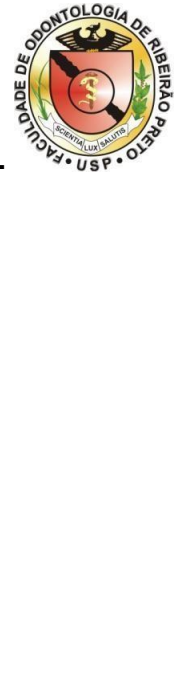




**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS E PRÓTESE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM REABILITAÇÃO ORAL**



BEATRIZ DANIELETTO SAHM

**CORRELAÇÃO ESTRUTURA-PROPRIEDADES E EFEITO ANTIMICROBIANO
DA ADIÇÃO DE SEMICONDUTORES EM RESINAS ACRÍLICAS**

Ribeirão Preto

2023

BEATRIZ DANIELETTO SAHM

**CORRELAÇÃO ESTRUTURA-PROPRIEDADES E EFEITO ANTIMICROBIANO
DA ADIÇÃO DE SEMICONDUTORES EM RESINAS ACRÍLICAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre no Programa de Reabilitação Oral.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Cândido dos Reis

VERSÃO CORRIGIDA

Ribeirão Preto

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Central do Campus da USP – Ribeirão Preto

Sahm, Beatriz Danieletto

Correlação estrutura-propriedades e efeito antimicrobiano da adição de semicondutores em resinas acrílicas/ Beatriz Danieletto Sahm; Orientador, Andréa Cândido dos Reis. – Ribeirão Preto, 2023.

111f.: il.

Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Programa de Pós-graduação em Reabilitação Oral, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Versão corrigida

Resina acrílica. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Semicondutores. 4. β -AgVO₃; OGr.

FOLHA DE APROVAÇÃO

SAHM, B. D. **Correlação estrutura-propriedades e efeito antimicrobiano da adição de semicondutores em resinas acrílicas.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre no Programa de Reabilitação Oral.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dedicatória

DEDICATÓRIA

À **Deus**, pelo dom da vida e iluminação no caminho.

Aos meus pais, **Leila Izilda Danieletto** e **Alfredo Sahm Neto**, pelo incentivo à minha formação e por não medirem esforços aos meus estudos.

À minha irmã, **Isabela Danieletto Sahm**, por ser minha companheira e grande incentivadora.

Agradecimento Especial

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha orientadora, **Profa. Dra. Andréa Cândido dos Reis**, por confiar em meu trabalho e me designar um projeto de sua vida. Obrigada pelas suas estratégias de crescimento, por todo o tempo destinado à minha formação e por me ensinar a importância de devolver à sociedade todo o investimento feito para o meu desenvolvimento profissional.

Ao grupo, **Núcleo Integrado de Pesquisa e Inovação Científica (NINPI)**, por se tornarem meus grandes parceiros de trabalho.

Agradecimentos Gerais

AGRADECIMENTOS GERAIS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, representada pelo Diretor **Prof. Dr. Paulo Nelson Filho**, por proporcionar formação de qualidade aos alunos.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Faria Ribeiro**, chefe do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, por sua dedicação e respeito inestimável.

A **Profa. Dra. Andréa Cândido dos Reis**, Coordenadora do curso de Pós-graduação em Odontologia (Reabilitação Oral), pela dedicação ao Programa e crescimento profissional dos pós-graduandos.

A **Profa. Dra. Renata Ferracioli**, Vice Coordenadora do curso de Pós-graduação em Odontologia (Reabilitação Oral), pela colaboração ao Programa.

Aos **Professores** da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto FORP-USP pelos ensinamentos recebidos durante toda minha pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Oswaldo Luis Alves** (in memoriam), pela idealização do Vanadato de Prata.

Ao **Prof. Dr. José Augusto Agnelli**, pela contribuição intelectual neste projeto e sua disponibilidade, educação e impecabilidade.

A **Prof. Regina Guenka Palma Dibb** (FORP-USP), por sua colaboração no desenvolvimento deste projeto.

Ao **Prof. Dr. Marco Antônio Schiavon** (UFSJ), pela parceria de sempre nas pesquisas realizadas junto à Profa. Dra. Andréa Cândido dos Reis.

Aos professores, **Prof. Dr. Paulo Noronha** (UNESP) e **Prof. Dr. Elson Longo** (UFSCar), pela parceria inestimável para a realização deste projeto.

Ao doutorando **Jean Uchôa** (UNESP) e pós-doutorado **Marcelo Assis** (UFSCAR), pela colaboração na síntese dos semicondutores utilizados neste projeto.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo**, pela concessão da Bolsa de Mestrado (2022/01344-4) e todo investimento à ciência do nosso Estado.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior CAPES**, pela concessão da primeira Bolsa de Mestrado e oportunidade destinadas à nós, Pós-graduandos.

Aos secretários do Departamento de Materiais Dentário e Prótese, **Fernanda Talita de Freitas**, **Regiane Tirado Damasceno** e **Wagner Del Gatto** pela dedicação ao Departamento, aos Professores e Pós-graduandos.

Ao Secretário do Serviço de Pós-Graduação, **Mauro Henrique Leoni Bernardo**, pela dedicação e disponibilidade de tempo dispensadas.

Ao técnico do Laboratório Integrado de Pesquisa em Biocompatibilidade de Materiais, **Edson Volta**, pela sua dedicação, manutenção e ajuda em nosso ambiente de trabalho.

As técnicas de laboratório da FORP-USP, **Viviane de Cássia**, **Ana Paula Macedo**, **Adriana Cláudia Lapria Faria**, **Juliana Jendiroba** e **Patrícia Marchi**, pela dedicação e ajuda durante os ensaios presentes no projeto.

Ao funcionário **Hermano Teixeira Machado** pelos serviços de fotografia prestados.

A **Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP (FFCLRP)**, pela infraestrutura que permitiu a realização deste projeto.

A **Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP – BAURU)**, pelos laboratórios que permitiram a realização da síntese do grafeno.

Aos **Alunos** de Iniciação Científica do grupo NINPI, pela troca de experiências que possibilitaram meu crescimento profissional.

Aos Pós-graduandos do grupo de pesquisa NINPI, **Ana Beatriz Vilela Teixeira, André Luís Botelho, Cícero Celles, Denise Tornavoi de Castro, Izabela Ferreira, João Vicente Calazans Neto, João Marcos Carvalho, Mariana Lima da Costa Valente, Murilo Rodrigues de Campos e Simone Kreve**, pela parceria diária e companheirismo na trajetória.

As minhas colegas da Pós-graduação **Alia Al-Houch e Camila Porto**, por dividirem esse período e suas linhas de pesquisa comigo.

Aos meus **amigos e familiares** que estiveram sempre presentes.

Ao meu namorado **Renato Akegawa Cunha**, por tornar essa trajetória mais leve.

À **Sociedade Brasileira** que contribui para a formação e manutenção das Instituições Públicas de Ensino Superior do Brasil

EPÍGRAFE

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”.

(Cora Coralina)

Resumo

RESUMO

SAHM, B. D. **Correlação estrutura-propriedades e efeito antimicrobiano da adição de semicondutores em resinas acrílicas**. 2023. 111f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

A formação de biofilme sobre as superfícies das próteses pode acarretar em doenças locais, além de doenças sistêmicas. Estes fatores limitam a longevidade do tratamento reabilitador e a qualidade de vida dos pacientes. No entanto é desejável conferir um material que promova capacidade antimicrobiana, proporcionando-lhe redução do acúmulo de microrganismos e propriedades físico-químicas e mecânicas ideais. Devido ao potencial antimicrobiano do vanadato de prata (β -AgVO₃) e óxido de grafeno reduzido (OGr), este estudo propôs o desenvolvimento de materiais a base de polimetilmetacrilato incorporado com antimicrobianos para confecção de próteses e avaliá-los quanto a atividade antimicrobiana e propriedades físico-químicas e mecânicas. Foi avaliada inicialmente a concentração inibitória mínima (CIM) dos materiais contra as espécies de *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*. Em seguida, foram confeccionados espécimes em resina acrílica autopolimerizável (A) e termopolimerizável (T) e divididas em grupos G1 (Resina A + β -AgVO₃); G2 (Resina A + OGr); G3 (Resina T + β -AgVO₃); G4 (Resina T + OGr). As propriedades antimicrobianas foram avaliadas pelo método de redução do XTT, contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), microscopia confocal a laser (MCL) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A caracterização microestrutural foi realizada por MEV, análise elementar por energia dispersiva (EDS) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os ensaios físico-químicos e mecânicos avaliaram resistência à flexão, rugosidade, dureza, molhabilidade, sorção e solubilidade, porosidade, perda de massa por desafio ácido, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e espectrometria por UV/visível. Os dados foram analisados estatisticamente a depender do seu padrão de distribuição. A incorporação de β -AgVO₃ reduziu as colônias dos microrganismos de ambas ($p < 0,05$), com exceção de *S. aureus*. O OGr não apresentou atividade antimicrobiana significativa para nenhum grupo de resina avaliada ($p > 0,05$). A resistência a flexão e dureza das resinas com β -AgVO₃ não foi alterada ($p > 0,05$) e a incorporação de 0,5 de OGr na resina A apresentou melhores valores de flexão ($p < 0,05$). A dureza apresentou maiores valores nos grupos incorporados com OGr de ambas as resinas ($p < 0,05$). As propriedades físico-químicas tiveram melhores resultados nas resinas incorporadas com β -AgVO₃, com valores significativos ($p < 0,05$). A liberação dos semicondutores avaliada por ICP-MS e UV/visível indicou que os semicondutores foram liberados de acordo com suas concentrações incorporadas. Não houve diferença estatística no ensaio de desafio por desgaste ácido ($p > 0,05$). Pode-se concluir que o grupo com 3% de β -AgVO₃ foi o que apresentou melhor eficácia antimicrobiana. E a incorporação de β -AgVO₃ manteve as propriedades mecânicas das resinas e favoreceu as propriedades físico-químicas e mecânicas avaliadas.

Palavras-chave: Resina acrílica; Atividade antimicrobiana; Semicondutores; β -AgVO₃; OGr.

Abstract

ABSTRACT

SAHM, B. D. **Structure-property correlation and antimicrobial effect of the addition of semiconductors in acrylic resins**. 2023. 111f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Biofilm formation on prosthesis surfaces can lead to local diseases as well as systemic diseases. These factors limit the longevity of the rehabilitative treatment and the quality of life of patients. However, it is desirable to provide a material that promotes antimicrobial capacity, providing a reduction in the accumulation of microorganisms and ideal physicochemical and mechanical properties. Due to the antimicrobial potential of silver vanadate (β -AgVO₃) and reduced graphene oxide (OGr), this study proposed the development of polymethylmethacrylate-based materials incorporated with antimicrobials to make prostheses and evaluate them regarding antimicrobial activity and physicochemical and mechanical properties. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the materials was initially evaluated against *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* species. Next, specimens were made of self-cured (A) and heat-cured (T) acrylic resin and divided into groups G1 (Resin A + β -AgVO₃); G2 (Resin A + OGr); G3 (Resin T + β -AgVO₃); G4 (Resin T + OGr). Antimicrobial properties were evaluated by XTT reduction method, colony forming unit (CFU) count, confocal laser microscopy (MCL) and scanning electron microscopy (SEM). Microstructural characterization was performed by SEM, energy dispersive elemental analysis (EDS) and differential scanning calorimetry (DSC). Physicochemical and mechanical tests evaluated flexural strength, roughness, hardness, wettability, sorption and solubility, porosity, mass loss by acid challenge, inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and UV/visible spectrometry. The data were statistically analyzed depending on their distribution pattern. Incorporation of β -AgVO₃ reduced the colonies of both microorganisms ($p < 0.05$), with the exception of *S. aureus*. OGr did not show significant antimicrobial activity for any resin group evaluated ($p > 0.05$). The flexural strength and hardness of resins with β -AgVO₃ were not altered ($p > 0.05$) and the incorporation of 0.5 of OGr in resin A presented better flexural values ($p < 0.05$). The hardness showed higher values in the groups incorporated with OGr of both resins ($p < 0.05$). The physical-chemical properties showed better results in the resins incorporated with β -AgVO₃, with significant values ($p < 0.05$). The release of the semiconductors evaluated by ICP-MS and UV/visible indicated that the semiconductors were released according to their incorporated concentrations. There was no statistical difference in the acid wear challenge assay ($p > 0.05$). It can be concluded that the group with 3% β -AgVO₃ showed the best antimicrobial efficacy. The incorporation of β -AgVO₃ maintained the mechanical properties of resins and favored the evaluated physicochemical properties.

Keywords: Acrylic resin; Antimicrobial activity; Semiconductors; β -AgVO₃; OGr.

Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Fluxograma da síntese de OG.....	56
Figura 2.	Etapas da síntese do óxido de grafeno (OG) até a sua redução.....	57
Figura 3.	Fluxograma da CIM dos semicondutores.....	59
Figura 4.	A. Mufla com Zetalabor® para confecção dos espécimes nas dimensões 9mm x 2mm. B. Muflas para confecção dos espécimes com dimensões de 65mm x 10mm x 3,3mm. C. Muflas para confecção dos espécimes com dimensões de 15 mm x 2 mm. D. Muflas posicionadas em prensa hidráulica com carga de 1000 Kgf por 60 minutos.....	60
Figura 5.	Corpos de prova.....	61
Figura 6.	Fluxograma das etapas de preparação do inóculo, desenvolvimento do biofilme e os meios de cultura utilizados para cada microrganismo.....	63
Figura 7.	Ilustração da análise quantitativa de biofilme por MCL.....	65
Figura 8.	Ilustração da caracterização as amostras por MEV.....	66
Figura 9.	Ilustração do ensaio de Resistência à Flexão.....	67
Figura 10.	Ilustração do ensaio de rugosidade superficial.....	67
Figura 11.	Ilustração do ensaio de Dureza Knoop.....	68
Figura 12.	Ilustração do ensaio de molhabilidade.....	69
Figura 13.	Ensaio de sorção, solubilidade e porosidade.....	70
Figura 14.	Soluções para imersão.....	70
Figura 15.	Amostras imersas para incubação por 30 dias.....	71
Figura 16.	Amostras imersas para incubação por 30 dias.....	72
Figura 17.	Imagens da caracterização microestrutural obtidas por MEV.....	76
Figura 18.	Resultados obtidos pelo EDS.....	77
Figura 19.	Ilustração do gráfico de DSC dos grupos da resina A.....	78
Figura 20.	Ilustração do gráfico de DSC dos grupos da resina T.....	79
Figura 21.	Valores de média e desvio padrão de UFC/mL de <i>C. albicans</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> e <i>S. mutans</i> frente às resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO ₃ e OGr.....	80
Figura 22.	Imagens obtidas por MCL frente à 3% de incorporação na resina A.....	82
Figura 23.	Imagens obtidas por MCL frente à 3% de incorporação na resina T.....	82
Figura 24.	Imagens obtidas por MEV dos biofilmes frente à 3% de incorporação da Resina A.....	82
Figura 25.	Imagens obtidas por MEV dos biofilmes frente à 3% de incorporação da Resina T.....	83

Figura 26.	Valores de média e desvio padrão da resistência à flexão das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO ₃ e OGr.....	84
Figura 27.	Valores de média e desvio padrão da rugosidade das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO ₃ e OGr.....	85
Figura 28.	Valores de média e desvio padrão da dureza das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO ₃ e OGr.	86
Figura 29.	Valores de média e desvio padrão da molhabilidade das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO ₃ e OGr.....	87
Figura 30.	Ângulo de contato dos grupos da resina autopolimerizável.....	87
Figura 31.	Ângulo de contato dos grupos da resina termopolimerizável.....	88
Figura 32.	Ilustração do mecanismo de ação do β -AgVO ₃	95
Figura 33.	Ilustração do mecanismo de ação de compostos de grafeno.....	96

Lista de Tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição das resinas acrílicas incorporadas com os semicondutores.....	59
Tabela 2.	Proporção em massa (g) de material incorporado para confecção dos corpos de prova 9mm x 2mm.....	61
Tabela 3.	Proporção em massa (g) de material incorporado para confecção dos corpos de prova 65mm x 10mm x 3,3mm.....	61
Tabela 4.	CIM do β -AgVO ₃ e OGr frente à <i>C. albicans</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> e <i>S. mutans</i>	75
Tabela 5.	Resultados dos elementos químicos presentes nas resinas acrílicas modificadas.....	77
Tabela 6.	Valores de média e desvio padrão da atividade metabólica de <i>C. albicans</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> e <i>S. mutans</i> frente às resinas acrílicas incorporadas com semicondutores.....	81
Tabela 7.	Valores de média e desvio padrão da sorção, solubilidade e porosidade das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO ₃ e OGr.....	88
Tabela 8.	Valores da média de Sa da rugosidade das resinas acrílicas incorporadas imersas em Coca-Cola, suco de laranja ADES e saliva artificial.....	89
Tabela 9.	Concentração de íons Ag e V (mg/L) liberados de resinas acrílicas modificadas β -AgVO ₃	89
Tabela 10.	Concentração de Grafeno (mg/L) liberados de resinas acrílicas modificadas OGr.....	90

Sumário

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	43
2. PROPOSIÇÃO	49
3. MATERIAL E MÉTODOS	53
3.1. SÍNTESE DOS SEMICONDUTORES	55
<i>3.1.1. Vanadato de Prata Nanoestruturado e Decorado com Nanopartículas de Prata (β-AgVO₃)</i>	55
<i>3.1.2. Óxido de Grafeno Reduzido (OGr)</i>	55
3.2. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	58
3.3. CONFECÇÃO DOS ESPÉCIMES	59
<i>3.3.1. Inclusão das matrizes em muflas metálicas</i>	60
<i>3.3.2. Prensagem</i>	60
<i>3.3.3. Desinclusão e Acabamento</i>	61
<i>3.3.4. Padronização da Rugosidade</i>	62
3.4. ESTERILIZAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA	62
3.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	62
<i>3.5.1. Desenvolvimento do Biofilme</i>	62
<i>3.5.2. Ensaio de XTT</i>	63
<i>3.5.3. Unidades Formadoras de Colônias</i>	64
<i>3.5.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	64
<i>3.5.5. Microscopia Confocal à Laser (MCL)</i>	65
3.6. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL	66
3.7. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MECÂNICAS	66
<i>3.7.1. Resistência à Flexão</i>	66
<i>3.7.2. Rugosidade Superficial</i>	67
<i>3.7.3. Dureza</i>	68
<i>3.7.4. Molhabilidade</i>	68
<i>3.7.5. Sorção, Solubilidade e Porosidade</i>	69
<i>3.7.6. Perda de Massa por Desafio Ácido</i>	70
<i>3.7.7. ICP-MS</i>	70
<i>3.7.8. UV/visível</i>	71
3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
4. RESULTADOS	73
4.1. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	75
4.2. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL	75

4.3. UNIDADE FORMADORA DE COLÔNIAS	79
<i>4.3.1. Candida albicans</i>	79
<i>4.3.2. Pseudomonas aeruginosa</i>	79
<i>4.3.3. Staphylococcus aureus</i>	79
<i>4.3.4. Streptococcus mutans</i>	80
4.4. XTT	80
4.5. MCL E MEV	81
4.6. RESISTÊNCIA À FLEXÃO	83
4.7. RUGOSIDADE	84
4.8. DUREZA	85
4.9. MOLHABILIDADE	86
4.10. SORÇÃO, SOLUBILIDADE E POROSIDADE	88
4.11. PERDA DE MASSA POR DESAFIO ÁCIDO	89
4.12. ICP-MS	89
4.13. UV/VISÍVEL	89
5. DISCUSSÃO	91
6. CONCLUSÕES	101
REFERÊNCIAS	105

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

O polimetilmetacrilato (PMMA) é utilizado para confecção de diversos dispositivos orais, como coroas provisórias, bases de próteses totais, removíveis, overdentures, aparelhos ortodônticos, placas mio-relaxantes e placas oclusais (MANGAL et al., 2019; ROKAYA et al., 2018; ZAFAR, 2020), por apresentar propriedades físico-químicas e mecânicas favoráveis para utilização na cavidade oral (ELWAKIEL, EL-SAYED, ELKAFRAWY, 2020; ZOCCOLOTTI, 2017) e ser de fácil manipulação e baixo custo (QUEIROZ et al., 2013). O PMMA é um polímero amorfo formado pela polimerização do monômero metilmetacrilato e pode ser afetado por essas condições e procedimentos de fabricação do material, principalmente em função de seu desempenho (CASCIONE et al., 2021).

Apesar de suas vantagens, o PMMA possui alta porosidade, característica que pode alterar suas propriedades e contribuir na colonização de microrganismos (KREVE, REIS, 2021), além de problemas críticos em relação ao método de processamento, como a volatilização do monômero e os processos de contração que ocorrem durante a polimerização, que podem resultar em defeitos como irregularidades na superfície, alteração de forma e acúmulo de micro-organismos, o que afeta a funcionalidade e sobrevivência do material (ARENA et al., 2017; FIGUEROA et al., 2018; KASINA et al., 2014).

O acúmulo de biofilme relacionado ao uso de próteses, pode acarretar em patologias locais como a estomatite protética, condição patológica caracterizada por um quadro inflamatório na mucosa do paciente em contato com a base da prótese (ALTINCI et al., 2018; HOTTA et al., 2019), inflamação local e doenças sistêmicas, como a pneumonia, visto a proximidade da prótese com o trato respiratório (de CASTRO et al., 2018; KREVE et al., 2019). Tais fatores podem limitar a longevidade do tratamento reabilitador devido ao risco de infecções e redução da qualidade e da expectativa de vida, principalmente em idosos desdentados, o que caracteriza um importante problema de saúde (LAZARIN et al., 2013; de CASTRO et al., 2014; VALENTE et al., 2019).

Uma das estratégias apresentadas por pesquisadores, para minimizar este problema, é a incorporação de agentes antimicrobianos ao PMMA, a fim de reduzir a adesão e crescimento de microrganismos (de CASTRO et al., 2016; CAMPOS, BOTELHO, REIS, 2021). Novos antimicrobianos estão sendo avaliados e estudados como grande atributo para o desenvolvimento de um material modificado, utilizado na confecção de próteses, que lhe confira efetividade antimicrobiana e propriedades físico-químicas e mecânicas ideais para a aplicabilidade clínica.

Com o advento da nanotecnologia permitindo uma caracterização da estrutura morfológica e propriedades químicas destas nanoestruturas, como sistemas promissores que melhoram o potencial antibacteriano de materiais modificados (HOLTZ et al., 2010; HOLTZ et al., 2012), diferentes estudos contendo semicondutores mostraram excelentes resultados quando incorporados à materiais odontológicos, como o vanadato de prata nanoestruturado decorado com nanopartículas de prata (β -AgVO₃) (de CASTRO et al., 2014; de CASTRO et al., 2019; FERREIRA et al., 2020; KREVE et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2019) e o óxido de grafeno reduzido (OGr) (LEE et al., 2018; RADHI et al., 2021).

Íons prata reduzem a adesão de microrganismos bucais e desorganizam a membrana bacteriana pelo seu mecanismo de ação de ROS (espécies reativas de oxigênio) que levam sua morte celular (YIN et al., 2020; CAMPOS et al., 2021). Devido à dificuldade de obtenção das nanopartículas de prata (AgNPs) livres de aglomerações, foi desenvolvido por Holtz et al., (2010) o beta vanadato de prata nanoestruturado e decorado com nanopartículas de prata (β -AgVO₃), que estabiliza as AgNPs pelos fios de vanádio, e aumenta sua ação antimicrobiana através da sinergia entre as AgNPs e vanádio (4V⁺), que interagem com proteínas celulares e os grupos tiol da enzima bacteriana inibindo a replicação de seu DNA (CAMPOS et al., 2021; HOLTZ et al., 2010; HOLTZ et al., 2011). O uso do β -AgVO₃ é consolidado na literatura odontológica por sua ação antimicrobiana que é capaz de reduzir infecções locais e sistêmicas com efetividade antimicrobiana frente à microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, *Streptococcus mutans* e *Candida Albicans* (CASTRO et al., 2014; CASTRO et al., 2016; CASTRO et al., 2019; FERREIRA et al., 2020; KREVE et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2019; VIDAL et al., 2021; UEHARA et al., 2022), além de manter o desempenho mecânico do material modificado em baixas concentrações (CAMPOS et al., 2021).

O grafeno em sua estrutura 2D é formado por apenas uma camada de átomos, foi relatado pela primeira vez por Novoselov et al., (2004) e possibilita a inovação de materiais (NOVOSELOV et al., 2004) por ser biocompatível, flexível e resistente (TAHRINI et al., 2019). Duas formas de grafeno são obtidas, a partir de sua oxidação (óxido de grafeno) e redução (óxido de grafeno reduzido) e aplicadas na ciência, tecnologia, biomedicina e odontologia, através da funcionalização de metais, de ligantes orgânicos e de matrizes poliméricas, a fim de conferir-lhes melhorias em suas propriedades (MAJUMDER, GANGOPADHYAY, 2022; TAHRINI et al., 2019; RAMÓN-RAYGOZA et al., 2016).

O óxido de grafeno (GO) é obtido pela oxidação do grafite, com regiões hidrofóbicas e hidrofílicas, além de grupos funcionais de oxigênio que facilitam a associação química do grafeno com outros compostos (LEE et al., 2018). O GO também é solúvel em água, possui

alta área superficial de contato, propriedades elétricas, ópticas e reatividade química, o que permite sua multifuncionalidade e ampla aplicabilidade tecnológica (RADHI et al., 2021). O óxido de grafeno reduzido (rGO) sintetizado pela redução do GO, contém radicais livres que diminuem a presença de oxigênio, o que torna a molécula mais estável e com alta condutividade elétrica, pela maior quantidade de ligação carbono-carbono (KUMAR et al., 2019). A redução dos grupos funcionais oxigenados, entretanto, pode resultar na diminuição do potencial de área superficial e da solubilidade do composto reduzido (KUMAR et al., 2019). Os compostos apresentam excelentes propriedades microbiológicas devido à sua capacidade de desorganizar a integridade da membrana celular bacteriana por sua estrutura de bordas afiadas e transferência de elétrons (LEE et al., 2018; NIZAMI et al., 2020; RADHI et al., 2021). Além disso possui uma grande área de superfície, o que favorece sua atuação antimicrobiana (LEE et al., 2018; RADHI et al., 2021).

Embora a adição do vanadato de prata nanoestruturado decorado com nanopartículas de prata seja aplicado em materiais odontológicos para conferir ação antimicrobiana (CASTRO et al., 2014; CASTRO et al., 2016; CASTRO et al., 2019; FERREIRA et al., 2020; KREVE et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2019; VIDAL et al., 2021; UEHARA et al., 2022), a incorporação de outros elementos, como compostos de grafeno, deve ser estudada para a compreensão de sua influência nestes materiais. Entretanto, o desenvolvimento de resinas acrílicas dentárias capazes de inibir a formação de biofilme e controlar fatores de risco de doenças locais e sistêmicas, é um desafio, uma vez que a modificação do material pode reduzir sua eficácia mecânica (PALEARI et al., 2011; WANG, SHEN, HAAPASALO, 2014). Além da dificuldade de incorporação homogênea dos antimicrobianos quando encontrados em partículas, que podem apresentar seu efeito reduzido por não estarem distribuídas e dispersas em toda a superfície do material (CASTRO et al., 2014) e possíveis causas de toxicidade ao organismo, quando os antimicrobianos são utilizados em altas concentrações (CHEN, SUH, YANG, 2018).

Assim, estudos buscam encontrar um meio de controlar a adesão e a formação de biofilme através da compreensão das interações físicas que governam a fixação bacteriana, aliviando as infecções associadas aos biomateriais, além de poder controlar a patogenicidade do biofilme (KREVE e REIS, 2021) e manter ou aprimorar as propriedades mecânicas dos materiais odontológicos, a fim de garantir a sobrevivência dos mesmos e maior durabilidade nos tratamentos reabilitadores que utilizam a resina acrílica.

Tendo em vista as características promissoras das nanopartículas de β -AgVO₃ e OGr, este estudo visa melhorar o desempenho clínico de resinas acrílicas com a adição de semicondutores. Este projeto propõe a comparação de resinas acrílicas (auto e

termopolimerizáveis) incorporadas com vanadato de prata decorado com nanopartículas de prata (β -AgVO₃) óxido de grafeno reduzido (OGr) e inferir a correlação estrutura-propriedades físico-químicas, mecânicas e microbiológicas dos materiais modificados.

2. Proposição

2. PROPOSIÇÃO

Objetivo geral deste projeto será caracterizar resinas acrílicas mais utilizadas para confecções de próteses odontológicas, auto e termopolimerizáveis, incorporando-as com semicondutores (óxido de grafeno reduzido e vanadato de prata nanoestruturado decorado com nanopartículas de prata) e avaliar suas propriedades físico-químicas, mecânicas e microbiológicas.

Como objetivos específicos serão estudados:

1. Concentração inibitória mínima dos semicondutores contra microrganismos específicos
2. Efetividade antimicrobiana das resinas acrílicas através de:
 - 2.1. Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC)
 - 2.2. Ensaio de redução de sais de tetrazólio-XTT
 - 2.3. Microscopia confocal a laser
3. Caracterização microestrutural:
 - 3.1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)
 - 3.2. Microanálise de raios-X (EDS)
 - 3.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)
4. Propriedades físico-mecânicas e morfológicas das resinas acrílicas incorporadas com semicondutores, avaliando-se:
 - 4.1. Resistência à flexão
 - 4.2. Rugosidade superficial
 - 4.3. Dureza
 - 4.4. Molhabilidade
 - 4.5. Sorção e Solubilidade
 - 4.6. Porosidade
 - 4.7. Desafio ácido
 - 4.8. ICP-MS
 - 4.9. UV-Visível

3. Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. SÍNTESE DOS SEMICONDUTORES

3.1.1. *Vanadato de Prata Nanoestruturado e Decorado com Nanopartículas de Prata (β -AgVO₃)*

A síntese foi descrita por HOLTZ et al., 2010 e realizada previamente à este projeto no Centro de Desenvolvimento de Materiais Funcionais (CDMF), da Universidade Federal de São Carlos - Departamento de Química, em uma reação de precipitação entre nitrato de prata (AgNO₃, Merck 99,8%) e metavanadato de amônio (NH₄VO₃, Merck 99%).

3.1.2. *Óxido de Grafeno Reduzido (OGr)*

A síntese de óxido de grafeno reduzido (OGr) foi realizada pelo método de Hummers modificado, utilizando como base a síntese desenvolvida por ABDOLHOSSEINZADEH et al., 2015. Para obtenção do óxido de grafeno (OG), 3g de grafite foram adicionados à 90mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) sob agitação em banho de gelo. Em seguida, foram adicionados 7,5g de permanganato de potássio (KMnO₄) lentamente em temperaturas abaixo de 20°C para oxidação do grafite. Ao fim desta etapa, a mistura permaneceu em agitação por 20 minutos, sendo levada para agitação em banho ultrassônico por 10 minutos. Este processo de agitação foi repetido por 21 vezes. Ao final, 100mL de água deionizada foram adicionados lentamente em agitação e ao fim a mistura retornou para o banho ultrassônico onde permaneceu por 1 hora em temperatura ambiente. A solução tóxica (H₂SO₄ e KMnO₄) do material foi descartada, permanecendo apenas a parte decantada e o becker foi completado com água deionizada. Em seguida, a solução foi vertida em três tubos de 50ml, com o mesmo peso cada um e levados à centrífuga por 10 minutos em 6.000rpm. Após este período, os tubos foram retirados da centrífuga e a solução teve seu pH medido no pHmetro. Os tubos passaram por lavagens sucessivas por decantação e levados novamente à centrífuga. Este procedimento foi repetido até que o pH fosse ajustado entre 4,5 e 6. Ao fim do processo foi obtido OG.

O processo de redução do OG obtido foi executado por rota química utilizando glicose como agente redutor. 15g de glicose foram dissolvidos em 1L de água deionizada até que a mistura se tornasse límpida. 100mg de OG foram dissolvidos em 250mL (água deionizada + glicose) e a solução foi levada para síntese sonoquímica em frequência de 20kHz, 750W, amplitude de 35% por 5 minutos. Em seguida, para acelerar o processo de redução, 1mL de base (1 molar de NaOH) foi acrescentado na solução e a mesma foi levada à sonicação por 10 minutos. Este processo foi realizado durante 65 minutos colocando 1mL de base a cada 10

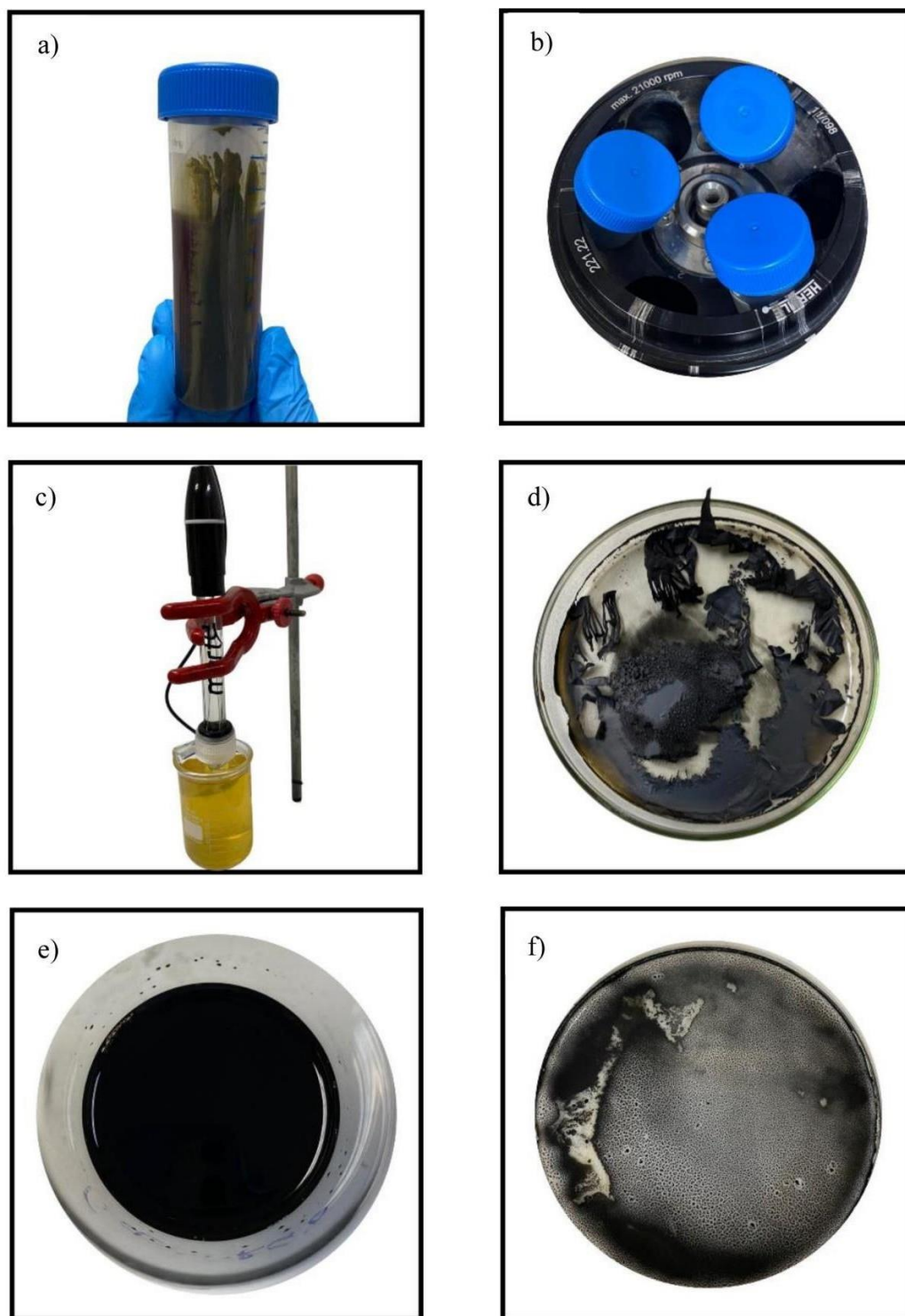
minutos, até que 6mL fossem adicionados à solução. Ao final, 4mL de ácido clorídrico dissolvidos em 100mL de água deionizada foram adicionados à solução para eliminar o ácido glucônico formado na reação entre glicose e base. Após a decantação, o material obtido foi levado em estufa a 100°C por 12 horas, obtendo-se ao fim OGr.

Figura 1. Fluxograma da síntese de OGr.



Fonte: Autoria própria.

Figura 2. Etapas da síntese do óxido de grafeno (OG) até a sua redução.



Fonte: Autoria própria.

Legenda: a) Decantação do OG; b) Soluções na centrifuga para normalização do $\text{pH} \geq 4,5$; c) Medição da solução no pHmetro; d) Obtenção do OG; e) Óxido de grafeno reduzido após processo de redução; f) Pó de óxido de grafeno reduzido (OGr).

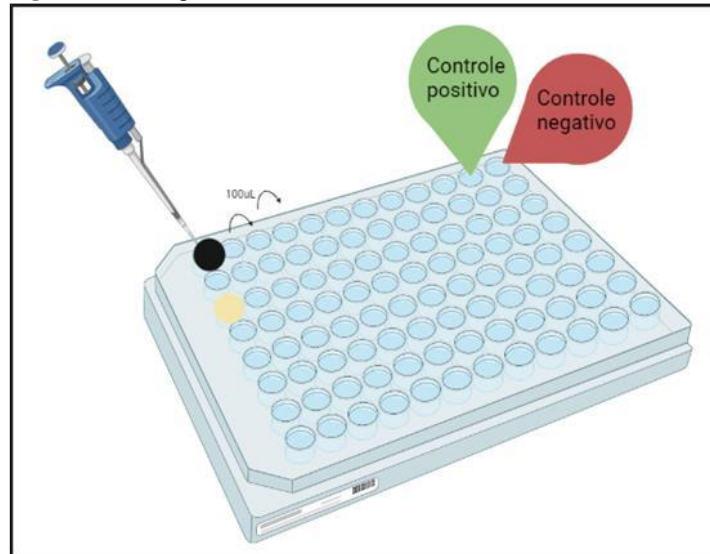
3.2. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

Inicialmente foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) do OGr e β -AgVO₃ frente à *Candida albicans* (ATCC10231), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) pelo método das diluições sucessivas em placas de cultura celular (TPP, Trasadingen, Unterklettgau, Suíça) contendo 96 poços e em duplicata.

Foram adicionados em cada poço da placa de 96 poços 100 μ L do meio de cultura em concentração dupla e 100 μ L do material avaliado (30mg dos materiais foram diluídos em 1 mL de solução salina). 5 μ L do inóculo na proporção 10^7 UFC para leveduras e 10^8 UFC para bactérias foram adicionadas. Diluições sucessivas foram realizadas e assim 100 μ L transferidos para o próximo poço. O controle positivo continha 50 μ L de meio de cultura + 50 μ L de solução salina + 10 μ L do inóculo diluído. E o controle negativo continha 50 μ L de meio de cultura + 50 μ L do material.

Os resultados foram analisados com base na turvação do meio, identificado a olho nu. Havendo turvação, o resultado foi considerado ineficiente para ação antimicrobiana dos materiais. Para confirmar os achados na turvação do meio, uma placa de petri com meio de cultura específico para cada microrganismo foi semeada e os dados foram analisados qualitativamente.

Como se sabe, a CIM do material puro, não equivale à mínima concentração inibitória do mesmo quando é misturado em outro material. Essa análise foi conduzida para verificar se os materiais têm efeito contra os microrganismos propostos. No entanto, a eficácia antimicrobiana das resinas combinadas com os materiais será avaliada com base na atividade metabólica das células viáveis, utilizando o método XTT, contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e microscopia confocal a laser após 48 horas da formação do biofilme.

Figura 3. Fluxograma da CIM dos semicondutores.

Fonte: Autoria própria.

Legenda: Diluição seriada dos semicondutores OGr e β -AgVO₃ respectivamente.

3.3. CONFECCÃO DOS ESPÉCIMES

Os espécimes foram confeccionados em diferentes dimensões. Para o ensaio de resistência à flexão, foram obtidos 140 corpos de prova de 65 mm x 10 mm x 3,3 mm de acordo com a norma ISO 20795-1:2008 (n=10). Para análise de MEV, EDS, rugosidade, dureza e molhabilidade foram confeccionados 140 corpos de prova de 9 mm x 2 mm (n=10 para ensaios mecânicos/ físico-químicos) (n=2 para análises microestruturais). 140 amostras em 15 mm x 2 mm para sorção, solubilidade e porosidade e 448 espécimes em dimensões de 6 mm x 10 mm x 3,3 mm foram obtidos para o ensaio microbiológico de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC).

Tabela 1. Composição das resinas acrílicas incorporadas com os semicondutores.
Composição (% massa)

Resina autopolimerizável (grupo controle 0%)
Resina autopolimerizável + 0,5% β -AgVO ₃
Resina autopolimerizável + 1% β -AgVO ₃
Resina autopolimerizável + 3% β -AgVO ₃
Resina autopolimerizável + 0,5% OGr
Resina autopolimerizável + 1% OGr
Resina autopolimerizável + 3% OGr
Resina termopolimerizável (grupo controle 0%)
Resina termopolimerizável + 0,5% β -AgVO ₃
Resina termopolimerizável + 1% β -AgVO ₃
Resina termopolimerizável + 3% β -AgVO ₃
Resina termopolimerizável + 0,5% OGr
Resina termopolimerizável + 1% OGr
Resina termopolimerizável + 3% OGr

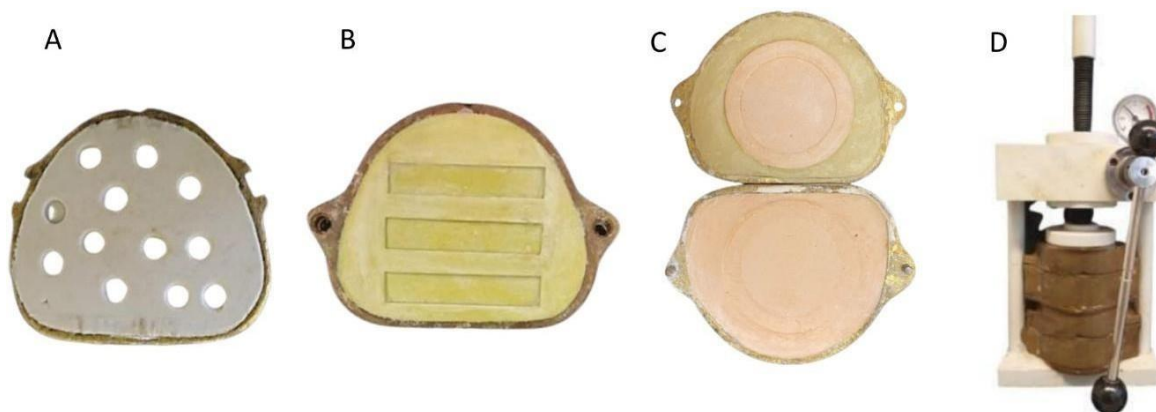
3.3.1. Inclusão das matrizes em muflas metálicas

As amostras foram confeccionadas pela inclusão de matrizes metálicas em muflas metálicas convencionais (OGP, Produtos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil). Uma camada de gesso pedra Tipo III (Gesso Rio, Orlando Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil), espatulado mecanicamente na proporção 30 mL de água para 100 g de pó, foi inserida na mufla. Após a presa, esta foi preenchida com Zetalabor® (Zhermarck, Labordental Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e as matrizes envolvidas, exceto em uma das faces, niveladas com placa de vidro. Posicionou-se a contra- mufla e a inclusão finalizada com gesso tipo III, **Figura 4A**.

Para os espécimes 65 mm x 10 mm x 3,3 mm, as matrizes foram incluídas em gesso tipo IV (Gesso Rio, Orlando Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil), **Figura 4B**. Realizou-se isolamento do gesso e do Zetalabor® com Cel-Lac (SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Para os espécimes 15 mm x 2 mm, as matrizes foram incluídas em gesso tipo IV (Gesso Rio, Orlando Antônio Bussioli ME, Rio Claro, SP, Brasil), **Figura 4C**. Realizou-se isolamento do gesso e do Zetalabor® com Cel-Lac (SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Figura 4. **A.** Mufla com Zetalabor® para confecção dos espécimes nas dimensões 9mm x 2mm. **B.** Muflas para confecção dos espécimes com dimensões de 65mm x 10mm x 3,3mm. **C.** Muflas para confecção dos espécimes com dimensões de 15 mm x 2 mm. **D.** Muflas posicionadas em prensa hidráulica com carga de 1000 Kgf por 60 minutos.



Fonte: Autoria própria.

3.3.2. Prensagem

A quantidade de OGr e β -AgVO₃ (0 (controle), 0,5%, 1% e 3%) foi calculada em proporção à massa de pó da resina acrílica autopolimerizável (RAA) e termopolimerizável (RAT), respeitando as proporções recomendadas pelo fabricante, **Tabelas 1 e 2**. Adicionou-se o material ao pó da resina e homogeneizou. O monômero foi acrescido à mistura, e a manipulação realizada de acordo com a prática clínica.

Tabela 2. Proporção em massa (g) de material incorporado para confecção dos corpos de prova 9mm x 2mm.

Grupos	Pó da resina (g)	Pó do material (g)	Líquido (ml)
Controle	7	-	3,23
0,5%	6,965	0,035	3,23
1%	6,93	0,070	3,23
3%	6,790	0,210	3,23

Tabela 3. Proporção em massa (g) de material incorporado para confecção dos corpos de prova 65mm x 10mm x 3,3mm.

Grupos	Pó da resina (g)	Pó do material (g)	Líquido (ml)
Controle	16	-	7,5 – 7,0*
0,5%	15,92	0,08	7,5 – 7,0*
1%	15,84	0,16	7,5 – 7,0*
3%	15,520	0,48	7,5 – 7,0*

* 7,0 ml corresponde à resina RAT e 7,5ml à RAA.

Durante a fase plástica, a resina foi acomodada nos moldes preparados e colocadas em prensas hidráulicas com carga 1000 Kgf por 60 minutos, **Figura 4D**. Após permanecer na prensa, a RAT foi polimerizada por banho d'água por meio da termopolimerizadora automática Termociler 100 (Oficina de precisão, Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) até 94°C por 3 horas.

3.3.3. Desinclusão e Acabamento

Após a desinclusão, os excessos foram removidos com fresa (Maxi-cut, Malleifer AS, Ballaiguer, Swetzerland) e com lixas d'água Norton 300, 400, 600 e 1200 com auxílio de politriz lixadeira metalográfica. As dimensões foram avaliadas com paquímetro digital (Mitutoyo®, Japão).

Figura 5. Corpos de prova.

Fonte: Autoria própria.

Legenda: Da esquerda para a direita – OGr; 3%; 1%; 0,5% de β -AgVO₃ e grupo controle.

3.3.4. Padronização da Rugosidade

A padronização da rugosidade foi realizada para que a superfície do material não interfira na adesão dos microrganismos e 0,2 μm é um limiar favorável (CASTRO et al., 2017). Assim, as amostras dos ensaios microbiológicos foram padronizadas em 0,2 μm com polimento por lixas d'água 1200 e verificadas por Rugosímetro (Surftest SJ-201P, Mitutoyo Corporation, Japan).

3.4. ESTERILIZAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

Os espécimes para análise microbiológica foram esterilizados por plasma de peróxido de hidrogênio (STERRAD) na Multilav – Esterilização de Materiais - Ribeirão Preto-SP.

3.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os ensaios de XTT e UFC foram realizados frente à todas as concentrações de ambos os materiais (controle; 0,5%; 1% e 3%). Para cada concentração foram obtidos n=8 espécimes para cada resina frente à cada microrganismo. Totalizando 448 espécimes.

Para o preparo do inóculo, os microrganismos foram semeados em placas de Petri sobre o meio de cultura específico e incubados a 37°C por 48 horas.

A seguir, para a padronização dos inóculos, uma alçada dos microrganismos recém-cultivados foi adicionada à solução salina a 0,85%. A turvação da suspensão microbiana foi verificada por meio da escala 0,5 de McFarland (108 UFC/mL para as bactérias e 106 UFC/mL para a levedura) e obtidas por meio do espectrofotômetro PCB 687 (BYK Gardner), com a leitura da absorbância entre 0,08 a 0,1 em comprimento de onda de 625 nm.

3.5.1. Desenvolvimento do Biofilme

Asépticamente, em câmara de fluxo laminar (Pachane, pa 400 – ECO, Piracicaba, São Paulo, Brasil) o biofilme dos microrganismos foi formado em placas de cultura pré-estéreis de 24 orifícios. Os espécimes foram distribuídos em cada poço e 1 alíquota de 1 mL do meio de cultura inoculado foi transferida para cada orifício.

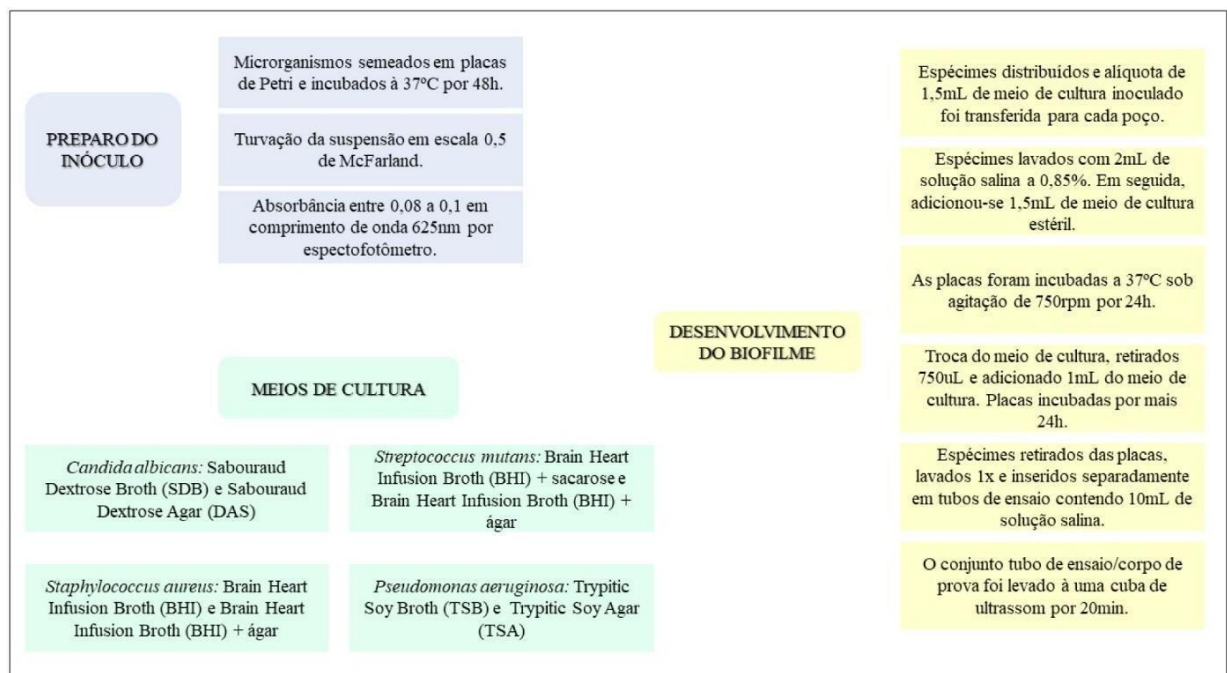
As placas foram incubadas a 37°C por 1 hora e 30 minutos sob agitação de 750 rpm em estufa bacteriológica (Incubadora Shaker, Mod. – CE-320, Cienlab, Campinas, SP, Brasil) para aderência do biofilme nos corpos de prova. Após o período de adesão, os corpos de prova foram lavados cuidadosamente com 2 mL de solução salina a 0,85% com a finalidade de remover as células não aderidas, tamponar o meio e remover os metabólitos.

Em seguida, 2 mL de meio de cultura estéril foram adicionados em cada poço com o objetivo de oferecer mais nutrientes aos microrganismos. As placas foram incubadas a 37°C sob agitação de 750 rpm por 48h para a maturação do biofilme.

Decorrido esse período, os espécimes foram retirados das placas de 24 poços, lavados 1 vez com solução salina e inseridos separadamente em tubos de ensaio contendo 3 mL de solução salina, devidamente identificados.

O conjunto tubo de ensaio/corpo de prova foi levado a uma cuba de ultrassom (Altsonic, Clean 9CA, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) por 20 minutos, até o desprendimento dos microrganismos.

Figura 6. Fluxograma das etapas de preparação do inóculo, desenvolvimento do biofilme e os meios de cultura utilizados para cada microrganismo.



Fonte: Autoria própria.

3.5.2. Ensaio de XTT

A viabilidade do biofilme foi avaliada pelo ensaio de redução de XTT. Para o ensaio foi utilizado o XTT Cell Viability Assay Kit (Uniscience, São Paulo, Brasil), esse kit é composto pela solução XTT e pelo reagente de ativação.

Aliquotas de 100 µL da suspensão homogeneizada de cada tubo e 50 µL da solução de XTT [2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolio- 5- carboxanilida] foram transferidas para cada poço da placa de 96 poços. As placas foram incubadas no escuro a 37°C durante 24 horas para posterior quantificação da formação de formazan por espectrofotometria

a 492 nm utilizando um leitor de microplacas (Synergy II, BioTek Instruments, Winooski, VT, Estados Unidos).

3.5.3. *Unidades Formadoras de Colônias*

O número de células viáveis foi quantificado em termos de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL). Para a realização da semeadura dos meios de cultura específicos em placas de Petri, para cada microrganismo, a solução contida nos tubos de ensaio foi diluída de forma seriada. Para isso, os tubos foram individualmente agitados em agitador de tubos de ensaio (Phoenix, AP 56, Araraquara, São Paulo, Brasil), uma alíquota de 25 µL da solução foi utilizada sem diluição e posteriormente, uma alíquota de 25 µL foi transferida para um eppendorf contendo 250 µL de solução salina à 0,85%, sendo assim diluições seriadas de 10⁰ a 10⁻³.

Uma alíquota de 25 µL de cada diluição foi transferida à placa de Petri nos respectivos quadrantes e espalhada sobre o meio de cultura com o auxílio de uma alça Drigalsky. Em seguida, as placas foram incubadas à 37°C por 24 horas em estufa bacteriológica. A incubação do *S. mutans* foi em microaerofilia.

Após o período de incubação, foi realizada a contagem e registro do número de UFC. Para o cálculo considerou-se a diluição em que o número de UFC variou entre 30 a 300 colônias e foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{UFC}/10 \text{ mL} = (\text{número de colônias} \times 10^n/q) \times 10$$

Onde, n equivale ao valor absoluto da diluição (1, 2 ou 3), e q equivale à quantidade em mL, pipetada para cada diluição quando nas semeaduras das placas. No presente estudo, q=0,025 já que foram 25 µL para cada diluição. A média das 8 placas de cada grupo foi utilizada como valor final de contagem.

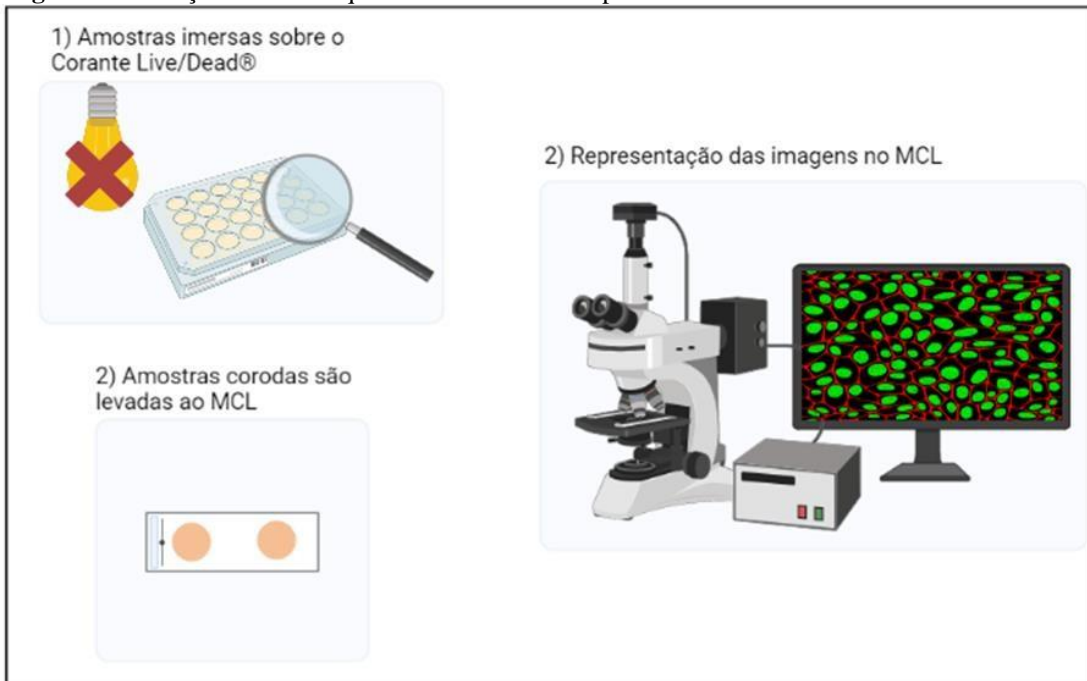
3.5.4. *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

Para análise morfológica do biofilme bacteriano, foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura (MEV), com tamanho amostral n=1. Após as 48 horas de formação do biofilme, o mesmo foi fixado nas amostras em 2,5% de glutaraldeído por 24 horas. Em seguida, os espécimes foram lavados com solução salina e desidratados em soluções crescentes de etanol por 10 minutos a cada imersão (30%, 50%, 70%, 90%, 95%, 100% e 100%). Passadas 24 horas as amostras foram montadas no aparelho do MEV para que suas superfícies fossem revestidas com uma camada de 20 nm de ouro. Em seguida foi realizada a leitura no microscópio.

3.5.5. Microscopia Confocal à Laser (MCL)

A análise qualitativa dos biofilmes (48h) foi realizada para o grupo controle e para as amostras incorporadas com 0,5%; 1% e 3% dos semicondutores. Concluído o período de desenvolvimento do biofilme nos espécimes, foi realizada a lavagem em 2 mL de solução salina a 0,85%. Em seguida, cada espécime foi transferido a um poço da placa de 24 poços. Para o preparo do corante, adicionaram-se 1,5 μ L da solução do componente A e 1,5 μ L da solução do componente B a 0,97 mL de solução salina a 0,85%, conferindo 0,3% de concentração à mistura. Os espécimes foram corados com 300 μ L da solução Live/Dead® BacLight™ L 7007 (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, EUA), gotejada sobre o biofilme e incubados por 15 minutos ao abrigo de luz a temperatura ambiente para que houvesse a difusão dos fluorocromos no biofilme. A seguir os espécimes foram enxaguados uma vez com solução salina para remoção do excesso de corante e 2 espécimes foram cuidadosamente montados em lamínula de vidro associada a óleo de imersão, com a face a ser avaliada voltada para baixo, para análise do biofilme em microscópio confocal Leica TCS – SPE (Leica Microsystems, Mannheim, Alemanha). Uma imagem de cada grupo foi capturada com o Microscópio Confocal de Varredura à Laser (CSLM; Leica Microsystemns CMS, Mannheim, Alemanha) com aumento de 63 x.

Figura 7. Ilustração da análise quantitativa de biofilme por MCL.

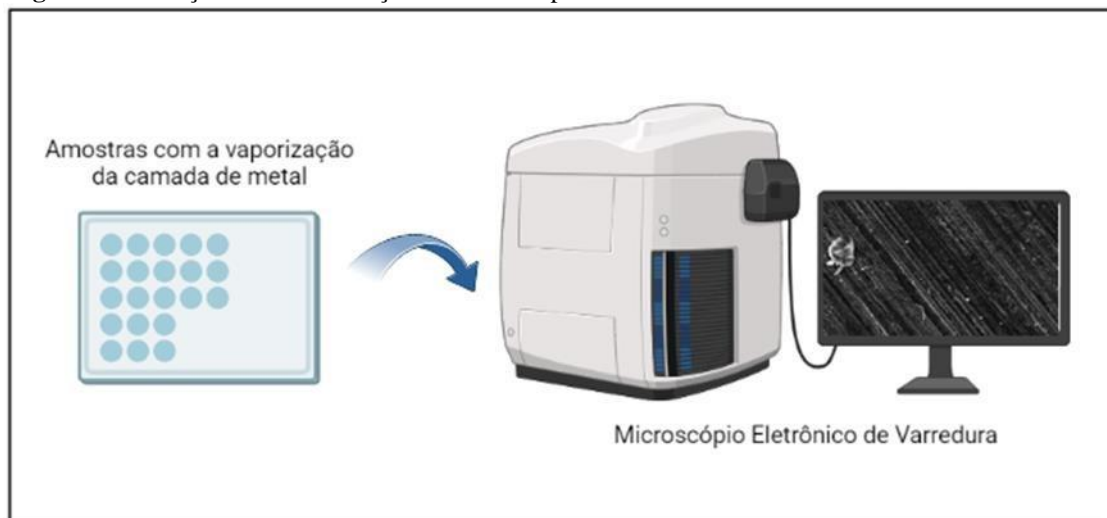


Fonte: Autoria própria.

3.6. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL

A caracterização das resinas acrílicas quanto à dispersão da carga utilizada foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para isso, as amostras foram recobertas pela vaporização de uma fina camada de ouro tornando a superfície condutora de elétrons, e posteriormente analisadas em um microscópio FEI Magellan 400 L acoplado a um sistema de análise espectroscópica por energia dispersiva de raios X (EDS), que auxiliou na caracterização superficial das amostras por meio de análise química qualitativa e através da calorimetria exploratória diferencial (DSC), por meio de análise quantitativa, na qual o analisador térmico registrou uma curva térmica com variação do fluxo de calor (10 °C a 300 °C/min) , associado a uma mudança térmica da amostra em função da temperatura.

Figura 8. Ilustração da caracterização as amostras por MEV.



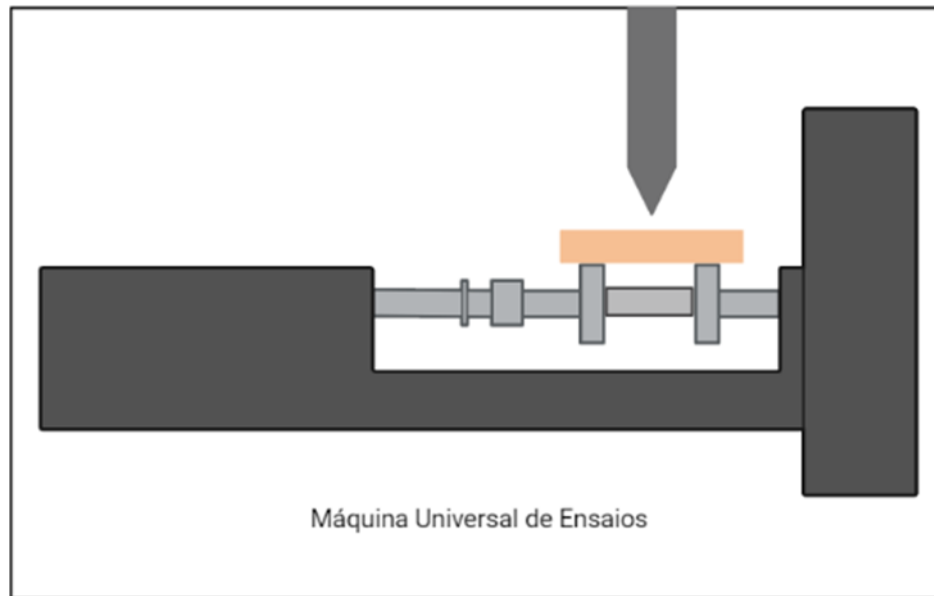
Fonte: Autoria própria.

3.7. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MECÂNICAS

3.7.1. Resistência à Flexão

De acordo com a ISO 20795-1:2008, os espécimes foram confeccionados nas dimensões de 65 mm x 10 mm x 3,3 mm. Um teste de flexão de três pontos foi realizado utilizando a máquina universal de ensaios (EMIC DL 2000, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil), a uma velocidade de 5 mm/min e carga de 20 kgf. A resistência à flexão em Mpa foi calculada

Figura 9. Ilustração do ensaio de Resistência à Flexão.

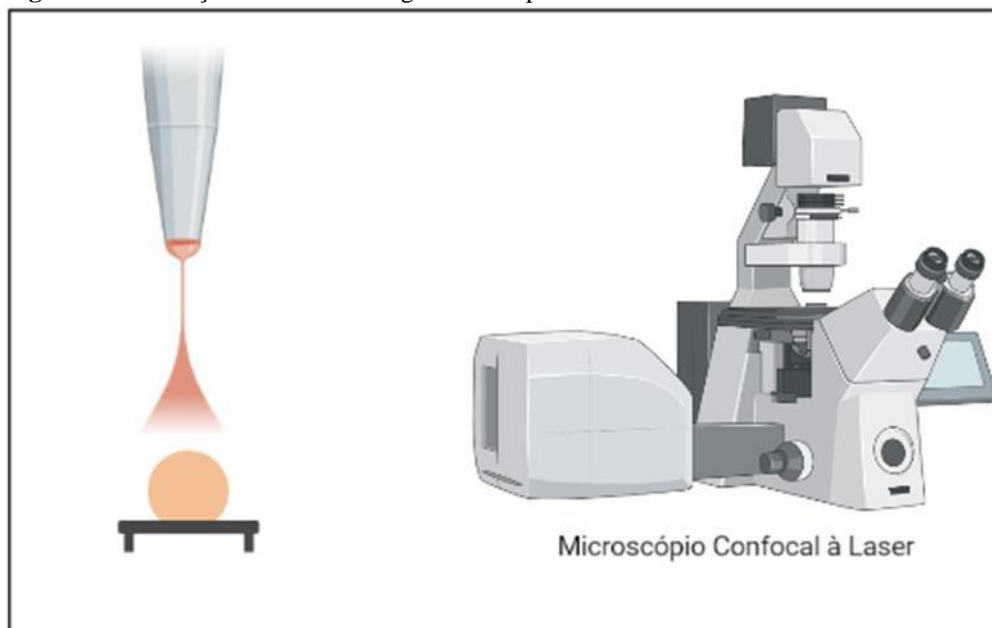


Fonte: Autoria própria.

3.7.2. Rugosidade Superficial

A rugosidade superficial (NBR ISO 4297) foi analisada com o microscópio confocal a laser 3D (LEXT 4000; Olympus, Hamburgo, Alemanha), que atua com a emissão de laser que analisa a superfície sem tocar a amostra com auxílio de lentes objetivas (MPLAPON) de 20x. Foram realizadas 3 medições equidistantes para cada amostra (n=10), com os parâmetros S_a [μm].

Figura 10. Ilustração do ensaio de rugosidade superficial.

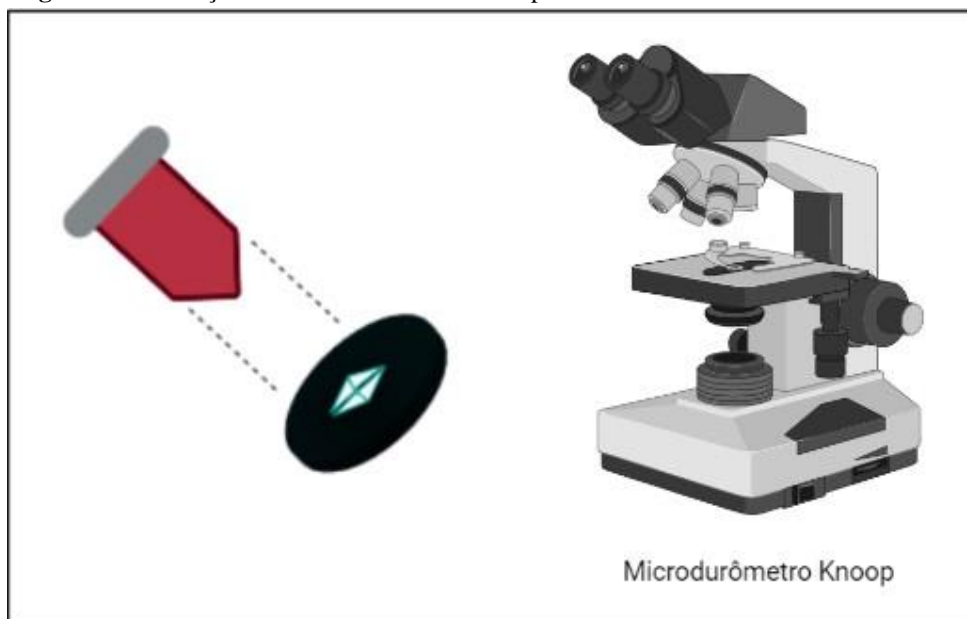


Fonte: Autoria própria.

3.7.3. Dureza

A análise da dureza superficial foi realizada por meio do Microdurômetro (Shimadzu HMV-2000, Japão). Foram realizadas 3 medições aleatoriamente em cada corpo de prova por meio de um penetrador tipo Knoop com carga de 2 kgf por 5 segundos. As endentações foram medidas através de duas marcas nos vértices do losango em uma imagem com aumento de 40x, determinando o comprimento da diagonal maior e, por conseguinte, os resultados de dureza Knoop por meio do cálculo automático feito pelo software do equipamento.

Figura 11. Ilustração do ensaio de Dureza Knoop.

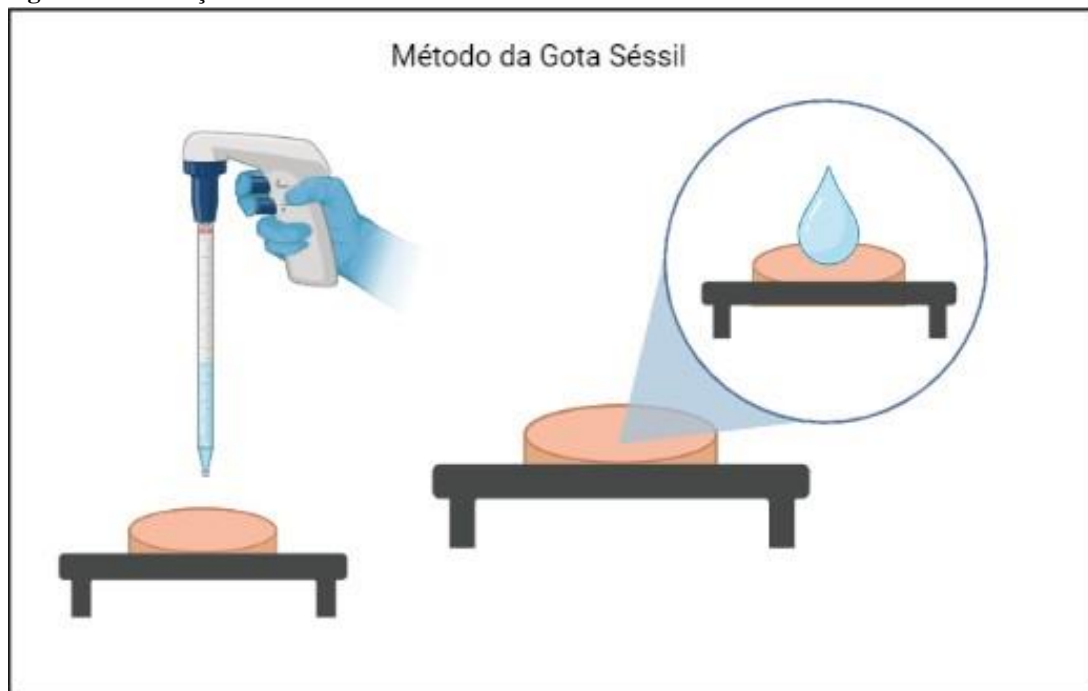


Fonte: Autoria própria.

3.7.4. Molhabilidade

A molhabilidade das superfícies foi avaliada através do método de gota sésil, utilizando-se um goniômetro (KSV CAM200) e um software (CAM 200 Contact Angle Measurement System) do Departamento de Química da FFCLRP/USP.

Para a molhabilidade foi utilizado água destilada. Uma gota de 4 μL foi depositada em cada superfície a ser analisada, sob temperatura ambiente constante. Um tempo de 60 segundos foi aguardado para a estabilização parcial da gota de água em contato com o substrato para obter uma medida, conforme variação do ângulo médio (Θ) em função do tempo. Três gotas foram analisadas por amostra; entre as análises, os discos foram secos com fluxo de nitrogênio por 1 min. 10 amostras por grupo foram analisadas e as medições realizadas corresponderam à média dos ângulos de contato esquerdo e direito. Imagens foram obtidas para avaliar qualitativamente a molhabilidade.

Figura 12. Ilustração do ensaio de molhabilidade.

Fonte: Autoria própria.

3.7.5. Sorção, Solubilidade e Porosidade

Para sorção, solubilidade e porosidade os corpos de prova foram pesados imediatamente após a obtenção, colocados em dessecador com sílica gel azul desidratada e pesados diariamente até estabilidade das massas ($\pm 0,001\text{g}$), obtendo a massa inicial (M_1). Em seguida, para sorção e solubilidade, foram imersos em 100 mL de água destilada por 7 dias até obtenção da massa final (M_2), e pesados diariamente até a estabilidade ($\pm 0,001\text{ g}$) (M_3). A perda de massa foi dada em g/cm^2 e calculada pelas fórmulas:

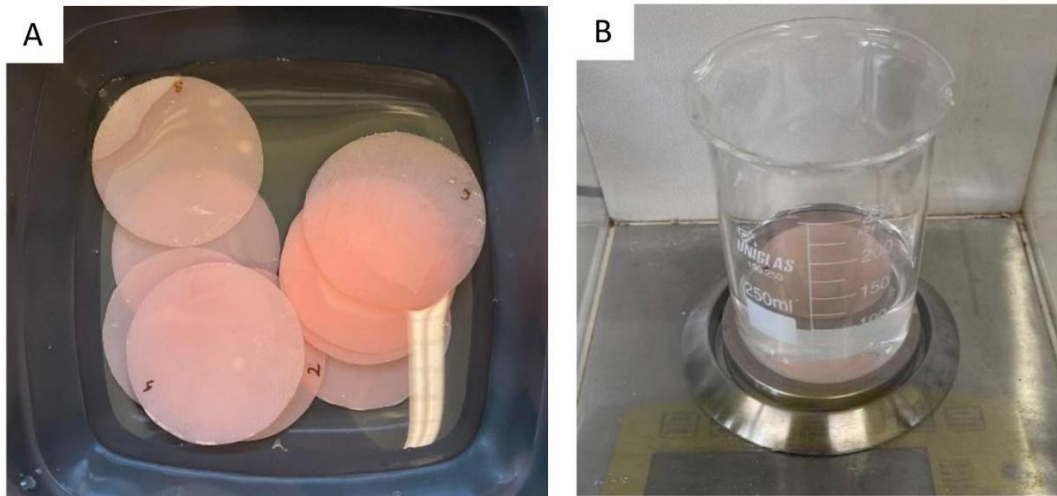
$$\text{Sorção} = \frac{M_2 - M_1}{V} \text{ (g/cm}^2\text{)}$$

$$\text{Solubilidade} = \frac{M_1 - M_3}{V} \text{ (g/cm}^2\text{)}$$

Para porosidade, os corpos de prova foram pesados imersos em 100 mL de água destilada e em seguida calculada de acordo com a fórmula:

$$\text{Porosidade} = \left(\frac{\text{Volume do espécime seco}}{\text{Volume do espécime úmido}} \right) \times 100\%$$

Figura 13. Ensaio de sorção, solubilidade e porosidade.



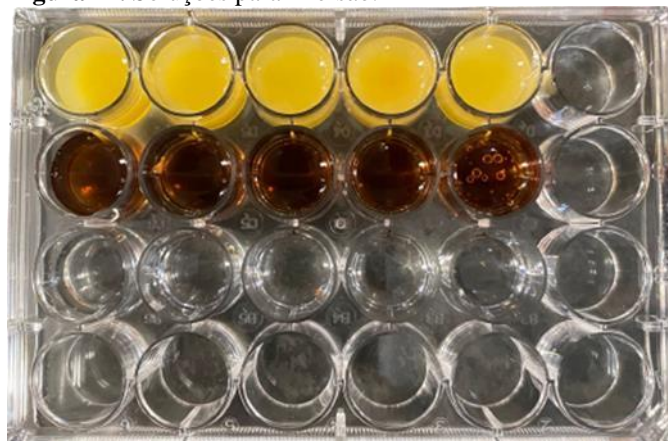
Fonte: Autoria própria.

Legenda: A imagem “A” representa a imersão dos espécimes em água destilada para realização dos ensaios de sorção, solubilidade e porosidade. A imagem “B” representa a pesagem do espécime em imersão para cálculo do ensaio de porosidade.

3.7.6. Perda de Massa por Desafio Ácido

Para o desafio erosivo, corpos de prova foram divididos em três grupos, com n=10, para imersão em 3 ml de cada uma das soluções ácidas: a) CocaCola; b) suco de soja de laranja (Ades); e c) saliva artificial. As soluções foram trocadas a cada três dias e foi realizado o ensaio de rugosidade média.

Figura 14. Soluções para imersão.



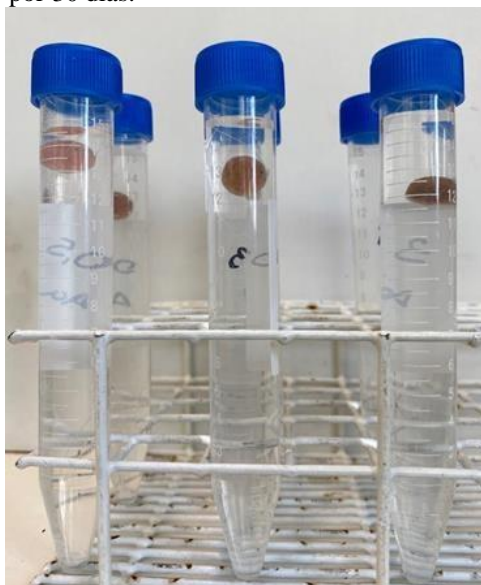
Fonte: Autoria própria.

3.7.7. ICP-MS

A liberação de ions de prata (Ag) vanádio (V) foi avaliada por espectrometria de massa de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) nas concentrações de 0,5; 1 e 3% de β -AgVO₃. As amostras foram dispostas em tubos de polipropileno (Becton Dickinson, Franklin

Lakes, NJ, EUA) com 15 mL de água deionizada e suspensas por um fio de nylon, incubadas em 37°C durante 30 dias. Em seguida, as amostras foram retiradas dos tubos e da água e analisadas a liberação de íons em NexIon 300X (PerkinElmer, Waltham, MA, EUA), pelas curvas de calibragem do equipamento. O tamanho amostral foi de n=1. Os resultados obtidos em partes por bilhão (ppb) foram convertidos em concentração (mg/L).

Figura 15. Amostras imersas para incubação por 30 dias.



Fonte: Autoria própria.

3.7.8. *UV/visível*

A espectrofotometria UV-visível é uma técnica analítica que utiliza a absorção da luz nas regiões do espectro ultravioleta (UV) e visível para determinar a concentração de substâncias em solução.

Inicialmente os corpos de prova foram imersos em 5 mL de água deionizada por 30 dias e armazenados em temperatura de 37 °C. Para visualização no espectrofotômetro, 1 mL da solução controle (amostra branca) foi inserida em cubeta de quartzo para calibração do equipamento, e em seguida, 1 mL da amostra em cubeta de quartzo foi utilizada para avaliar sua absorbância em relação a amostra branca no equipamento Hewlett Packard (Laboratório de química analítica – FFCLRP USP) em comprimento de onda de 190 nm à 1000 nm.

Figura 16. Amostras imersas para incubação por 30 dias.



Fonte: Autoria própria.

3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos após as metodologias realizadas foram submetidos à análise estatística no software SPSS 20.0, com teste paramétrico de ANOVA e pós-teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

4. Resultados

4. RESULTADOS

4.1. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

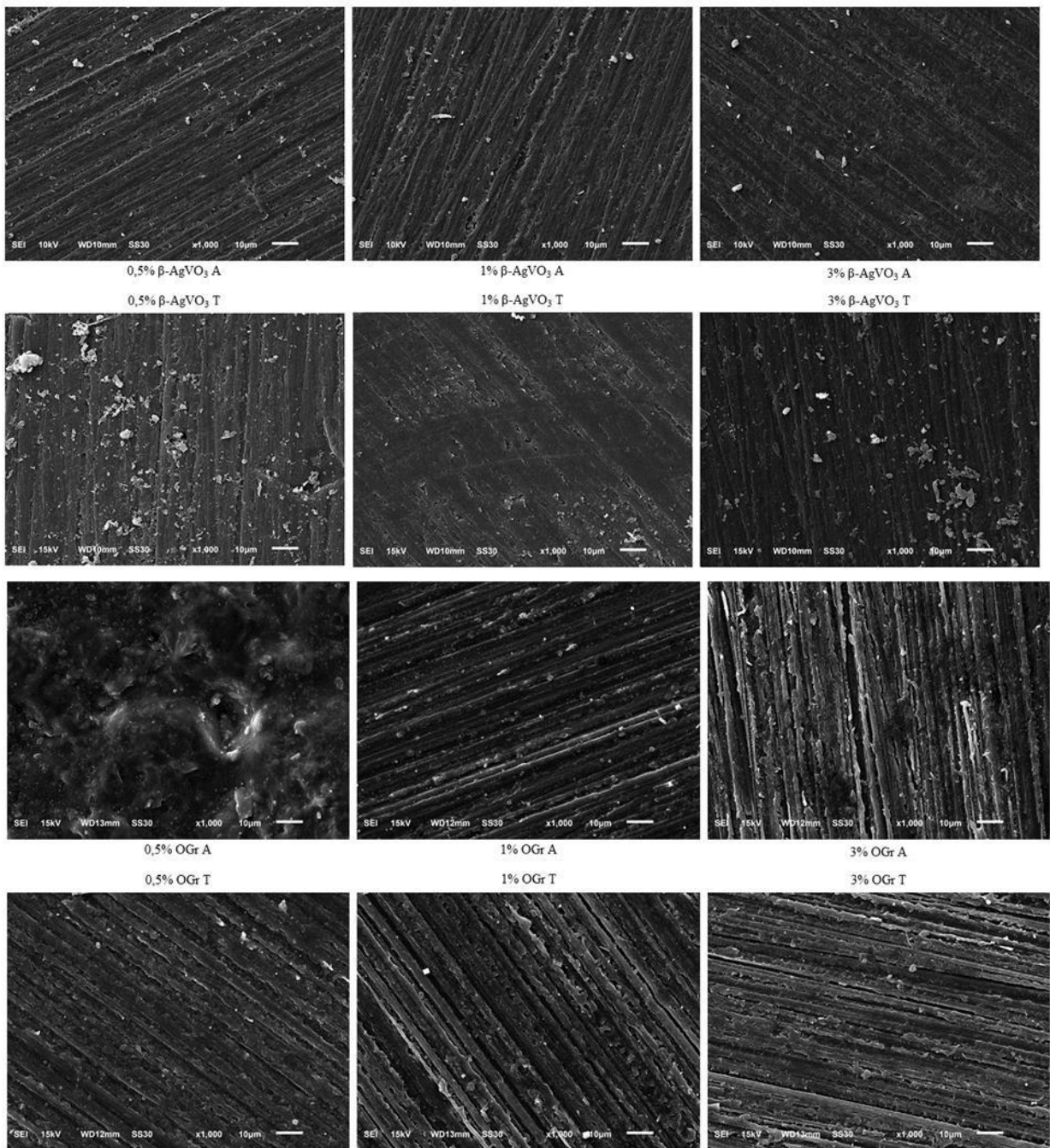
Os resultados obtidos na CIM do β -AgVO₃ e OGr estão apresentados na tabela 2. O OGr não apresentou CIM frente aos microrganismos avaliados (*C. albicans*, *P. aeuroginosa*, *S. aureus* e *S. mutans*).

Tabela 4. CIM do β -AgVO₃ e OGr frente à *C. albicans*, *P. aeuroginosa*, *S. aureus* e *S. mutans*..

Semicondutores	Concentração mg/mL		
	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeuroginosa</i>	<i>S. aureus</i>
β -AgVO ₃	0,23	0,05	0,23
OGr	-	-	-

4.2. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL

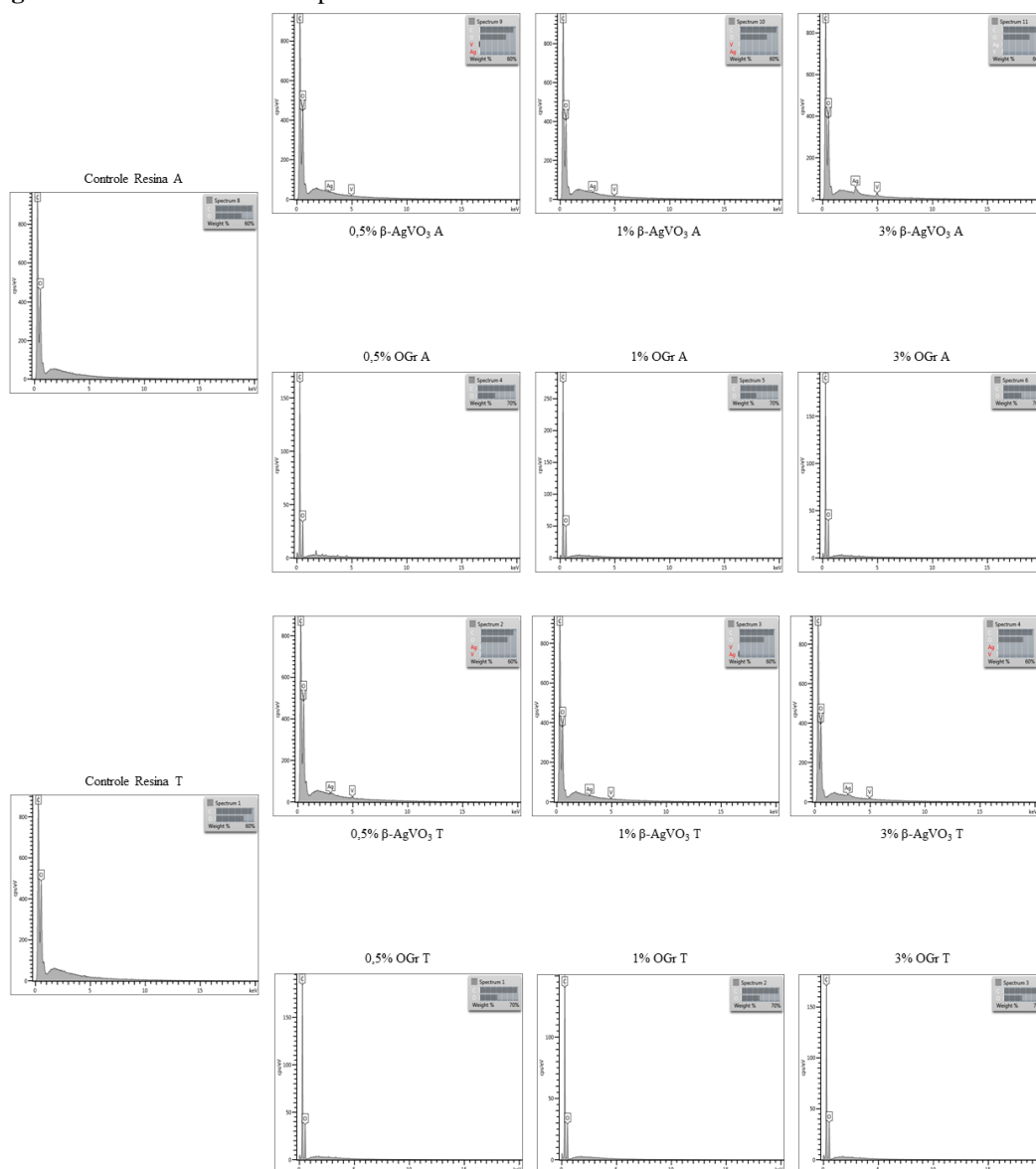
As imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV), indicaram a presença de pequenos aglomerados nos grupos incorporados com β -AgVO₃, nas concentrações de 0,5 e 3% da resina A. Já a incorporação de OGr indicou visualmente uma superfície com maior rugosidade em relação aos grupos com β -AgVO₃, principalmente na resina A. (**Figura 17.**)

Figura 17. Imagens da caracterização microestrutural obtidas por MEV.

A análise por EDS mostrou os elementos químicos em % presentes nas resinas A e T com β -AgVO₃ e OGr, contendo carbono (C), oxigênio (O), vanádio (V) e prata (Ag) presente na Tabela 3. e Figura 18.

Tabela 5. Resultados dos elementos químicos presentes nas resinas acrílicas modificadas.

Espécimes	Peso da massa em porcentagem (%)			
	C	O	V	Ag
Resina A	58,05	41,95	-	-
0,5% β-gVO₃	56,16	43,83	0,01	0,00
1% β-AgVO₃	57,38	42,57	0,05	0,00
3% β-AgVO₃	56,72	41,73	0,42	1,13
0,5% OGr	67,26	32,74	-	-
1% OGr	69,48	30,52	-	-
3% OGr	66,55	33,45	-	-
Resina T	56,45	43,55	-	-
0,5% β-gVO₃	54,80	44,86	0,15	0,19
1% β-AgVO₃	58,00	41,94	0,05	0,01
3% β-AgVO₃	57,45	42,21	0,13	0,21
0,5% OGr	67,78	32,22	-	-
1% OGr	67,18	32,82	-	-
3% OGr	66,88	33,12	-	-

Figura 18. Resultados obtidos pelo EDS.

A análise de DSC mostrou a variação de calor necessário para manter a mesma taxa de aquecimento das resinas modificadas comparadas ao controle, enquanto ambos foram submetidos a uma rampa de temperatura controlada de 10 à 300 °C/min em gás nitrogênio. De acordo com os resultados obtidos, nos grupos da resina A, as amostras com OGr apresentaram o ponto de fusão com grande diferença em relação ao controle e as resinas A incorporadas com β -AgVO₃ (**Figura 19**). Nos grupos da resina T, ambos os grupos se apresentaram diferentes em relação ao controle, o que indica possível alteração microestrutural das resinas T quando submetidas à altas temperaturas, visto que as mesmas já foram polimerizadas por calor (**Figura 20**).

Figura 19. Ilustração do gráfico de DSC dos grupos da resina A.

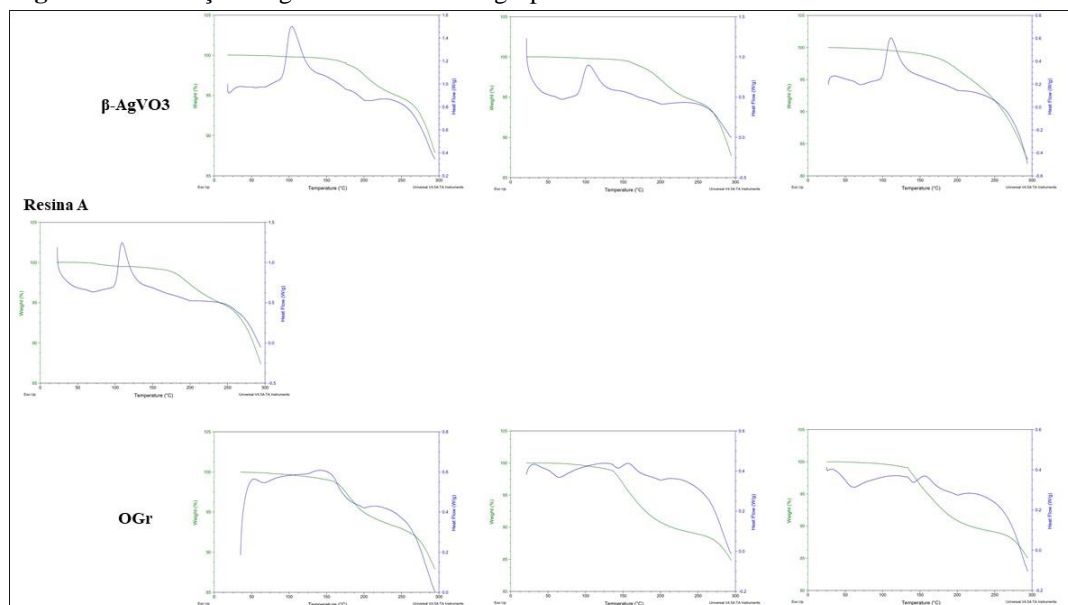
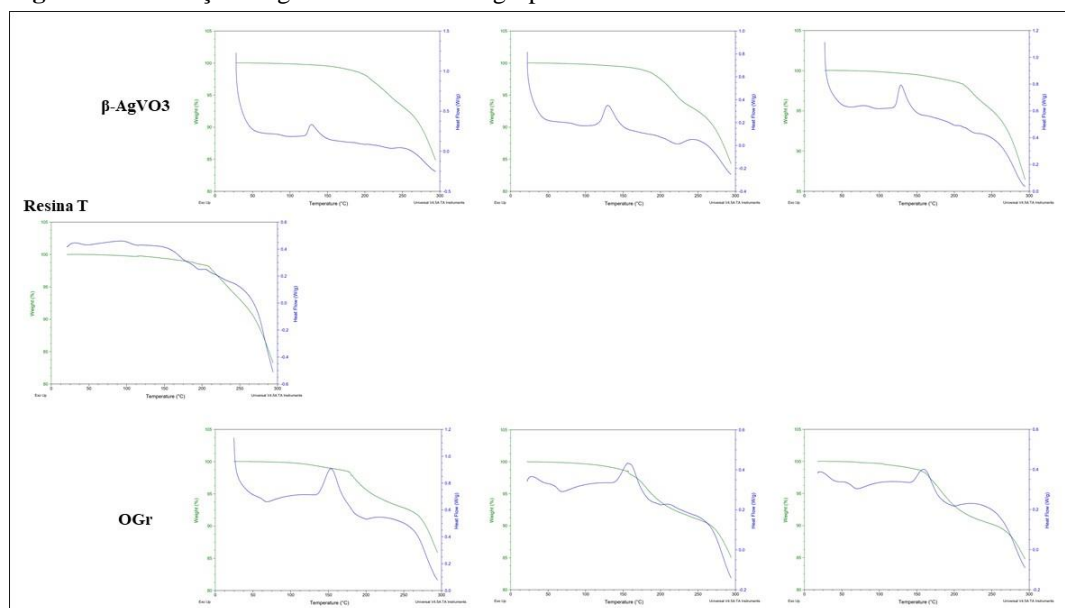


Figura 20. Ilustração do gráfico de DSC dos grupos da resina T.

4.3. UNIDADE FORMADORA DE COLÔNIAS

4.3.1. *Candida albicans*

Na resina A, os grupos incorporados com β -AgVO₃ reduziram a contagem de UFC/ml de *C. albicans* em relação aos demais grupos (controle e OGr) com diferença estatística ($p < 0.05$). O grupo incorporado com 3% de β -AgVO₃ A foi o que apresentou a maior redução para resina A e T em relação ao demais grupos ($p < 0,0001$). A incorporação de 0.5% de β -AgVO₃ T apresentou maiores valores de redução de UFC/mL de *C. albicans* em relação a incorporação de 0.5% de OGr ($p = 0,020$).

4.3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Para a redução de *P. aeruginosa* o grupo com 3% de β -AgVO₃ foi o que apresentou menor UFC/mL com diferença estatística em relação aos demais grupos da resina T ($p < 0.05$). A incorporação de 1% de β -AgVO₃ reduziu a contagem de UFC/mL de *P. aeruginosa* em relação aos grupos com OGr ($p < 0.05$). Os mesmos resultados foram encontrados para a resina A e a incorporação de 1% de β -AgVO₃ reduziu a contagem de UFC/mL de *P. aeruginosa* em relação aos grupos com 0.5% de OGr ($p = 0,054$) 1% de OGr ($p = 0,048$) e 3% de OGr ($p = 0,37$).

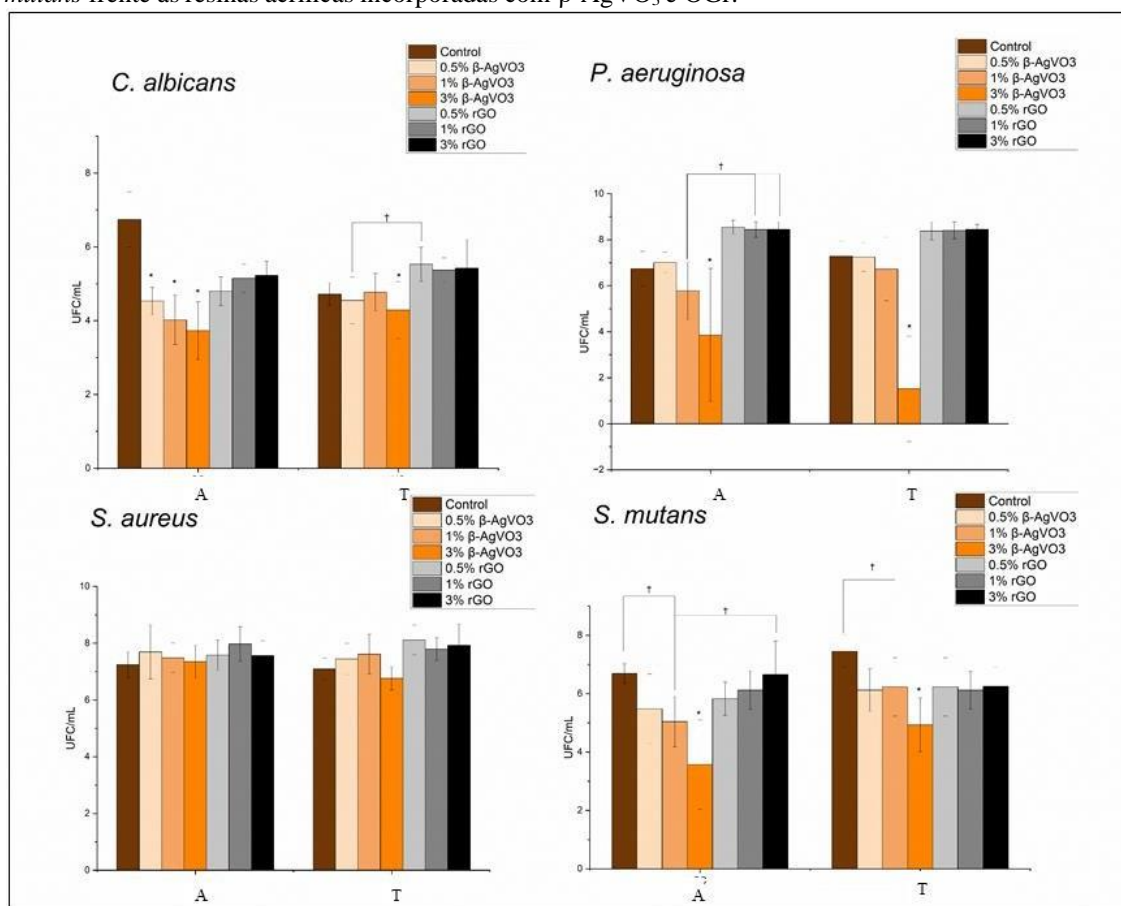
4.3.3. *Staphylococcus aureus*

Não houve diferença estatística entre os grupos avaliados para redução da colônia de *S. aureus* ($p > 0.05$).

4.3.4. *Streptococcus mutans*

A incorporação de 3% de β -AgVO₃ na resina A reduziu a contagem de UFC/mL de *S. mutans* em relação ao grupo incorporado com 0.5% de β -AgVO₃, grupo controle 0% e aos grupos incorporados com OGr ($p < 0.05$). O grupo com 1% de β -AgVO₃ reduziu a contagem de *S. mutans* em relação ao controle 0% ($p = 0,023$) e grupo com 3% de OGr ($p = 0,029$). A incorporação de 3% de β -AgVO₃ na resina T reduziu a contagem de UFC/mL de *S. mutans* em relação ao grupo incorporado com 0.5% de β -AgVO₃, grupo controle 0% ($p = 0,000$) e aos grupos com incorporação de OGr ($p < 0.05$). O grupo com 1% de β -AgVO₃ reduziu *S. mutans* em relação ao controle 0% ($p = 0,001$). A incorporação de OGr não influenciou na contagem de UFC/mL de *S. mutans* em relação ao grupo controle 0% para ambas as resinas ($p > 0.05$).

Figura 21. Valores de média e desvio padrão de UFC/mL de *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. mutans* frente às resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO₃ e OGr.



Legenda: * diferença estatística para todos os grupos e † diferença entre os grupos indicados.

4.4. XTT

Observou-se redução da atividade metabólica de *P. aeruginosa* para 3% β -AgVO₃ de resina A ($p = 0,014$) e T ($p = 0,025$) e *S. aureus* para 3% β -AgVO₃ de resina A ($p = 0.049$) e T ($p = 0.007$). 1% ($p = 0.001$) e 3% ($p = 0.003$) de β -AgVO₃ na resina A reduziram a atividade

metabólica de *C. albicans* e 3% de β -AgVO₃ na resina T ($p=0.031$) reduziram a atividade metabólica da *C. albicans*. β -AgVO₃ não teve influência na atividade metabólica do *S. mutans*, assim como a incorporação de OGr frente aos microrganismos avaliados ($p>0.05$).

Tabela 6. Valores de média e desvio padrão da atividade metabólica de *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. mutans* frente às resinas acrílicas incorporadas com semicondutores.

Grupos	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
Resina A (0%)	0,30 \pm 0,14	0,05 \pm 0,05	0,49 \pm 0,24	0,11 \pm 0,11
0,5% β-AgVO₃	0,18 \pm 0,80	0,00 \pm 0,13	0,50 \pm 0,36	0,29 \pm 0,37
1% β-AgVO₃	0,04 \pm 0,05	0,07 \pm 0,23	0,51 \pm 0,29	0,73 \pm 0,94
3% β-AgVO₃	0,29 \pm 0,41	0,13 \pm 0,19	0,25 \pm 0,31	0,11 \pm 0,15
0,5% rGO	0,11 \pm 0,15	0,07 \pm 0,27	0,33 \pm 0,13	0,07 \pm 0,08
1% rGO	0,13 \pm 0,10	0,09 \pm 0,23	0,37 \pm 0,03	0,10 \pm 0,10
3% rGO	0,16 \pm 0,11	0,08 \pm 0,04	0,37 \pm 0,03	0,11 \pm 0,06
Resina T (0%)	0,23 \pm 0,14	0,23 \pm 0,14	0,50 \pm 0,30	0,23 \pm 0,14
0,5% β-AgVO₃	0,14 \pm 0,07	0,14 \pm 0,78	0,64 \pm 0,32	0,14 \pm 0,07
1% β-AgVO₃	0,22 \pm 0,21	0,22 \pm 0,21	0,63 \pm 0,29	0,22 \pm 0,21
3% β-AgVO₃	0,11 \pm 0,15	0,11 \pm 0,15	0,28 \pm 0,34	0,14 \pm 0,27
0,5% rGO	0,29 \pm 0,17	0,29 \pm 0,17	0,36 \pm 0,38	0,29 \pm 0,17
1% rGO	0,17 \pm 0,10	0,17 \pm 0,10	0,37 \pm 0,01	0,17 \pm 0,10
3% rGO	0,21 \pm 0,13	0,21 \pm 0,13	0,37 \pm 0,01	0,21 \pm 0,13

4.5. MCL E MEV

A formação dos biofilmes foi analisada qualitativamente por imagens no MCL e MEV com aumento de X e 2000X, respectivamente. O primeiro mostrou as células vivas coradas em verde e as células mortas coradas em vermelho (**Figuras 22. e 23.**). O segundo a morfologia dos patógenos (**Figuras 24. e 25.**). Ao comparar as imagens com os resultados de UFC, pode-se notar que a incorporação de OGr nas resinas acrílicas não obteve resultados positivos e significantes para eficácia antimicrobiana. O grupo com 3% de β -AgVO₃ para ambas as resinas foi o que a apresentou maior redução da adesão das colônias avaliadas, com exceção do *S. aureus*.

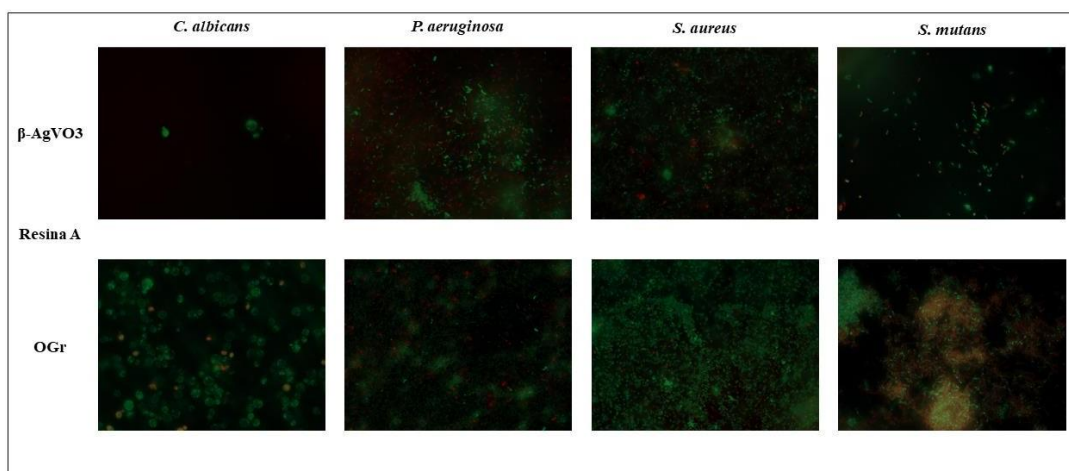
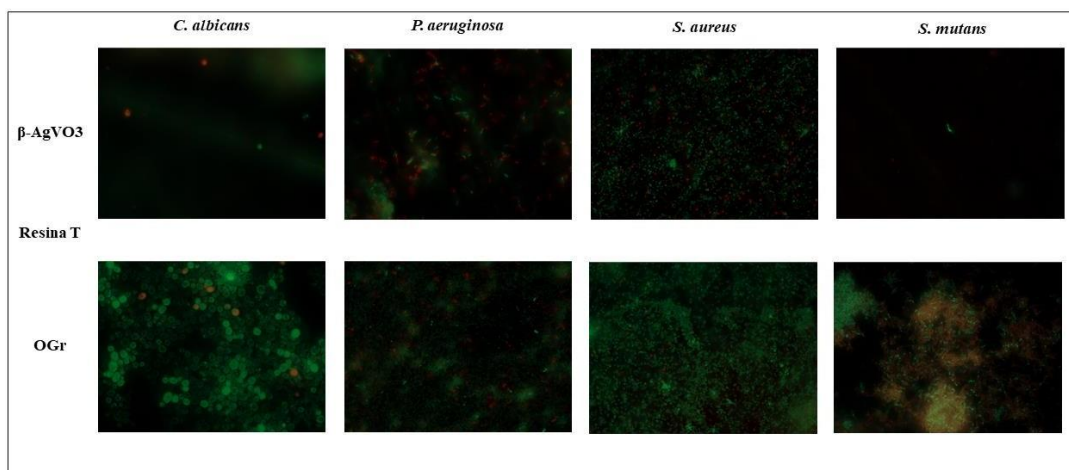
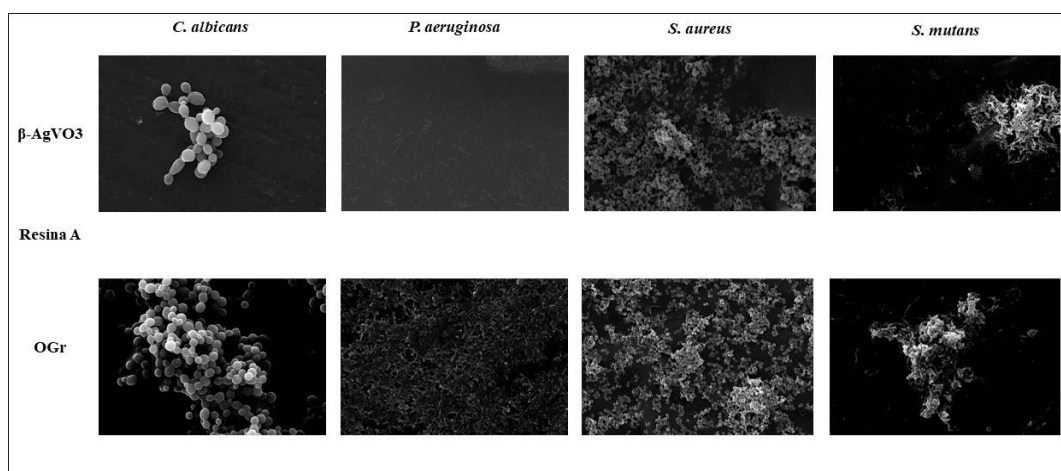
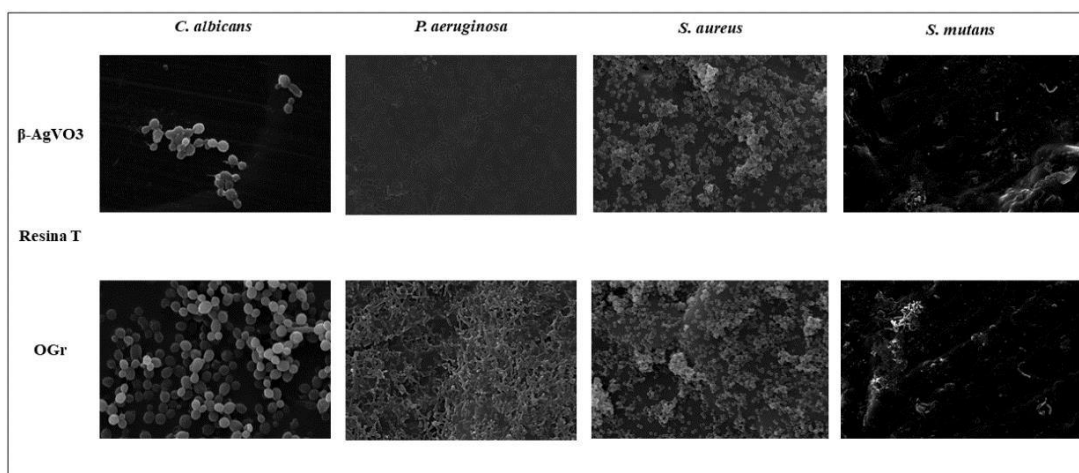
Figura 22. Imagens obtidas por MCL frente à 3% de incorporação na resina A.**Figura 23.** Imagens obtidas por MCL frente à 3% de incorporação na resina T.**Figura 24.** Imagens obtidas por MEV dos biofilmes frente à 3% de incorporação da Resina A.

Figura 25. Imagens obtidas por MEV dos biofilmes frente à 3% de incorporação da Resina T.

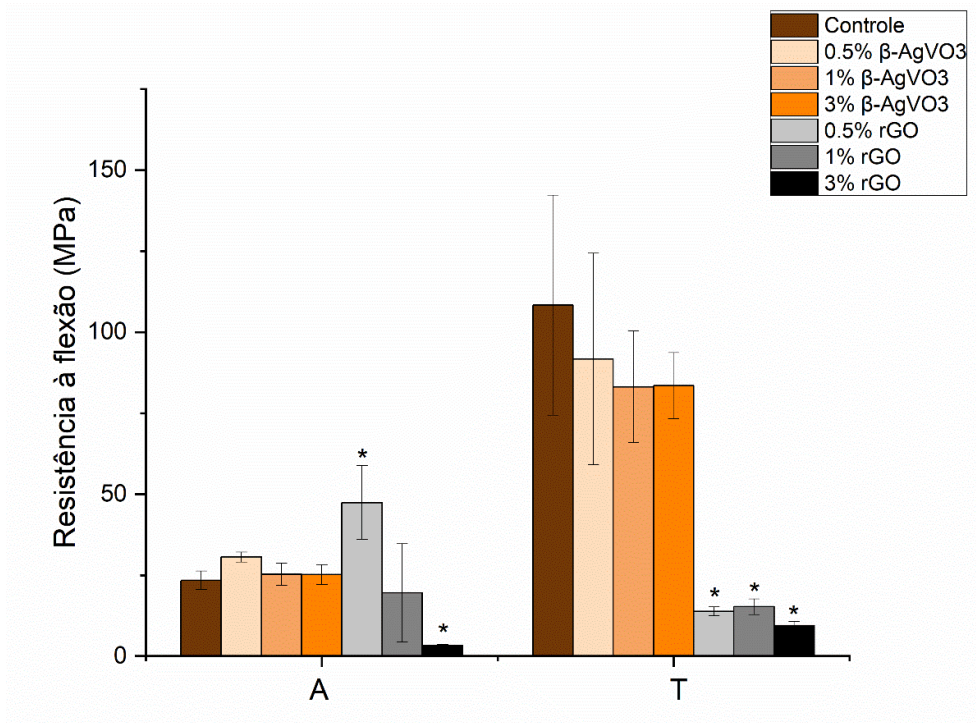


4.6. RESISTÊNCIA À FLEXÃO

A incorporação do β -AgVO₃ não prejudicou a resistência a flexão do controle 0% A, independente da concentração incorporada ($p > 0,05$). A incorporação de 0.5% de OGr aumentou a resistência à flexão da resina A ($p < 0,0001$), e esse grupo apresentou maiores valores de flexão em relação aos demais grupos ($p = 0,000$) e para o grupo controle 0% da resina A ($p = 0,337$). 1% de OGr na resina A apresentou resistência à flexão semelhante aos grupos com β -AgVO₃ e ao grupo controle 0% ($p > 0,05$), exceto 0.5% de β -AgVO₃. O grupo com 3% de OGr na resina A apresentou a menor resistência à flexão com diferença estatística em relação aos demais grupos ($p < 0,05$).

A incorporação do OGr na resina T reduziu significativamente a resistência à flexão em relação aos demais grupos ($p < 0,0001$). Não houve diferença entre o controle 0% da resina T e os grupos incorporados com β -AgVO₃ ($p > 0,05$), ou seja, incorporar β -AgVO₃ na resina T não prejudica a flexão.

Figura 26. Valores de média e desvio padrão da resistência à flexão das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO₃ e OGr.

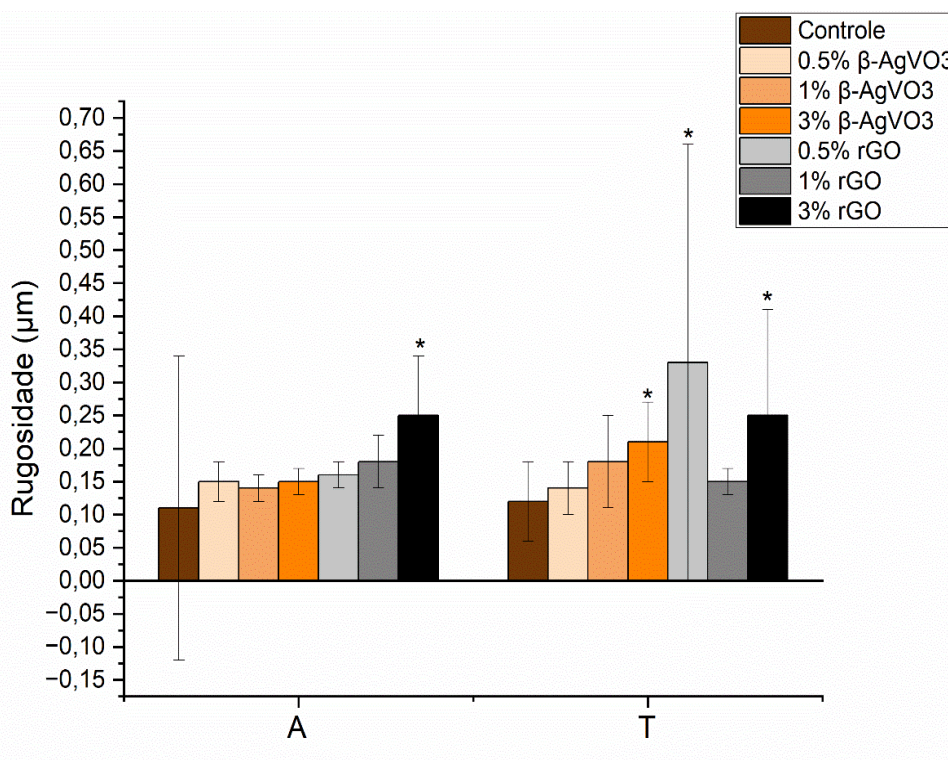


4.7. RUGOSIDADE

O grupo com 1% de β -AgVO₃ ($p=0,200$) foi o que apresentou menor rugosidade, com diferença estatística ($p<0,05$) em relação ao grupo com 3% de OGr ($p=0,128$), que apresentou valores maiores. A incorporação de OGr nas 3 concentrações avaliadas (0,5, 1 e 3%) aumentou a rugosidade da resina A.

A incorporação de 3% de β -AgVO₃ e 0,5% e 3% de OGr aumentou a rugosidade da resina T ($p<0,05$).

Figura 27. Valores de média e desvio padrão da rugosidade das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO₃ e OGr.

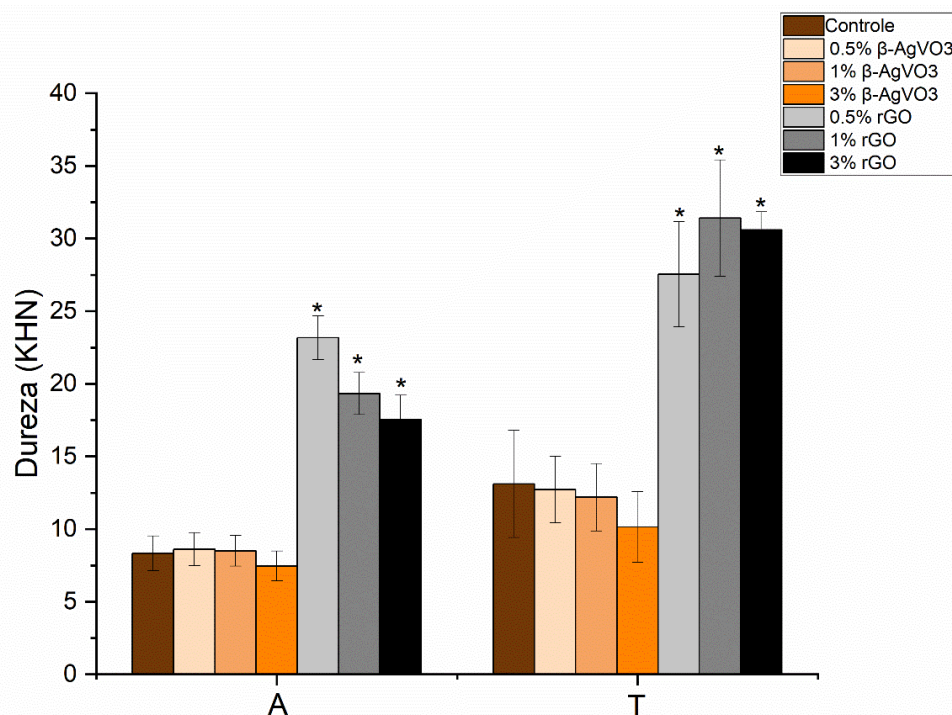


4.8. DUREZA

Não houve diferença estatística entre o grupo controle 0% da resina A e T e os grupos incorporados com β -AgVO₃ ($p > 0,05$), ou seja, o β -AgVO₃ não prejudica a dureza das resinas acrílicas. Também não há diferença estatística entre as concentrações de vanadato incorporadas ($p > 0,05$).

A incorporação de OGr aumentou os valores de dureza da resina A e o grupo com 0,5% de OGr foi o que apresentou maiores valores de dureza e diferença estatística em relação aos demais grupos ($p < 0,05$). Os grupos com 1% e 3% de OGr da resina A apresentaram maior dureza do que os grupos controle 0% e grupos com a incorporação de β -AgVO₃ ($p < 0,05$), mas não apresentaram diferença estatística entre si ($p > 0,05$).

O OGr aumentou os valores de dureza da resina T, independente da concentração incorporada ($p > 0,05$), e houve diferença estatística em relação ao controle 0% da resina T e dos grupos com β -AgVO₃ ($p < 0,05$).

Figura 28. Valores de média e desvio padrão da dureza das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO₃ e OGr.

4.9. MOLHABILIDADE

A incorporação de 0.5% e 1% de OGr não alteraram a molhabilidade da resina A ($p > 0.05$). A adição de 3% de OGr tornou a superfície mais hidrofílica em relação ao controle ($p < 0.0001$). A adição de 1% e 3% de β -AgVO₃ proporcionou uma superfície mais hidrofílica comparada ao grupo controle 0% e aos grupos com OGr na resina A ($p < 0.05$) e o grupo incorporado com 0.5% de β -AgVO₃ foi o que apresentou a superfície com maior hidrofília ($p < 0.0001$).

A incorporação de β -AgVO₃ e OGr (em todas as concentrações) reduziu o ângulo de contato da água com a superfície da resina T ($p < 0.05$). As concentrações de 0.5% e 1% de β -AgVO₃ e OGr na resina T apresentaram molhabilidade semelhante, sem diferença estatística ($p > 0.05$). A incorporação de 3% de β -AgVO₃ e de OGr reduziu o ângulo de contato da água com a superfície da resina, tornando a superfície mais hidrofílica em relação aos demais grupos ($p < 0.05$).

Figura 29. Valores de média e desvio padrão da molhabilidade das resinas acrílicas incorporadas com β -AgVO₃ e OGr.

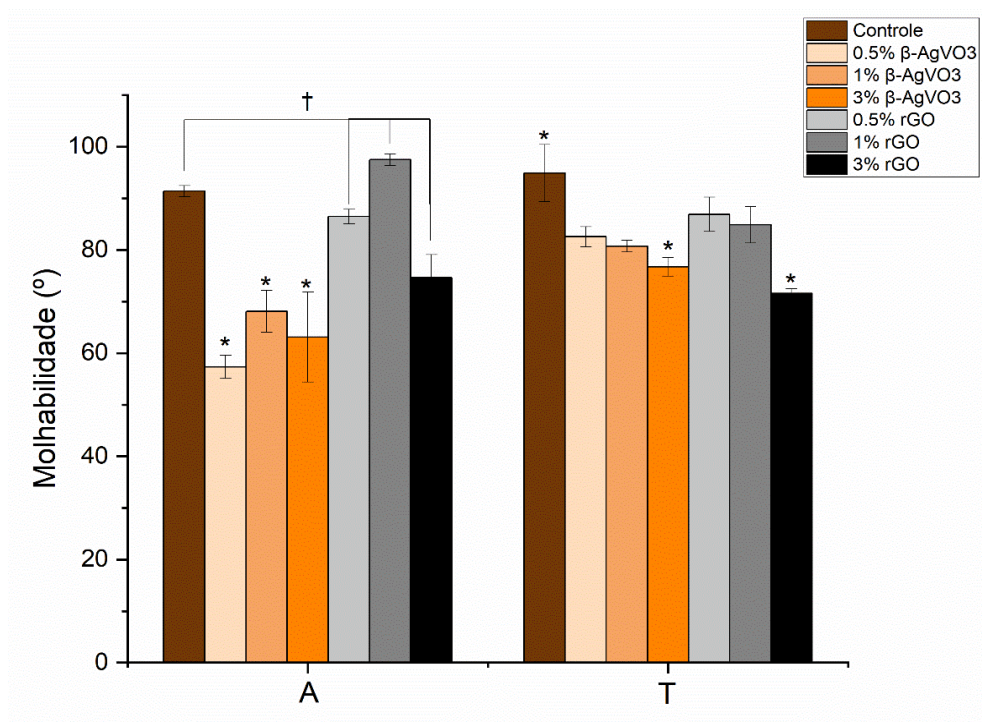


Figura 30. Ângulo de contato dos grupos da resina autopolimerizável.

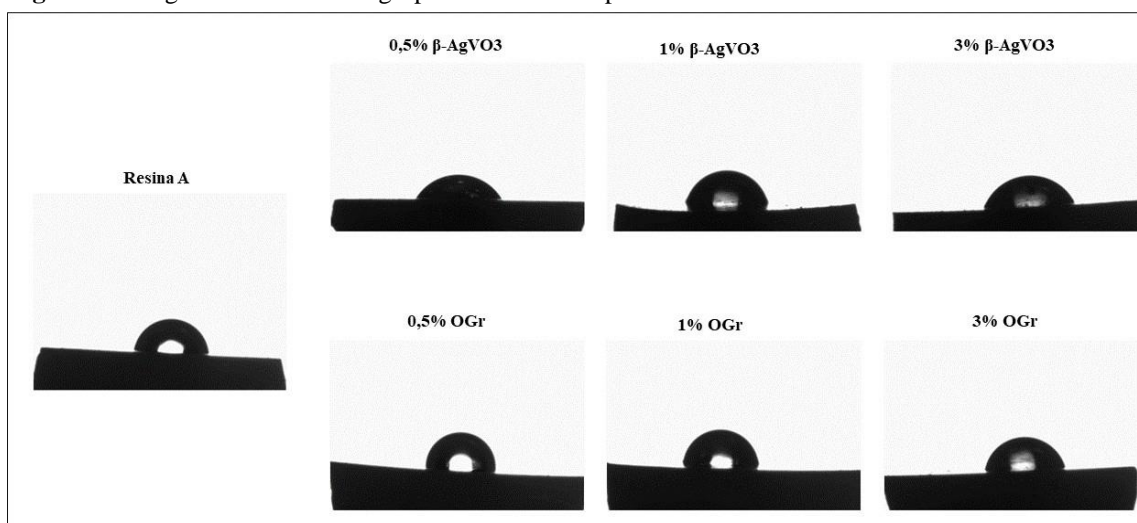
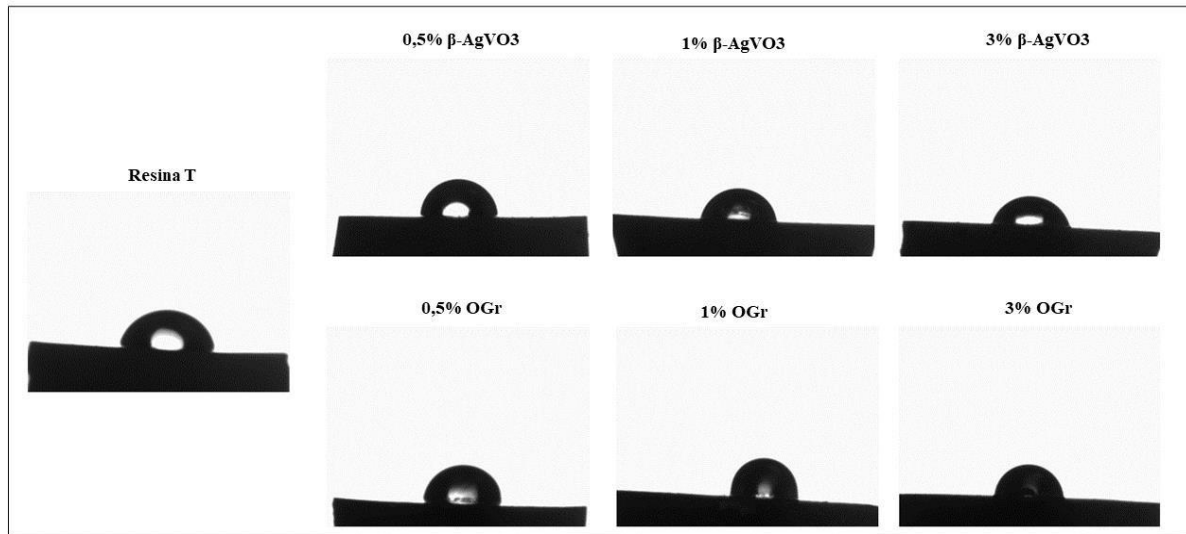


Figura 31. Ângulo de contato dos grupos da resina termopolimerizável.

4.10. SORÇÃO, SOLUBILIDADE E POROSIDADE

A incorporação de concentrações maiores de OGr (1% e 3%) causou aumento na sorção, solubilidade e porosidade das resinas avaliadas A e T ($p < 0.05$). Incorporar 0.5% de $\beta\text{-AgVO}_3$ e de OGr não influencia a sorção, solubilidade e porosidade das resinas A e T ($p > 0.05$). A incorporação de concentrações maiores de $\beta\text{-AgVO}_3$, como 1% e 3%, reduziu a sorção, solubilidade e porosidade das resinas A e T ($p < 0,05$).

Tabela 7. Valores de média e desvio padrão da sorção, solubilidade e porosidade das resinas acrílicas incorporadas com $\beta\text{-AgVO}_3$ e OGr.

Grupos	Sorção e Solubilidade	Porosidade
Resina A (0%)	2,13 \pm 0,29	2,12 \pm 0,28
0,5% $\beta\text{-AgVO}_3$	2,11 \pm 0,23	2,11 \pm 0,26
1% $\beta\text{-AgVO}_3$	1,74 \pm 0,33	1,76 \pm 0,34
3% $\beta\text{-AgVO}_3$	1,52 \pm 0,34	1,52 \pm 0,38
0,5% OGr	2,11 \pm 0,33	2,12 \pm 0,29
1% OGr	2,35 \pm 0,31	2,34 \pm 0,04
3% OGr	2,32 \pm 0,31	2,30 \pm 0,27
Resina T (0%)	2,22 \pm 0,80	2,18 \pm 0,97
0,5% $\beta\text{-AgVO}_3$	2,10 \pm 0,20	2,11 \pm 0,49
1% $\beta\text{-AgVO}_3$	1,78 \pm 0,43	1,76 \pm 0,38
3% $\beta\text{-AgVO}_3$	1,60 \pm 0,31	1,60 \pm 0,65
0,5% OGr	2,13 \pm 0,31	2,15 \pm 0,46
1% OGr	2,33 \pm 0,34	2,28 \pm 0,60
3% OGr	2,30 \pm 0,22	2,30 \pm 0,10

4.11. PERDA DE MASSA POR DESAFIO ÁCIDO

Não houve diferença estatística entre a rugosidade das amostras imersas nas soluções ácidas e não imersas.

Tabela 8. Valores da média de Sa da rugosidade das resinas acrílicas incorporadas imersas em Coca-Cola, suco de laranja ADES e saliva artificial.

Grupos	Sa (Coca-Cola)	Sa (ADES)	Sa (saliva)
Resina A (0%)	0,11	0,10	0,12
0,5% β -AgVO ₃	0,15	0,15	0,17
1% β -AgVO ₃	0,14	0,14	0,16
3% β -AgVO ₃	0,15	0,16	0,15
0,5% OGr	0,16	0,16	0,16
1% OGr	0,18	0,17	0,18
3% OGr	0,25	0,27	0,
Resina T (0%)	0,12	0,12	0,12
0,5% β -AgVO ₃	0,14	0,14	0,14
1% β -AgVO ₃	0,18	0,18	0,18
3% β -AgVO ₃	0,21	0,21	0,21
0,5% OGr	0,33	0,33	0,33
1% OGr	0,15	0,15	0,15
3% OGr	0,25	0,26	0,25

4.12. ICP-MS

A concentração de íons metálicos liberados (Ag e V) foi proporcional à concentração de β -AgVO₃ incorporado.

Tabela 9. Concentração de íons Ag e V (mg/L) liberados de resinas acrílicas modificadas β -AgVO₃.

Grupos	Ag	V
0,5% β -AgVO ₃ A	0,190 [0,140;0,190]	0,160 [0,009;0,019]
1% β -AgVO ₃ A	0,280[0,280;0,300]	0,190[0,170;0,190]
3% β -AgVO ₃ A	0,810[0,650;0,790]	0,450[0,360;0,450]
0,5% β -AgVO ₃ T	0,190 [0,140;0,190]	0,140[0,120;0,160]
1% β -AgVO ₃ T	0,280[0,280;0,300]	0,190[0,170;0,190]
3% β -AgVO ₃ T	0,810[0,650;0,790]	0,390[0,30;0,410]

Legenda: Mediana [mínimo e máximo].

4.13. UV/VISÍVEL

A liberação do grafeno na solução foi proporcional a sua porcentagem de concentração incorporada.

Tabela 10. Concentração de Grafeno (mg/L) liberados de resinas acrílicas modificadas OGr.

Grupos	Pico (nm)	Abs
0,5% OGr A	370	0,95
1% OGr A	291	2,15
3% OGr A	370	1,35
0,5% OGr T	332	2,44
1% OGr T	361	0,47
3% OGr T	360	0,61

5. Discussão

5. DISCUSSÃO

O conhecimento das propriedades físico-químicas e mecânicas dos materiais odontológicos e dos riscos e benefícios que estes trazem aos pacientes, é de grande relevância para a preservação e manutenção da saúde, principalmente no caso de idosos usuários de próteses extensas confeccionadas com PMMA (VALENTE et al., 2019; SRINIVASAN et al., 2020).

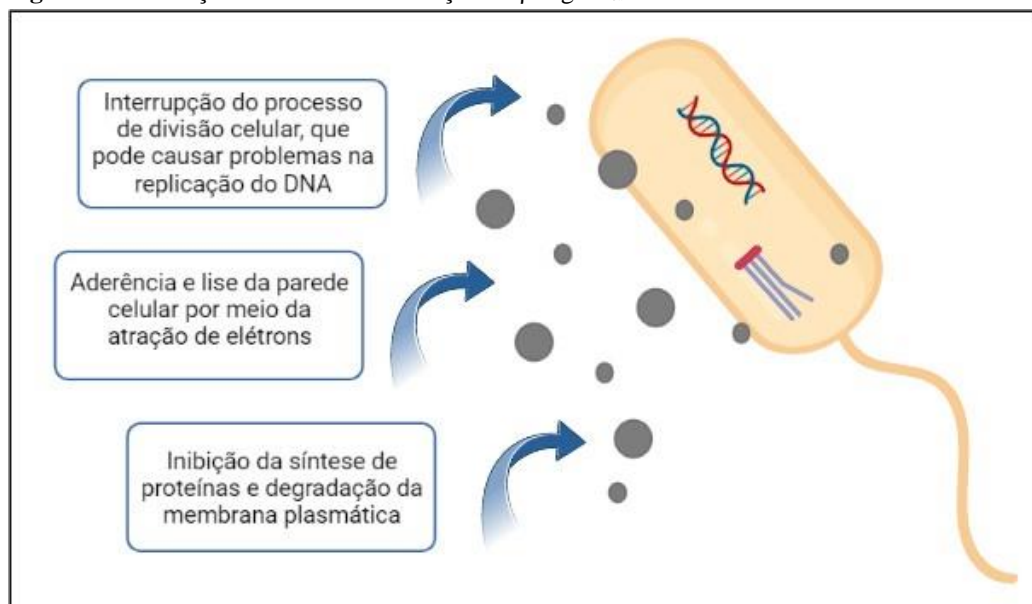
Acredita-se, que dentre as propriedades relacionadas à contaminação e proliferação do biofilme bacteriano na superfície das próteses, estão a rugosidade, porosidade, molhabilidade, sorção e solubilidade. A rugosidade, está relacionada ao acúmulo de biofilme em volume ou quantidade, e a porosidade, devido à presença de irregularidades que atuam como nichos de retenção para micro-organismos (KREVE E REIS, 2021). A molhabilidade, de forma que a bactéria é atraída eletrostaticamente pela superfície do material, e a sorção e solubilidade, pela água absorvida pelo dispositivo durante o uso na cavidade bucal que pode resultar em sua alteração de volume e a umidade favorecer no acúmulo de biofilme (SAHM et al., 2022). Os monômeros residuais e outros subprodutos solúveis em água liberados na cavidade oral também podem causar irritação nos tecidos (CHLADEK et al., 2019). Portanto, a avaliação dessas propriedades tem relevância clínica na utilização de resinas acrílicas, principalmente quando são polimerizadas ou apresentam sua composição modificada.

A adesão ou fixação bacteriana é um processo que ocorre em ambientes biológicos e fatores como a superfície do material em contato com as bactérias, sua carga elétrica, presença de proteínas no meio, composição química e condições ambientais (KREVE E REIS, 2021) podem afetar a adesão ou fixação bacteriana. A compreensão destes processos é relevante para desenvolver materiais mais eficazes na prevenção da adesão de microrganismos e para minimizar o risco de infecções e outras complicações associadas (KREVE e REIS, 2021).

O desenvolvimento de materiais odontológicos inovadores que apresentem ação antimicrobiana e mantenham seu desempenho clínico é uma abordagem para aprimorar a saúde bucal. Neste estudo, foram incorporados vanadato de prata nanoestruturado decorado com nanopartículas de prata (β -AgVO₃) e óxido de grafeno reduzido (OGr) em resinas acrílicas A e T, com o objetivo de promover atividade antimicrobiana e correlacionar a estrutura-propriedades dos acrílicos modificados, além de estimular a produção de produtos inovadores através da pesquisa e indústria nacional a fim de promover alternativas de melhores materiais para reabilitações orais.

O β -AgVO₃, é derivado das nanopartículas de prata (AgNPs) que atuam em diferentes estruturas da membrana bacteriana, através da aderência à parede celular e membrana citoplasmática por meio da atração de elétrons e afinidade proteicas, que são capazes de aumentar a permeabilidade da membrana, levando à lise destas estruturas (ABBASZADEGAN et al., 2015). A prata também estimula a resposta ao estresse oxidativo (ERO), que pode ser um agente principal na provocação da ruptura da membrana celular e modificação do ácido desoxirribonucleico (DNA) (NORONHA et al., 2017). Como o enxofre e o fósforo são componentes importantes do DNA, a interação dos íons de prata com o enxofre e o fósforo do DNA pode causar problemas na sua replicação e destruição de células bacterianas, capaz de inibir seu crescimento e viabilidade (NORONHA et al., 2017). Desta forma, moléculas bacterianas que podem ser danificadas por íons Ag incluem DNA (RADZIG et al., 2013; FENG et al., 2000; KUMARI et al., 2017), proteínas (FENG et al., 2000; CHALOUPIKA, MALAM, SEIFALIAN, 2010) e lipídios (INBAKANDAN et al., 2016).

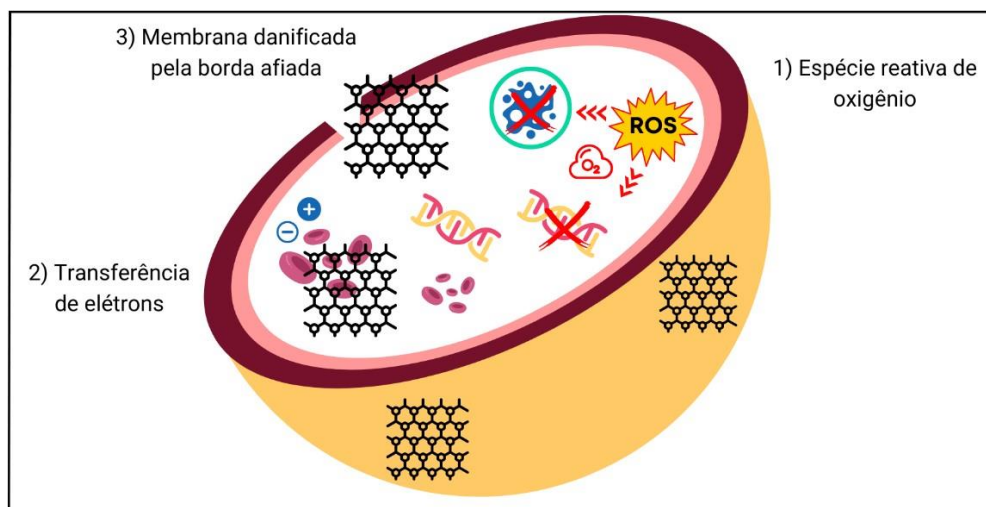
Para estabilizar as AgNPs, um grupo de pesquisadores liderado pelo Prof. Dr. Oswaldo Luiz Alves, desenvolveu o vanadato de prata nanoestruturado e decorado com nanopartículas de prata, que apresenta atividade antimicrobiana intrínseca pelos nanofios de vanádio (HOLTZ et al., 2012). O vanádio em seu estado de oxidação V⁵⁺ pode se ligar a grupos tiol de proteínas de células e formar moléculas estáveis (HOLTZ et al., 2010; HOLTZ et al., 2012). Assim como a prata, o material é capaz de danificar microrganismos através de estresse oxidativo por reações de oxi-redução entre V⁴⁺ e V⁵⁺ (CAMPOS, BOTELHO, REIS 2021; HOLTZ et al., 2012). Essas interações moleculares com a parede da membrana celular são capazes de interferir no metabolismo do microrganismo e danificar a célula bacteriana (CAMPOS, BOTELHO, REIS 2021). O mecanismo de ação do β -AgVO₃ está presente abaixo na **Figura 32**.

Figura 32. Ilustração do mecanismo de ação do β -AgVO₃.

Fonte: Autoria própria.

Assim como a prata, os compostos de grafeno apresentam capacidade de danificar a parede da membrana celular através de mecanismos antimicrobianos, como ERO, envolvimento e transferência de elétrons e danos mecânicos à parede celular (SEIFI, KAMALI, 2021). Na primeira, a oxidação dos componentes celulares ocorre pelas espécies reativas de oxigênio (ERO), principal causa de toxicidade do grafeno, pois reduz a proliferação bacteriana após a desativação de suas proteínas e lipídios, o que causa a morte celular (CHEN et al., 2015). Por este mecanismo, o composto reduzido (OGr) apresenta menor atividade antimicrobiana e consequentemente menor potencial de citotoxicidade, pois a ausência de grupos funcionais contendo oxigênio evita o estresse oxidativo, o que gera estresse às células vivas (PRANNO et al., 2020).

O também grafeno apresenta ação microbiológica por transferência de elétrons (KUMAR et al., 2019). Para isso, inicialmente os microrganismos de carga positiva interagem com o grafeno que possui carga negativa e o mesmo age como um acceptor de carga extracelular, capaz de capturar elétrons do metabolismo respiratório da bactéria, levando ao rompimento da função fisiológica da membrana (SEIFI, KAMALI, 2021). Sua estrutura apresenta capacidade de cortar a membrana celular devido suas bordas afiadas que causam um efeito de nanofaca, o que pode levar à formação de poros na parede celular, com danos mecânicos em sua estrutura, alteração da pressão osmótica e morte celular (SEIFI, KAMALI, 2021; PARK et al., 2020). O mecanismo de ação dos compostos de grafeno está presente na **Figura 33**.

Figura 33. Ilustração do mecanismo de ação de compostos de grafeno.

Fonte: Autoria própria.

Neste estudo, foram avaliadas três concentrações de β -AgVO₃ e OGr (0,5; 1 e 3%) incorporados em resinas acrílicas A e T. De acordo com os resultados, somente o β -AgVO₃ apresentou concentração inibitória mínima (CIM) efetiva frente à *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. mutans*. Mesmo que os achados da literatura confirmem ação antimicrobiana de compostos de grafeno (RADHI et al., 2021; KUMAR et al., 2019), no presente estudo, na UFC/ml (**Figura 21.**), XTT (**Tabela 6.**), MCL (**Figuras 22. e 23.**) e MEV (**Figura 24. e 25.**), o OGr não mostrou resultados significativos para redução das colônias dos microrganismos avaliados ($P > 0.05$). Este fato pode ser explicado pela composição molecular do OGr, o qual apresenta menor quantidade de O, elemento responsável pela ERO que causa danos à membrana celular bacteriana (SEIFI et al., 2021). Ao correlacionar os resultados da avaliação antimicrobiana com as imagens de caracterização obtidas por MEV (**Figura 17.**), foi possível identificar que o mecanismo de ação do OGr por contato também foi ineficaz devido ao método de incorporação do material ao pó do acrílico, que impediu que as folhas de grafeno ficassem dispersas por toda a superfície da amostra e tivesse ação concluída. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica de análise de materiais que utiliza um feixe de elétrons para gerar imagens de alta resolução da superfície da amostra e permite a visualização das estruturas que são muito pequenas para serem vistas com um microscópio óptico convencional (KHAN, OH, KIM, 2020).

Os resultados da rugosidade, sorção, solubilidade e porosidade das resinas incorporadas com OGr, quando comparados aos grupos com β -AgVO₃, sugerem o aumento do acúmulo de microrganismos (*C. albicans*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*), mesmo que esse aumento não seja significativo ($P > 0.05$), como presente na (**Figura 27.**) e (**Tabela 7.**), mas que contribui

para aderência e fixação bacteriana, devido a alta rugosidade superficial, aumento de volume das amostras por absorção de umidade e formação de poros interiores nas resinas com grafeno, que sugerem a adesão de microrganismos (SAHM et al., 2022). A condição eletrostática dada pela avaliação da molhabilidade também explica este fenômeno. Mesmo que a incorporação de OGr tenha alterado a condição superficial das resinas para hidrofílicas (**Figuras 29., 30. e 31.**), as mesmas não obtiveram valores significativos dos seus ângulos abaixo de 90 graus, o que explica a aderência dos microrganismos pela ligação da bactéria com o substrato de fixação, que é dependente de parâmetros superficiais físico-químicos, entre sua micro e a macroestrutura de adesão (KREVE E REIS, 2021; SAHM et al., 2022), fazendo com que as bactérias hidrofóbicas se aderem facilmente em superfícies semelhantes.

A ação antimicrobiana de resinas modificadas com β -AgVO₃ foi anteriormente comprovada na literatura, com efetividade dose-dependente da concentração incorporada, ou seja, quanto maior a quantidade de semicondutor na resina, maior sua eficácia microbiológica (CASTRO et al., 2016). Na presente pesquisa, esta afirmação foi confirmada, o que indica redução das colônias por UFC/mL (**Figura 21.**), MCL (**Figuras 22. e 23.**) e MEV (**Figuras 24. e 25.**), com exceção de *S. aureus*, visto sua capacidade de se adaptar e sobreviver em uma variedade de ambientes e temperaturas, além de sua habilidade de desenvolver resistência a antibióticos, de modo com que seja uma bactéria desafiadora para sua redução por completo (TONY et al., 2015).

Ao correlacionar os achados antimicrobianos do β -AgVO₃ com as propriedades físico-químicas avaliadas, como a característica de rugosidade superficial, a diminuição do ângulo de contato da gota séssil com a superfície das amostras e a redução da sorção, solubilidade e porosidade, comprova a diminuição das colônias patogênicas por meio da combinação do mecanismo de ação do β -AgVO₃, e a dificuldade em se aderirem numa superfície hidrofílica (mesmo que em baixos valores), como presente na **Figura 29.**, de carga negativa e sem falhas estruturais que contribuíssem para nichos de retenção de bactérias com condição eletrostática positiva (KREVE E REIS, 2021; SAHM et al., 2022).

A associação da atividade microbiológica com a liberação de íons Ag e V presente nos resultados obtidos por ICP-MS (**Tabela 9.**), foi proporcional a concentração de β -AgVO₃ incorporada, com maior liberação de íons Ag, visto a síntese do semicondutor que contém uma maior presença de Ag (HOLTZ et al., 2010), o que condiz com a redução da aderência bacteriana nas resinas com o β -AgVO₃. Ao passar do tempo, estes elementos podem sofrer lixiviação, na qual reduzem sua eficácia antimicrobiana (CASTRO et al., 2021), o que indica que estes materiais modificados têm ação limitada, porém ainda não relatada na literatura. A Ag e o V foram escolhidos como semicondutores, por apresentarem baixo potencial citotóxico e por permitirem interações entre suas partículas com a matriz polimérica e a parede da

membrana celular bacteriana (CAMPOS et al., 2021). A ligação entre Ag^+ e V5^+ impedem a replicação do DNA dos microrganismos e a oxirredução da molécula do $\beta\text{-AgVO}_3$ atua nas bactérias por ERO (CAMPOS et al., 2021; CASTRO et al., 2021).

Visto que o OGr tem sua estrutura molecular somente com ligações carbônicas e pouco oxigênio, sua efetividade e liberação durante 30 dias, foi avaliada por UV/Visível (**Tabela 10.**), que permitiu a detecção e presença do grafeno. Assim como para o vanadato, os resultados encontrados mostraram que o OGr foi liberado de acordo com sua concentração de incorporação. Por ser um material parcialmente cristalino, com parte de sua microestrutura desordenada, característica presente nos materiais amorfos, o OGr sofre baixa oxidação em ambientes úmidos (RADHI et al., 2021), o que favorece e permite estabilidade e durabilidade maior dos materiais em relação aos modificados com $\beta\text{-AgVO}_3$, que pode sofrer um processo de lixiviação e perder sua atividade antimicrobiana à longo prazo.

Com os achados da análise microbiológica, concluiu-se melhor eficácia antimicrobiana dos grupos com $\beta\text{-AgVO}_3$ em relação aos com OGr, visto o composto de grafeno utilizado, que pode apresentar sua ação reduzida pela menor quantidade de oxigênio presente na molécula e o método de incorporação utilizado que não permitiu a dispersão de 100% das folhas de grafeno na superfície do material e assim fosse concluída a atividade microbiológica do semicondutor. Para estudos futuros sugere-se que outras formas de incorporação e compostos de grafeno em sua forma oxidada sejam analisados.

Ao correlacionar a importância das propriedades mecânicas do PMMA com sua aplicação no meio bucal, há uma necessidade iminente de promover-lhe durabilidade e longevidade clínica. Como discutido anteriormente, a incorporação de semicondutores que possam levar as resinas a expressarem atividade antimicrobiana é relevante, entretanto, esse procedimento promove alteração no desempenho dos materiais (CAMPOS, BOTELHO, REIS, 2021). Equilibrar propriedades mecânicas satisfatórias e antimicrobianas no mesmo dispositivo é uma tarefa desafiadora, porque ao atingir capacidade antimicrobiana, pode ocorrer desarranjo molecular da matriz polimérica e conseqüente redução das demais propriedades (CHEN, SUH, YANG, 2018).

No presente estudo, ao incorporar $\beta\text{-AgVO}_3$ e OGr às resinas acrílicas com o objetivo de promoção de atividade antimicrobiana, foram avaliadas também a resistência à flexão e dureza, para verificar o desempenho do material modificado para que ele oferecesse ação microbiológica, sem que as propriedades mecânicas fossem afetadas negativamente.

Para resistência à flexão, a adição de $\beta\text{-AgVO}_3$ nas resinas manteve seus valores comparados ao controle estabelecido pela norma ISO 1567 de 65 MPa, o que não prejudicaria o sucesso clínico deste dispositivo. Em contrapartida, a incorporação de OGr na resina A foi inversamente proporcional a concentração de incorporação, ou seja, quanto menor a

porcentagem incorporada, maior a resistência à flexão, na qual 0,5% de OGr apresentou melhores resultados de resistência à flexão quando comparado aos demais grupos ($P < 0.05$) (**Figura 26.**). Diferente da resina T que obteve piores resultados com a adição de OGr (independente da concentração), pois compostos de grafeno quando sujeitos a temperaturas muito elevadas, podem apresentar movimentação de seus átomos que comprometem parte de sua estrutura, como a estrutura cristalina, além de ser altamente reativo nestas condições, o que pode levar à formação de defeitos em sua composição. (TARHINI et al., 2021). As imagens dos gráficos de DSC justificam essa afirmação, visto que o ponto de fusão da calorimetria encontra-se completamente diferente dos demais grupos, próximo a faixa de 150 nm (**Figuras 19. e 20.**).

A adição de β -AgVO₃, como visto anteriormente, manteve seus valores para as propriedades mecânicas. Acerca da dureza, os mesmos resultados foram encontrados para as ambas resinas em comparação (A e T), que estão presentes na (**Figura 28.**). A incorporação de OGr aprimorou a dureza das resinas A e T. Embora a alta dureza de materiais dentários seja uma propriedade desejável, ela não pode ser considerada a única característica importante. Uma prótese muito dura, por exemplo, pode colocar o paciente em risco de fratura do elemento antagonista, especialmente se ele sofre de apertamento dentário. Isso ocorre porque o dispositivo rígido não absorve as forças de mordida e mastigação idealmente aos dentes naturais e exerce pressão excessiva sobre os tecidos adjacentes e o osso alveolar (ANUSAVICE, SHEN, RAWLS, 2013). Além disso, existe a dificuldade do cirurgião-dentista em ajustar essa prótese corretamente à boca do paciente, fazendo com que seu uso inadequado leve ao surgimento de lesões de tecido mole na cavidade bucal (KARASAN et al., 2021). Agarwalla, Malhotra e Rosa (2019) relataram que compostos de grafeno utilizados como reforço à polímeros apresentam pouca melhora na sua dureza, devido à dificuldade da ligação química entre o grafeno e a cadeia polimérica, sendo que mesmo que a alteração seja significativamente maior, ela pode não ser clinicamente significativa (LEE et al., 2018; AGARWALLA, MALHOTRA, ROSA, 2019).

A incorporação de semicondutores deve resultar em materiais com biocompatibilidade e estabilidade a longo prazo em tratamentos reabilitadores, bem como manter suas propriedades diante do uso clínico. A redução do desempenho de uma resina acrílica na cavidade bucal é ocasionada por diferentes causas, como visto anteriormente, a alteração de suas propriedades pelo contato do dispositivo odontológico com injúrias do meio oral (OLIVEIRA et al., 2017). A dieta ácida dos pacientes, por exemplo, pode diminuir a eficácia mecânica de uma prótese por processo de erosão extrínseca (KANZOW et al., 2016). Neste contexto, o presente estudo avaliou o comportamento das resinas imersas em bebidas ácidas comumente consumidas pelos

pacientes, em um tempo de 72h. Ao avaliar a rugosidade após a imersão em Coca-Cola, suco de laranja (Ades) e saliva artificial, foi possível observar que os resultados não obtiveram diferença estatística entre as amostras ($p>0,05$) e sua rugosidade não foi considerada alterada. Estes resultados encontram-se dispostos na (**Tabela 8**).

Apesar do aumento nos valores de sorção e solubilidade dos grupos com OGr, o período de imersão não foi suficiente para avaliar alterações da rugosidade superficial dos espécimes, como esperado, visto que a incorporação de grafeno faz com que a resina absorva uma maior quantidade de líquidos e sofra alterações microestruturais e superficiais (SAHM et al., 2022). É importante ter cautela ao interpretar esses resultados, pois as influências extrínsecas podem ser variadas e foram limitadas nesta pesquisa. Além disso, para avaliar completamente o desempenho e a durabilidade das resinas, outras propriedades diferentes da rugosidade superficial devem ser investigadas, e assim sugere-se mais estudos para determinar se outros alimentos erosivos e ensaios de longa duração podem provocar mudanças significativas nas resinas modificadas com semicondutores em questão.

Após realizar análises para correlacionar a microestrutura e propriedades dos materiais, foi observado neste estudo que, embora tenham sido conduzidos testes para selecionar a concentração e o semicondutor mais adequado para a promover ação antimicrobiana e manter ou aprimorar propriedades mecânicas das resinas acrílicas de forma que seus valores fossem considerados para uso clínico de acordo com as normas pré-estabelecidas, o método de incorporação destas nanopartículas e a interação química das mesmas com a matriz polimérica devem ser estudadas a fim de compreender o desempenho do material modificado e sua influência na odontologia, para que o acúmulo de microrganismos patogênicos bucais possa ser reduzido e as propriedades mecânicas apresentem atuação para resistir à injúrias causadas na cavidade bucal.

6. Conclusões

6. CONCLUSÕES

Diante da proposta deste estudo em aprimorar e inovar materiais odontológicos com vista à promoção de atividade antimicrobiana a partir da incorporação dos semicondutores β -AgVO₃ e OGr, podemos inferir pela metodologia aplicada que para atividade antimicrobiana, o grupo com 3% de β -AgVO₃ foi o que apresentou melhores resultados com a redução da adesão e viabilidade dos microrganismos e o OGr não apresentou eficácia por esta metodologia aplicada. As propriedades físico-químicas de rugosidade, molhabilidade, sorção e solubilidade foram favorecidas para os grupos com β -AgVO₃, enquanto que a incorporação de OGr apresentou um aumento destas propriedades, o que contribuiu para a adesão de microbiológica. As propriedades mecânicas de dureza e resistência à flexão foram mantidas com a adição de β -AgVO₃ e o OGr promoveu alteração negativa significativa dessas propriedades. A liberação dos semicondutores avaliada por ICP-MS e UV/visível indicou que os semicondutores foram liberados de acordo com suas concentrações incorporadas e a imersão em alimentos ácidos por 72h das resinas modificadas com ambos os semicondutores não alterou significativamente as propriedades avaliadas.

Pode-se concluir que o grupo com 3% de β -AgVO₃ foi o que apresentou melhor eficácia antimicrobiana. E a incorporação de β -AgVO₃ manteve as propriedades mecânicas das resinas e favoreceu as propriedades físico-químicas avaliadas.

Referências

REFERÊNCIAS

1. ABBASZADEGAN, A.; GHAHRAMANI, Y.; GHOLAMI, A.; HEMMATEENEJAD, B.; DOROSTKAR, S.; NABAVIZADEH, M.; SHARGHI, H. et al. The effect of surface loading of silver nanoparticles on antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria: a preliminary study. **J Nanomater.**, v. 15, p.1-8, 2015.
2. ABDOLHOSSEINZADEH, S.; ASGHARZADEH, H.; KIM, H. S. Fast and fully-scalable synthesis of reduced graphene oxide. **Scientific Reports.**, v. 5, n.1, p. 10160-10167, 2015.
3. AGARWALLA, S. V.; MALHOTRA, R.; ROSA, V. Translucency, hardness and strength parameters of PMMA resin containing graphene-like material for CAD/CAM restorations. **J Mech Behav Biomed Mater.**, v. 100, p. 1-6, 2019.
4. ALTINCI, P.; MUTLUAY, M.; SÖDERLING, E.; TEZVERGIL-MUTLUAY, A. Antimicrobial efficacy and mechanical properties of BAC-modified hard and soft denture liners. **Odontology**, v.106, p.83-89, 2018.
5. ANUSAVICE, K. J.; SHEN, C.; RAWLS, H. R. Phillips' Science of Dental Materials. 12th ed. **St. Louis, MO: Elsevier/Saunders; 2013.**
6. CASCIONE, M.; DE MATTEIS, V.; PELLEGRINO, P. et al. Improvement of PMMA Dental Matrix Performance by Addition of Titanium Dioxide Nanoparticles and Clay Nanotubes. **Nanomaterials** (Basel), v. 11, n. 8, p. 2027, 2021.
7. CHALOUPKA, K.; MALAM, Y.; SEIFALIAN, A. M. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. **Trends Biotechnol.**, v. 28, n. 11, p. 580-8, 2010.
8. CHEN, L.; SUH, B. I.; YANG, J. Antibacterial dental restorative materials: A review. **Am J Dent.**, v. 31, n. (Sp Is B), p. 6B-12B, 2018.
9. CHLADEK, G.; PAKIEŁA, K.; PAKIEŁA, W.; ŻMUDZKI, J.; ADAMIAK, M.; KRAWCZYK, C. Effect of Antibacterial Silver-Releasing Filler on the Physicochemical Properties of Poly (Methyl Methacrylate) Denture Base Material. **Materials (Basel)**, v. 12, n. 24, p. 4146, 2019.
10. de CAMPOS, M. R.; BOTELHO, A. L.; DOS REIS, A. C. Nanostructured silver vanadate decorated with silver particles and their applicability in dental materials: A scope review. **Heliyon**, v. 7, p. 1-7, 2021.
11. de CASTRO, D. T., KREVE, S.; OLIVEIRA, V. C.; ALVES, O. L.; DOS REIS, A. C. Development of an impression material with antimicrobial properties for dental application. **J. Prosthet.**, v.28, n.8, p.906-12, 2019.
12. de CASTRO, D. T.; HOLTZ, R. D.; ALVES, O. L.; WATANABE, E.; VALENTE, M. L.; SILVA, C. H.; REIS, A. C. Development of a novel resin with antimicrobial properties for dental application. **J. Appl. Oral. Sci.**, v.22, n.5, p.442-9, 2014.
13. de CASTRO, D. T.; VALENTE, M. L. C.; AIRES, C. P.; ALVES, O. L.; REIS, A. C. Elemental ion release and cytotoxicity of antimicrobial acrylic resins incorporated with nanomaterial. **Gerodontology**, v.34, v.3, p.320-325, 2017.

14. de CASTRO, D. T.; VALENTE, M. L.; AGNELLI, J. A.; DA SILVA, C. H.; WATANABE, E.; SIQUEIRA, R. L.; ALVES, O. L.; HOLTZ, R. D.; DOS REIS, A. C. In vitro study of the antibacterial properties and impact strength of dental acrylic resins modified with a nanomaterial. **J. Prosthet. Dent.**, v.5, n.2, p.238-46, 2016.
15. de CASTRO, D. T.; VALENTE, M. L.; DA SILVA, C. H.; WATANABE, E.; SIQUEIRA, R. L.; SCHIAVON, M. A.; ALVES, O. L.; DOS REIS, A. C. Evaluation of antibiofilm and mechanical properties of new nanocomposites based on acrylic resins and silver vanadate nanoparticles. **Arch. Oral Biol.**, v.67, p.46-53, 2016.
16. ELWAKIEL, N.; EL-SAYED, Y.; ELKAFRAWY, H. Synthesis, characterization of Ag₂p and Sn₂p complexes and their applications to improve the biological and mechanical properties of denture base materials. **J. Molecular Structure**, v.12, n.19, p.1-9, 2020.
17. FENG, Q. L.; WU, J.; CHEN, G. Q.; CUI, F. Z.; KIM, T. N.; KIM, J. O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **J Biomed Mater Res.**, v. 54, n. 4, p. 662-8, 2000.
18. FERREIRA, I.; VIDAL, C. L.; BOTELHO, A. L.; FERREIRA, P. S.; DA COSTA VALENTE, M. L.; SCHIAVON, M. A.; ALVES, O. L.; DOS REIS, A. C. Effect of nanomaterial incorporation on the mechanical and microbiological properties of dental porcelain. **J. Prosthet. Dent.**, v.123, n.3, p.529, 2020.
19. HOLTZ, R. D.; LIMA, B. A.; SOUZA FILHO, A. G.; BROCCHI, M.; ALVES, O. L. Nanostructured silver vanadate as a promising antibacterial additive to water-based paints. **Nanomedicine**, v.8, n.6, p.935-40, 2012.
20. HOLTZ, R. D.; SOUZA FILHO, A. G.; BROCCHI, M.; MARTINS, D.; DURÁN, N.; ALVES, O. L. Development of nanostructured silver vanadates decorated with silver nanoparticles as a novel antibacterial agent. **Nanotechnology**, v.21, n.18, p.1-9, 2010.
21. HOTTA, J.; GARLET, G. P.; CESTARI, T. M.; LIMA, J. F. M.; PORTO, V. C.; URBAN, V. M.; NEPELENBROEK, K. H. In vivo biocompatibility of an interim denture resilient liner containing antifungal drugs. **J. Prosthet. Dent.**, v.121, p.135-142, 2019.
22. INBAKANDAN, D.; KUMAR, C.; BAVANILATHA, M.; RAVINDRA, D. N.; KIRUBAGARAN, R.; KHAN, S. A. Ultrasonic-assisted green synthesis of flower like silver nanocolloids using marine sponge extract and its effect on oral biofilm bacteria and oral cancer cell lines. **Microb Pathog.**, v. 99, p. 135-141, 2016.
23. KANZOW, P.; WEGEHAUPT, F. J.; ATTIN, T.; WIEGAND, A. Etiology and pathogenesis of dental erosion. **Quintessence Int.**, v. 47, n. 4, p. 275-8, 2016.
24. KARASAN, D.; FEHMER, V.; LIGOUTSIKOU, M.; SRINIVASAN, M.; SAILER, I. The Influence of Patient-Related Factors and Material Selection on the Clinical Outcomes of Fixed and Removable Complete Implant Prostheses: An Overview on Systematic Reviews. **Int J Prosthodont.**, Suppl;34, p. s46-s62, 2021.
25. KHAN, M. S. I.; OH, S. W.; KIM, Y. J. Power of Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive X-Ray Analysis in Rapid Microbial Detection and Identification at the Single Cell Level. **Sci Rep.**, v. 10, n. 1, p. 2368, 2020.

26. KREVE, S.; OLIVEIRA, V. C.; BACHMANN, L.; ALVES, O. L.; DOS REIS, A. C. Influence of AgVO 3 incorporation on antimicrobial properties, hardness, roughness and adhesion of a soft denture liner. **Sci. Rep.**, v.9, n.1, p.1-9, 2019.
27. KREVE, S.; REIS, A. C. Bacterial adhesion to biomaterials: What regulates this attachment? A review. **Jpn Dent Sci Rev.**, v.57, p.85-96, 2021.
28. KUMAR, P.; HUO, P.; ZHANG, R.; LIU, B. Antibacterial Properties of Graphene-Based Nanomaterials. **Nanomaterials** (Basel), v. 9, p. 737, 2019.
29. KUMARI, M.; SHUKLA, S.; PANDEY, S.; GIRI, V. P.; BHATIA, A.; TRIPATHI, T.; KAKKAR, P.; NAUTIYAL, C. S.; MISHRA, A. Enhanced Cellular Internalization: A Bactericidal Mechanism More Relative to Biogenic Nanoparticles than Chemical Counterparts. **ACS Appl Mater Interfaces**, v. 9, n. 5, p. 4519-4533, 2017.
30. LAZARIN, A. A.; MACHADO, A. L.; ZAMPERINI, C. A.; WADY, A. F.; SPOLIDORIO, D. M.; VERGANI, C. E. Effect of experimental photopolymerized coatings on the hydrophobicity of a denture base acrylic resin and on *Candida albicans* adhesion. **Arch. Oral Biol.**, v.58, n.1, p.1-9, 2013.
31. LEE, J. H.; JO, J. K.; KIM, D. A.; PATEL, K. D.; KIM, H. W.; LEE, H. H. Nano-graphene oxide incorporated into PMMA resin to prevent microbial adhesion. **Dental Mater.**, v.34, n.4, p.e63-72, 2018.
32. MAJUMDER, P.; GANGOPADHYAY, R. Evolution of graphene oxide (GO)-based nanohybrid materials with diverse compositions: an overview. **RSC Adv.**, v. 12, n 9, p. 5686-5719, 2022.
33. MANGAL, U.; KIM, J. Y.; SEO, J. Y.; KWON, J. S.; CHOI, S. H. Novel Poly(Methyl Methacrylate) Containing Nanodiamond to Improve the Mechanical Properties and Fungal Resistance. **Materials** (Basel), v.12, n.20, p.34-38, 2019.
34. NIZAMI, M. Z.; TAKASHIBA, S.; NISHINA, Y. Graphene oxide: A new direction in dentistry. **Applied Mater.Today.**, v.19, p.1-14, 2020.
35. NORONHA, V. T.; PAULA, A. J.; DURÁN, G.; GALEMBECK, A.; COGO-MÜLLER, K.; FRANZ-MONTAN, M.; DURÁN, N. Silver nanoparticles in dentistry. **Dent Mater.**, v. 33, n. 10, p. 1110-1126, 2017.
36. NOVOSELOV, K. S.; GEIM, A. K.; MOROZOV, S. V.; JIANG, D.; ZHANG, Y.; DUBONOS, S. V.; GRIGORIEVA, I. V.; FIRSOV, A. A. Electric field effect in atomically thin carbon films. **Science**, v. 306, n. 5696, p. 666-669, 2004.
37. OLIVEIRA, P. C. G.; FERREIRA, M. P.; MELO, A. O; PROCÓPIO, A. L. F.; SUGIO, C. Y. C.; NEPELENBROEK, K. H. Efeito do desafio ácido nas propriedades superficiais das camadas externa e interna de dentes acrílicos reforçados. **Rev Odontol UNESP**, v. 46, n. 5, p. 261-266, 2017.
38. PALEARI, A. G.; MARRA, J.; PERO, A. C.; RODRIGUEZ, L. S.; RUVOLLO-FILHO, A.; COMPAGNONI, M. A. Effect of incorporation of 2-tert-butylaminoethyl methacrylate on flexural strength of a denture base acrylic resin. **J Appl Oral Sci.**, v. 19, n. 3, p. 195-9, 2011.

39. PARK, S.; KIM, H.; CHOI, K. S.; JI, M. K.; KIM, S.; GWON, Y.; PARK, C.; KIM, J.; LIM, H. P. Graphene–Chitosan Hybrid Dental Implants with Enhanced Antibacterial and Cell-Proliferation Properties. **Appl Sci (Basel)**, v. 10, p. 4888, 2020.
40. PRANNO, N.; LA MONACA, G.; POLIMENI, A.; SARTO, M. S.; UCCELLETTI, D.; BRUNI, E.; CRISTALLI, M. P.; CAVALLINI, D.; VOZZA, I. Antibacterial activity against staphylococcus aureus of titanium surfaces coated with graphene nanoplatelets to prevent peri-implant diseases. An in-vitro pilot study. **Int J Environ Res Public Health**, v. 17, n. 5, p. 1568, 2020.
41. QUEIROZ, J. R.; FISSMER, S. F.; KOGA-ITO, C. Y.; SALVIA, A. C.; MASSI, M.; SOBRINHO, A. S.; JÚNIOR, L. N. Effect of diamond-like carbon thin film coated acrylic resin on candida albicans biofilm formation. **J. Prosthodont.**, v.22, n.6, p.451-5, 2013.
42. RADHI, A.; MOHAMAD, D.; RAHMAN, F. S.; ABDULLAH, A. M.; HASAN, H. Mechanism and factors influence of graphene-based nanomaterials antimicrobial activities and application in dentistry. **J. Mater. Res. Tec.**, v.11, p.1290-1307, 2021.
43. RADZIG, M. A.; NADTOCHENKO, V. A.; KOKSHAROVA, O. A.; KIWI, J.; LIPASOVA, V. A.; KHMEL, I. A. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 1, p. 102:300-6, 2013.
44. RAMÓN-RAYGOZA, E. D.; RIVERA-SOLORIO, C. I.; GIMÉNEZ-TORRES, E.; MALDONADO-CORTÉS, D.; CARDENAS-ALEMÁN, E.; CUÉ-SAMPEDRO, R. Development of nanolubricant based on impregnated multilayer graphene for automotive applications: Analysis of tribological properties. **Powder Technol**, v. 32, p. 363:371, 2016.
45. ROKAYA, D.; SRIMANEEPONG, V.; SAPKOTA, J.; QIN, J.; SIRALEARTMUKUL, K.; SIRIWONGRUNGSON, V. Polymeric materials and films in dentistry: An overview. **J. Adv. Res.**, v.14, p.25-34, 2018.
46. SAHM, B. D.; BOTELHO, A. L.; AGNELLI, J. A. M.; REIS, A. C. Relation of physicochemical properties and accumulation of microorganisms in acrylic resins with antimicrobial properties: a systematic review. **Polymer Bulletin**, v. 79, p. 1-13, 2022.
47. SEIFI, T.; KAMALI, A. R. Anti-pathogenic activity of graphene nanomaterials: A review. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v. 199, p. 111509, 2021.
48. SRINIVASAN, M.; SCHIMMEL, M.; LELES, C.; MCKENNA, G. Managing Edentate Older Adults. **Prim Dent J.**, v. 9, n. 3, p. 29-33, 2020.
49. TAHRIRI, M.; DEL MONICO, M.; MOGHANIAN, A.; TAVAKKOLI YARAKI, M.; TORRES, R.; YADEGARI, A, TAYEBI, L. Graphene and its derivatives: Opportunities and challenges in dentistry. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.**, v. 102, p. 171-185, 2019.
50. TEIXEIRA, A. B. V.; SILVA, C. H.; ALVES, O. L.; DOS REIS, A. C. Endodontic sealers modified with silver vanadate: antibacterial, compositional, and setting time evaluation. **BioMed Res. Int.** v.9, p.1-9, 2019.
51. TONG, S. Y.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, V. G. JR. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clin Microbiol Rev.**, v. 28, n. 3, p. 603-61, 2015.

-
52. UEHARA, L. M.; FERREIRA, I.; BOTELHO, A. L.; VALENTE, M. L. C.; REIS, A. C. Influência da incorporação de nanomateriais β -AgVO 3 nas propriedades mecânicas e microbiológicas da porcelana odontológica. **Dent. Materials**, v.22, p.1-7, 2022.
 53. VALENTE, M. L. C.; SHIMANO, M. V. W.; AGNELLI, J. A. M.; REIS, A. C. Retention force and deformation of an innovative attachment model for mini-implant-retained overdentures. **J Prosthet Dent.**, v.121, p.29-134, 2019.
 54. VIDAL, C. L.; FERREIRA, I.; FERREIRA, P. S.; VALENTE, M. L. C.; TEIXEIRA, A. B.; REIS, A. C. Incorporation of Hybrid Nanomaterial in Dental Porcelains: Antimicrobial, Chemical, and Mechanical Properties. **Antibiotics**, v.20, p.1-13, 2021.
 55. WANG, Z.; SHEN, Y.; HAAPASALO, M. Dental materials with antibiofilm properties. **Dent Mater.**, v. 30, n. 2, p. e1-e16, 2014.
 56. YIN, I. X.; ZHANG, J.; ZHAO, I. S.; MEI, M. L.; LI, Q.; CHU, C. H. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. **Int J Nanomedicine**, v. 15, p. 2555-2562, 2020.
 57. ZAFAR, M. S. Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): An Update. **Polymers (Basel)**, v.12, n.10, p.1-35, 2020.
 58. ZOCCOLOTTI, J. Avaliação de propriedades físicas, mecânicas e biológicas de uma resina acrílica para base de próteses após imersão em soluções de sabonetes líquidos desinfetantes: efeito de tempo de imersão. **Dissertação** (Mestrado em Prótese) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara, 2017.