous bioactive glass for controlled release of doxorubicin against bone cancer cell line (MG-63): In vitro and in vivo cytotoxicity evaluation. **Ceramics International**, 2020.

VANAJA, M.; ANNADURAI, G. Coleus aromaticus leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal activity. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, v. 3, n. 3, p. 217–223, 2013.

VERNÈ, E. et al. Surface characterization of silver-doped bioactive glass. **Biomaterials**, v. 26, n. 25, p. 5111–5119, 2005.

VICHERY, C.; NEDELEC, J. M. Bioactive glass nanoparticles: From synthesis to materials design for biomedical applications. **Materials**, v. 9, n. 4, 2016.

VIG, K. et al. Advances in skin regeneration using tissue engineering. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, 2017.

WANG, X.; CHANG, J.; WU, C. Bioactive inorganic/organic nanocomposites for wound healing. **Applied Materials Today**, v. 11, p. 308–319, 2018.

WILKINSON, H. N. et al. A novel silver bioactive glass elicits antimicrobial efficacy against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in an ex vivo skin wound biofilm model. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JUL, p. 1–16, 2018.

ZEITLER, T. R.; CORMACK, A. N. Interaction of water with bioactive glass surfaces. **Journal of Crystal Growth**, v. 294, n. 1, p. 96–102, 2006.

ZHENG, K. et al. Ag modified mesoporous bioactive glass nanoparticles for enhanced antibacterial activity in 3D infected skin model. **Materials Science and Engineering C**, v. 103, n. May, p. 109764, 2019.

ZHENG, K.; BOCCACCINI, A. R. Sol-gel processing of bioactive glass nanoparticles: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 249, p. 363–373, 2017.

ZHONG, S. P.; ZHANG, Y. Z.; LIM, C. T. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 2, n. 5, p. 510–525, 2010.