

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

**SÍNTESE E APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE
NANOESTRUTURAS DE ÓXIDO DE CÉRIO (IV), OBTIDAS
PELO MÉTODO HIDROTHERMAL DE MICRO-ONDAS.**

CARLOS CHRISTIANO LIMA DOS SANTOS

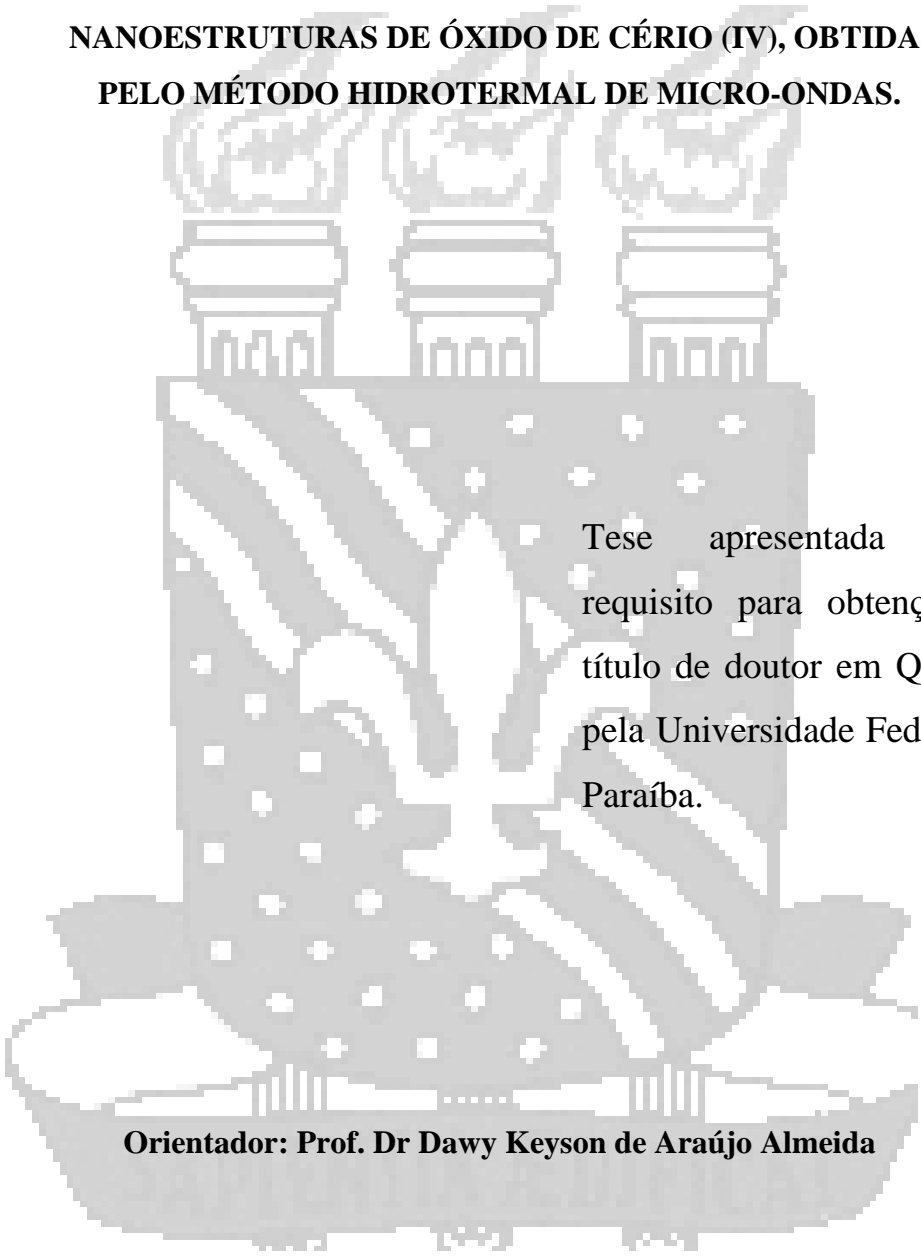


João Pessoa

2013

CARLOS CHRISTIANO LIMA DOS SANTOS

**SÍNTESE E APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE
NANOESTRUTURAS DE ÓXIDO DE CÉRIO (IV), OBTIDAS
PELO MÉTODO HIDROTHERMAL DE MICRO-ONDAS.**



Tese apresentada como
requisito para obtenção do
título de doutor em Química
pela Universidade Federal da
Paraíba.


Orientador: Prof. Dr Dawy Keyson de Araújo Almeida

João Pessoa
2013

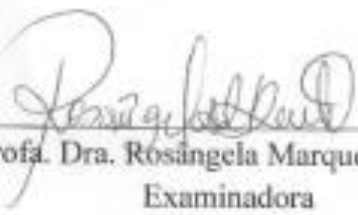
S237s Santos, Carlos Christiano Lima dos.
Síntese e aplicação biotecnológica de nanoestruturas de óxido de cério (IV), obtidas pelo método hidrotermal de microondas / Carlos Christiano Lima dos Santos.-- João Pessoa, 2013. 134f. : il.
Orientador: Dawy Keyson de Araújo Almeida
Tese (Doutorado) – UFPB/CCEN
1. Química. 2. Nanotecnologia. 3. Óxido de cério (IV). 4. Hidrotermal. 5. Microondas. 6. Biotecnologia. 7. Aplicação odontológica.

Síntese e aplicação biotecnológica de nanoestruturas de óxido de cério(IV), obtidas pelo método hidrotermal de micro-ondas.


Tese de Doutorado de Carlos Christiano Lima dos Santos aprovada pela banca examinadora em 21 de Junho de 2013:



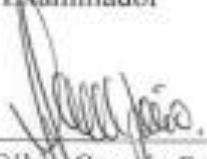
Prof. Dr. Davy Keysson de Araújo Almeida
Orientador/Presidente




Profa. Dra. Rosângela Marques Duarte
Examinadora



Prof. Dr. Jaison Ferreira Machado
Examinador



Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio
Examinador



Prof. Dr. Raul Rosenham
Examinador

João Pessoa
2013

A Deus, por me guiar em caminhos, muitas vezes, tão revoltos.

A minha esposa e grande amor, por todo carinho, dedicação, apoio, incentivo e pela presença, incondicional, em muitos momentos importantes de minha vida.

A todos os meus velhos e novos familiares, mãe, pai, irmãos, sogro e sogra, por todo amor, carinho, dedicação, apoio e incentivo.

A todos os mestres comprometidos com o ofício, representados pela professora Irmã Brígida Maria (in memoriam), por ter me ensinado, a importância do Baobá na vida de um homem.

Dedico.

Agradecimentos

Primeiramente, a Deus, essa energia que cria a existência e a oportunidade de assistirmos a tantos filmes no cinema da vida;

A minha esposa Poliana, que está do meu lado em todos os momentos dessa caminhada, pelo seu amor, carinho e apoio incondicional, pela confiança depositada e por toda colaboração na construção desta Tese;

Aos meus pais por todo apoio possível e pela ajuda na construção do meu caráter;

Aos meus irmãos pelo apoio nos momentos em que precisei;

Ao meu sogro e sogra pelo incansável esforço e dedicação em me ajudar na construção desse trabalho;

Ao CNPq, pela bolsa de estudo concedida e pela ajuda que vem dando ao LACOM;

A todos os professores, da vida e das escolas, que me passaram os ensinamentos necessários à convivência em sociedade, transformando-os em um curioso e fundamental manual de sobrevivência;

Aos profissionais das empresas que trabalhei, Dr. Alberto (CONPEL), Dr. Hermano e Dr. Plácido Borba (Usina CRUANGI), Dr. Anderson Oliveira (COTEMINAS), Dr. Francisco (Chicão) (CAMBUCI) que me passaram os ensinamentos necessários à sobrevivência, em uma outra selva, cujo o manual precisa ser bem mais aprimorado;

Ao professor Dr. Dawy Keyson de Araújo Almeida, pela parceria, amizade, orientação, ensinamentos, apoio e confiança;

Ao professor Dr. Fabio Correia Sampaio, pela amizade, parceria, pelo apoio, pelos valiosos ensinamentos, e, principalmente, pela confiança em abrir as portas do laboratório de biologia bucal (LABIAL) para a realização dos testes microbiológicos, fundamentais para a execução desse trabalho, proporcionando uma produtiva e agradável convivência com toda sua equipe;

Ao professor Dr. Antonio Gouveia de Souza pela confiança e permissão ao desenvolvimento desse trabalho no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM);

Aos professores Dr. Severino Jackson Guedes de Lima, Dr. Tibério Andrade Passos e a toda equipe do Laboratório de Solidificação Rápida pela amizade, confiança, apoio e pela oportunidade de aprender e operar equipamentos, como o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV);

Aos professores Dr. Ercules Epaminondas de Sousa Teotonio, Prof. Dr. Wagner Mendonça Faustino e a toda família do laboratório de Química de Superfície e Compostos de Coordenação (LCCQS), pela amizade, apoio, parceria, ensinamentos e confiança;

Ao professor Dr. José Rodrigues de Carvalho Filho, pela amizade, apoio, conhecimento transmitido, confiança e pelo belo exemplo a ser seguido;

Ao professor Dr. Paulo Cesar de Oliveira, pela amizade, apoio, cultura transmitida, confiança e pelas caronas, que durante a graduação, foram muito importantes;

Aos Professores Dr. Carlos Emmerson e Dr^a Marta Maria , pela amizade, apoio e pelo convite, em 13-12-2004, para trabalhar no LACOM;

Aos professores do Programa de Graduação e Pós-Graduação em Química, pela amizade, apoio e ensinamentos;

Ao doutorando e amigo Allan Reis (Darwin), pela confiança, parceria, amizade, apoio, atenção, execução e discussão da parte biológica na reta final deste trabalho;

À Professora Ms. Isabela Passos e a toda equipe do LABIAL pela confiança, parceria, amizade e pelo apoio na execução dos trabalhos biológicos da tese;

Aos Servidores da UFPB Rogério, Alline Lima, Lúcia, Evaneide, Itânio, Lídia, Jackson, e dona Lourdinha, pela amizade, apoio, compreensão e fundamental ajuda para a realização desse trabalho;

Ao Professores Dr. Nestor Mendes Filho, Dr. Antônio F. Fernandes Vasconcelos, Dr. Jailson Machado, Dr. Júlio Sambrano, Dr. Sávio Sinfrônio, Dr. Luiz E. Soledade, Dr. Raul Rosenhaim , Dr^a Rosângela Duarte, Dr. Vital de Queiroz, Dr. José Soares, Dr. José Geraldo, Dr. Severino, Dr. Antônio Bezerra, Dr. Marçal de Queiroz, Dr^a Ilda Toscano, Dr^a Maria do Socorro, Dr^a. Maria da Conceição, Dr^a. Maria Aldeíza, Dr^a. Tereza Saldanha, Dr. Edvan Cirino, Dr^a. Regiane C. Ugulino, Dr. Mário C. Ugulino e Dr. Mario Vasconcelos, pela amizade, ensinamentos de vida e contribuição na execução desse trabalho;

Aos professores Dr^a Maria Gardênnia e Dr. Julio Rebouças pelas sugestões, inerentes a tese, e a Dr^a Iêda Maria pelas sugestões e pela realização das análises de microscopia;

Aos colegas e ex-colegas do LACOM, Poliana (hoje minha esposa), Jefferson (Jeff), Anderson (Andim), Arnayra (Gords), João Jarllys, Kleber, Alex (Alexch), Diêgo, Jaqueline, Alline Lima, Kassandra, Raul Rosenhaim (Falcon), Nataly, Juliana, Suellen, Iolanda, Laís, Ana Rosa, Luzia, Adriana, Guilherme, Andréa (Déia), Anderson (do peixe), Rebequinha, Hielena, Sarah, Clediana (Calixtinha), Augusto, Marileide, Suelânio, Marco Aurélio, Mary, Rosa Medeiros, André, Danniely, Márcia, Ana Flávia, Isnândia Andréia, Marcelo Rodrigues, Frederico (Quico), Breno José (Brenão), Roberlúcia, Geuza (Geuzinha), Manoel (Calixto), Emmerson (Cabeção), enfim, a todos que fazem parte do LACOM;

Ao CETENE-PE e a todos os seus funcionários, em especial, a Nataly Amorin, Adriana Campos, João Maior, Euclides Almeida e Jiuliete, pelo apoio, compreensão, eficiência e execução de todas as análises de microscopia, Raman e BET;

Enfim, a todos que contribuíram de forma direta e indireta, para a realização deste trabalho, meu sincero muito obrigado.

Título: Síntese e Aplicação Biotecnológica de Nanoestruturas de óxido de cério (IV), Obtidas pelo Método Hidrotermal de Micro-ondas.

Autor: Carlos Christiano Lima dos Santos;

Orientador: Prof.Dr. Dawy Keyson de Araújo Almeida

RESUMO

O óxido de cério(IV) (CeO_2) tem potencial aplicação nas áreas ambientais, catalíticas, microbiológicas e a eficiência de suas nanopartículas dependem da morfologia e de suas dimensões. Nesse estudo, elas foram sintetizadas pelo método hidrotermal assistido por micro-ondas com NaOH e NH_4OH , como agentes mineralizantes, adicionado a uma solução aquosa de sulfato de cério ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) a 150°C durante 1, 5, 15, 30, e 60 minutos, com e sem surfactante, que foi utilizado como matriz para o crescimento de cristais. A estabilidade térmica foi estudada por termogravimetria (TG). As propriedades estruturais, morfológicas e microbiológicas foram avaliadas por difração de raios-X (XRD), microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (FEG-SEM), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), método de BET, espectroscopia de infravermelho (IR), espectroscopia de UV-visível (UV-vis), espectroscopia Raman, prova de resazurina, absorvância, fluorescência e difusão de poços. Todas as amostras de DRX mostraram picos que correspondem aos planos (1 1 1), (2 0 0), (0 2 2), (3 1 1), (2 2 2) e (4 0 0) de um cubo de face centrada, fluorita, atribuída a estrutura de CeO_2 , de acordo com a norma JCPDS 34-0394. Picos largos de reflexão foram claramente visualizados, indicando que o tamanho do cristal é pequeno e deve estar na dimensão nanoescalar, dando uma indicação da influência do *template* e do método de obtenção deste material nanoestruturado. No espectro de Raman, forte pico em torno de 471 cm^{-1} foi detectado, o qual é atribuído ao alongamento O-Ce-O. Espectros de infravermelho mostraram uma banda de vibração entre 700 e 500 cm^{-1} , relacionada com a vibração metal-oxigênio (Ce-O). Bandas atribuídas a grupos hidroxilas (1100 cm^{-1}) e carbonatos (1530 , 1320 , 1050 e 850 cm^{-1}), independentemente da presença do PEG 200, foram também observadas, além de bandas atribuídas a água (1629 cm^{-1}). Suas áreas superficiais foram de, aproximadamente, 200 g/m^2 com tamanhos de partículas em torno 5nm. As Micrografias, com e sem *template*, mostraram diferentes tamanhos e formas de aglomerados. Os testes microbiológicos mostraram, para concentração de 10% de óxido de cério (IV) nanométrico em óxido de zinco com aplicação odontológica, uma concentração mínima inibitória de $0,22\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$. Os resultados mostraram a influência do *template* sobre a morfologia das nanopartículas de óxido de cério (IV), obtidas pelo método hidrotermal de micro-ondas e seu potencial como agente antimicrobiano contra a bactéria *Streptococcus mutans*, o principal microorganismo da etiologia da cárie dentária, em fármacos de aplicação odontológica.

Palavras-chave: nanotecnologia, óxido de cério (IV), hidrotermal, micro-ondas, biotecnologia, odontologia.

Title: Synthesis Biotechnological and Application of cerium oxide (IV) nanostructures Obtained by Microwave-Hydrothermal Method.

Author: Carlos Christiano Lima dos Santos;

Advisor: Prof.Dr. Dawy Keyson de Araújo Almeida

ABSTRACT

The cerium oxide(IV) (CeO_2) has wide application in several areas such as environmental, catalytic, microbiological and its efficiency depends on the morphology and particle size. In this study, they were synthesized by hydrothermal method assisted by microwave under NaOH and NH_4OH mineralizers added to a Cerium sulfate tetrahydrate ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) aqueous solution, at 150°C for 1, 5, 15, 30 and 60 minutes, with and without surfactant that was used as a *template* for crystal growth. The thermal stability was studied by thermogravimetry (TG). The structural and morphological properties were evaluated by X-ray diffraction (XRD), field-emission scanning electron microscopy (FE-SEM), transmission electron microscopy (TEM), BET method, infrared spectroscopy (IR), UV-visible spectroscopy (UV-vis) and Raman spectroscopy, Resazurin tests, absorbance, fluorescence and diffusion wells. All samples show XRD peaks corresponding to the plane (1 1 1), (2 0 0), (0 2 2), (3 1 1), (2 2 2) and (4 0 0) of a cube face-centered, fluorite, structure assigned to CeO_2 in accordance with the standard JCPDS 34-0394. It is clearly seen that the reflection peaks are broad, indicating that the crystal size is small and should be in nanoscalerange. In addition, data give an indication of the influence of the *template* and the method for obtaining this nanostructured material. In the Raman spectrum, strong peak around 471 cm^{-1} was detected, which is the only active mode, of first order, assigned to symmetric O-Ce-O stretching. In the infrared spectra bands between 700 and 400 cm^{-1} were observed, being related to metal-oxygen vibration. Infrared spectra showed a vibration band between 700 and 500 cm^{-1} related to metal-oxygen vibration (Ce-O). Bands assigned to hydroxyls groups (1100 cm^{-1}) and carbonates (1530 , 1050 and 850 cm^{-1}) were also observed independently of the presence of the PEG 200. Bands assigned to water (1629 cm^{-1}) were also present. The surface areas of the synthesized materials were approximately 200 g.m^2 and particulates sizes around 5nm. FE-SEM micrographs of samples obtained with and without *template* showed particles of different sizes, forming different clusters. Microbiological tests showed, at a concentration of 10% cerium oxide nanostructured in oxide zinc dental application, minimum inhibitory concentration value of $0,22\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$. The results showed the influence of the *template* on the morphology of ceria nanoparticles, obtained by microwave-assisted hydrothermal method, its potential application as an antimicrobial agent against *Streptococcus mutans* bacteria, the most important microorganism related to dental caries etiology, dental drug application.

Keywords: nanotechnology, cerium oxide (IV), hydrothermal, microwave, biotechnology, dentistry.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estruturas cristalinas da rede hexagonal (P 3m1) de Ce ₂ O ₃ . Destaque para os átomos de Ce e O, representados por círculos pretos e cinzas, respectivamente (SKORODUMOVA et al, 2001).	27
Figura 2 - Estrutura cristalina do CeO ₂ (Fluorita).....	28
Figura 3 – Micrografia, do CeO ₂ , obtida por síntese hidrotérmal de micro-ondas	29
Figura 4 - Representação dos possíveis efeitos de partículas menores (3 nm) e maiores (10 nm) de óxido de cério (IV) em uma bicamada lipídica e no citoplasma bacteriano.	40
Figura 5 -Sistemas nanoestruturados, a) dendrímeros e b) micelas (Adaptado de VILLANOVA et al, 2010).....	46
Figura 6 - Ilustração esquemática da síntese de nanoestruturas de óxido de cério (IV) utilizando polietilenoglicol (PEG) com agente direcionador.	49
Figura 7 - Representação esquemática da síntese e mecanismo de crescimento de partículas de CuO com PEG (KEYSON et al,2008).....	51
Figura 8 - Processo de obtenção de nanopartículas de CeO ₂ a partir do método de síntese mecânica.	53
Figura 9 - Proposta de mecanismo para obtenção de compostos de cério pelo método dos precursores poliméricos.....	54
Figura 10 - Processo de obtenção de nanopartículas de CeO ₂ a partir do método dos precursores poliméricos.....	55
Figura 11 - Processo de obtenção de nanopartículas de CeO ₂ a partir do método decomposição ultrassônica (Sonoquímica).	57
Figura 12 - Processo de obtenção de nanopartículas de CeO ₂ pelo método de precipitação. .	58
Figura 13 - Representação esquemática do método hidrotérmal induzido por micro-ondas. .	60
Figura 14 Representação esquemática (a) e Fotos (b) Reator de Micro-ondas industrial(VOLANTE et al,2008).....	61
Figura 15 - Ilustração do processo de acoplamento/desacoplamento promovido pelas micro-ondas no mecanismo de aquecimento da água (VOLANTE et al 2008)	62
Figura 16 - Representação esquemática da síntese e mecanismo de crescimento de partículas de SrWO ₄ por Hidrotérmal de Micro-ondas (SCZANCOSKI et al, 2009).	63
Figura 17 Representação esquemática da síntese das partículas de CeO ₂ por HMO.....	68
Figura 18 - Tubos contendo grupos experimentais e suas diluições.	75
Figura 19 - Tubos agitados em vórtex.....	75
Figura 20 - Tubos em jarra de microaerofilia.....	76
Figura 21 - Placa de Elisa posicionada em leitor.	76
Figura 22 - Solução do tubo dispensada na placa de Elisa para teste colorimétrico.....	77
Figura 23 - Dispensação da resazurina na placa de Elisa.....	77
Figura 24 - Poços da Placa de Elisa contendo solução dos tubos (BHI, inóculo e material) e resazurina.....	78
Figura 25 - Óxido de zinco e eugenol modificado por cério na placa de Petri com meio BHI Agar.	81
Figura 26 - Aferição do halo de inibição com paquímetro.....	81
Figura 27 - Difractogramas de raios-X do sistema CeO ₂ na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NaOH-150°C.	83
Figura 28 - Difractogramas de raios-X do sistema CeO ₂ na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.	83
Figura 29 - Difractogramas de raios-X do sistema CeO ₂ na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C.....	84

Figura 30 - Difractogramas de raios-X do sistema CeO ₂ na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	84
Figura 31 - Parâmetros de rede para a fluorita de CeO ₂	86
Figura 32 - FWHM para as fluoritas com sistema CeO ₂ nas seguintes rotas de síntese: CeO ₂ -NaOH-150 °C; CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C; CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C e CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	87
Figura 33 - Tamanho de cristalito para os sistema de CeO ₂ nas seguintes rotas de síntese: CeO ₂ -NaOH-150°C; CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C; CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C e CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	89
Figura 34 – Curvas de termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG) e de análise térmica diferencial (DTA) do sistema CeO ₂ nas seguintes rotas de síntese: CeO ₂ -NaOH-150°C; CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.....	92
Figura 35 - Espectros de absorção na região do infravermelho do óxido de cério (IV): CeO ₂ -NaOH-150°C.....	94
Figura 36 - Espectros de absorção na região do infravermelho do óxido de cério (IV) para o sistema:CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.....	95
Figura 37 - Espectros de absorção na região do infravermelho do óxido de cério (IV) para o sistema:CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C.-.....	95
Figura 38 - Espectros de absorção na região do infravermelho do óxido de cério (IV) para o sistema: CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	96
Figura 39 - Espectros Raman do CeO ₂ para o sistema: CeO ₂ -NaOH-150°C.....	97
Figura 40 - Espectros Raman do CeO ₂ para o sistema: CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.....	98
Figura 41 - Espectros Raman do CeO ₂ para o sistema CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C.....	98
Figura 42 - Espectros Raman do CeO ₂ para o sistema: CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	99
Figura 43 - Resultados de FWHM (Raman).....	101
Figura 44 - Espectros na região do UV-visível, do sistema CeO ₂ , na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NaOH-150°C.b.....	102
Figura 45 - Espectros na região do UV-visível, do sistema CeO ₂ , na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.....	103
Figura 46 - Espectros na região do UV-visível, do sistema CeO ₂ , na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C.....	103
Figura 47 - Espectros na região do UV-visível, do sistema CeO ₂ , na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	104
Figura 48 - Espectros na região do UV-visível (valor do gap), do sistema CeO ₂ , nas seguintes rotas de síntese: (a) CeO ₂ -NaOH-150°C; (b) CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.....	105
Figura 49 - Espectros na região do UV-visível (valor do gap), do sistema CeO ₂ nas seguintes rotas de síntese: (a) CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C e (b) CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	106
Figura 50 - Microscopia eletrônica de varredura do sistema CeO ₂ na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NaOH-150°C.....	107
Figura 51 - Microscopia eletrônica de varredura do sistema CeO ₂ na seguinte rota de síntese : CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.....	107
Figura 52 - Microscopia eletrônica de varredura do sistema CeO ₂ nas seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C.....	108
Figura 53 - Microscopia eletrônica de varredura do sistema CeO ₂ na seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	108
Figura 54 - Microscopias eletrônicas de varredura para os sistema de CeO ₂ : (a) CeO ₂ -NaOH-150°C.....	109
Figura 55 - Microscopias eletrônicas de varredura com sua respectiva distância interplanare (a) e o resultado de EDS(b) para o CeO ₂ na seguinte rota de síntese:.....	110

Figura 56 - Microscopias eletrônicas de varredura com sua respectiva distância interplanar (a) e resultado de EDS (b) para o CeO ₂ com a seguinte rota de síntese: CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.	111
Figura 57 - Microscopias eletrônicas de varredura com sua respectiva distância interplanar (a) e resultado de EDS (b) para o CeO ₂ com a seguinte rota de síntese : CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C.	112
Figura 58 - Microscopias eletrônicas de varredura com sua respectiva distância interplanar (a) e resultado de EDS (b) para o CeO ₂ com a seguinte rota de síntese : CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.	113
Figura 59 - Prova da Resazurina realizada para, apenas, os grupos contendo óxido de cério (IV) (G1, G2, G3 e G4).	116
Figura 60 - Resultados de fluorescência dos grupos de óxido de zinco com diferentes concentrações de óxido de cério (IV), onde o controle positivo contém BHI + Inóculo bacteriano em 0,135 na escala de MacFarland e o controle negativo contém apenas BHI sem inóculo bacteriano (<i>S. mutans</i>).	117
Figura 61 - Distribuição da absorvância nos grupos de óxido de zinco em diferentes concentrações de óxido de cério (IV), onde o controle positivo contém BHI + Inóculo bacteriano em 0,135 na escala de MacFarland e o controle negativo contém apenas BHI sem inóculo bacteriano.	118
Figura 62 - Halo de inibição nos grupos testados.	120
Figura 63 - Ilustração esquemática da oxidação do eugenol pela ação de nanoestruturas de óxido de cério (IV) (adaptado de COSTA, 2000).	121

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Reagentes utilizados na síntese do CeO ₂	67
Tabela 2 - Identificação dos grupos experimentais	74
Tabela 3 - Identificação dos grupos experimentais (Difusão em poços).....	80
Tabela 4 Volumes das células unitárias para o CeO ₂ (Å ³).	85
Tabela 5 - Valores de área de superfície, em metro quadrado por grama (m ² .g ⁻¹), para as fluoritas de CeO ₂ (m ² /g) nas seguintes rotas de síntese: CeO ₂ -NaOH-150°C; CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C; CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C e CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	91
Tabela 6 - Valores de tamanhos de partículas do sistema CeO ₂ , em nanômetros (nm), nas seguintes rotas de síntese: CeO ₂ -NaOH-150°C; CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C; CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C e CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C.....	91
Tabela 7 - Dados das curvas de análise térmica do sistema CeO ₂ nas seguintes rotas de síntese: CeO ₂ -NaOH-150°C; CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C.	93
Tabela 8 - Bandas de absorção (nm) na região do UV-visível atribuídas ao sistema CeO ₂ .	105
Tabela 9 - Teste colorimétrico de atividade antimicrobiana das diluições frente a <i>S. mutans</i>	115
Tabela 10 - Distribuição dos halos de inibição em mm conforme os grupos experimentais.	119

Lista de Abreviações (Siglas)

Bacillus subtilis – *B. subtilis*

BHI - Brain and Heart Infusion

Céria - Óxido de cério (IV)

Ce₂O₃ - Óxido de cério (III)

CeO₂ - Óxido de cério (IV)

CeO₂-NaOH-150°C – Óxido de cério (IV) sem polietilenoglicol com NaOH tratada a 150°C

CeO₂-NaOH-PEG-150°C - Óxido de cério (IV) com polietilenoglicol com PEG e NaOH tratada a 150°C

CeO₂-NH₄OH-150°C - Óxido de cério (IV) sem polietilenoglicol com NH₄OH tratada a 150°C.

CeO₂-NH₄OH-PEG-150°C - Óxido de cério (IV) com polietilenoglicol com PEG e NaOH tratada a 150°C

CTMABr - brometo de cetiltrimetilamônio

DEG - dietileno glicol

DTG – Termogravimetria derivada

DTA – Análise térmica diferencial

E. coli - *Escherichia coli*

E. tarda - *Edwardsiella tarda*

FETs - transistor de efeito de campo

FWHM - Do ingles *Full width at half maximum* (Largura a meia altura)

HC - Método hidrotermal convencional

HCS - Método hidrotermal convencional utilizando solvente diferente de água

HMO - Método hidrotermal assistido por micro-ondas

JCPDS – Joint Committee of Powder Diffraction Standards

LEDs - diodos de emissão de luz

Ln - Lantanídeos

N. europaea - *Nitrosomonas europaea*

NaAOT - bis-(2-etilhexil)-sulfosuccinato de sódio

Nm - nanômetro (unidade de comprimento, 1 nm = 10⁻⁹ m)

P. aeruginosa - *Pseudomonas aeruginosa*

P. putida - *Pseudomonas putida*,

P.R. - Parâmetros de rede

P.subcapitata – *Pseudokirchneriella subcapitata*

PAA - poli (ácido âmico),

PHEMA - Poli(metacrilato de hidroxietila)

PP - Método dos precursores poliméricos

PTFE - Politetrafluoretileno

PVA - Acetato de Polivinila

PEG - Polietilenoglicol

Rc - raio crítico

ROS - reactive oxygen species (espécies reativas de oxigênio),

RPM - rotações por minuto

RPM - Rotações por minuto no SI (1 rpm = 0,1 rad.s-1)

S. aureus - *Staphylococcus aureus*

S. mutans - *Streptococcus mutans*

S. oneidensis - *Shewanella oneidensis*

S. aureus - *Staphylococcus aureus*

S. inie - *Streptococcus iniae*

SNC - sistema nervoso central

TG - Termogravimetria

T.T.C. - Transição de transferência de cargas.

V.C.U. - Volume da Célula unitária

Lista de Abreviações (Símbolos)

$^{\circ}\text{C}$ - Temperatura em centígrados

E - Energia

K - Temperatura em Kelvin

M^{+} - íon metálico de carga $n+$

ΔT - Variação da temperatura

Λ - Comprimento de onda

N - Número de onda

Σ - constante dielétrica

Sumário

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	LANTANÍDEOS	21
2.1.1	<i>A química dos lantanídeos, seus compostos e estados de oxidação.</i>	22
2.1.1.1	<i>Cério e seus compostos</i>	24
2.2	NANOESTRUTURAS	33
2.2.1	<i>Aplicações de nanoestruturas em sistemas biológicos.</i>	34
2.2.2	<i>Produção de Espécies reativas de Oxigênio (ROS)</i>	39
2.2.3	<i>Respostas toxicológicas de nanoestruturas</i>	41
2.3	SURFACTANTES	45
2.3.1	<i>Polietilenoglicol (PEG) como surfactante</i>	48
2.3.1.1	<i>Adsorção e forças atrativas de Van der Waals na mistura CeO₂-PEG</i>	48
2.4	CRISTALIZAÇÃO	49
2.5	METODOLOGIAS PARA OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS	51
2.5.1	<i>Reações no estado sólido</i>	51
2.5.1.1	<i>Síntese Mecânica</i>	51
2.5.2	<i>Reações por via úmida</i>	53
2.5.2.1	<i>Decomposição ultrassônica</i>	55
2.5.2.2	<i>Precipitação</i>	57
2.5.2.3	<i>Método Hidrotermal</i>	59
2.5.2.4	<i>Hidrotermal de micro-ondas</i>	59
3	OBJETIVOS	66
3.1	OBJETIVO GERAL	66
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	66
4	METODOLOGIA	67
4.1	REAGENTES UTILIZADOS	67
4.2	METODOLOGIAS PARA A SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO ÓXIDO DE CÉRIO (IV)	67
4.2.1	<i>Preparação dos materiais</i>	67
4.2.2	<i>Técnicas de Caracterização</i>	69
4.2.2.1	<i>Análise Térmica</i>	69
4.2.2.2	<i>Difração de Raios X (DRX)</i>	69
4.2.2.3	<i>Parâmetros de rede</i>	70
4.2.2.4	<i>Desordem a longo alcance e Cristalinidade Relativa</i>	70
4.2.2.5	<i>Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)</i>	71
4.2.2.6	<i>Espectroscopia Raman</i>	71
4.2.2.7	<i>Espectroscopia de absorção na região do UV-Visível</i>	71
4.2.2.8	<i>Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-AR)</i>	72
4.2.2.9	<i>Microscopia eletrônica de transmissão (MET)</i>	72
4.2.2.10	<i>Fisissorção de nitrogênio (método BET)</i>	73
4.3	APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA	73
4.3.1	<i>Preparação da suspensão bacteriana</i>	73
4.3.2	<i>Concentração Inibitória Mínima (CIM) para cimento de óxido de zinco odontológico e eugenol modificado por óxido de cério (IV)</i>	74
4.3.3	<i>Fluorescência</i>	78
4.3.4	<i>Técnica de difusão em poços</i>	80
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
5.1	ESTUDO DA EVOLUÇÃO DAS FASES	82
5.1.1	<i>Parâmetros de rede</i>	85
5.1.2	<i>Desordem a longo alcance (FWHM)</i>	87
5.1.3	<i>Tamanho de Cristalito</i>	88
5.2	ÁREA DE SUPERFÍCIE - O MODELO DE BET	89
5.3	ANÁLISE DE TERMOGRAVIMETRIA	92

5.4	ESPECTROSCOPIA DE ABSORBÂNCIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	94
5.5	ESPECTROSCOPIA RAMAN DAS AMOSTRAS DE CeO ₂	97
5.5.1	<i>Desordem a curto alcance</i>	100
5.6	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL	102
5.7	AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS NANOPARTÍCULAS	106
5.8	ATIVIDADE ANTI MICROBIANA DO SISTEMA CeO ₂	115
5.8.1	<i>Concentração Inibitória Mínima (CIM)</i>	115
5.8.2	<i>Fluorescência</i>	117
5.8.3	<i>Absorbância das amostras na macrodiluição</i>	118
5.8.4	<i>Difusão em poços</i>	119
6	CONCLUSÕES	122
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	124
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia, uma revolução tecnológica de grande abrangência e de impacto talvez sem precedentes na história, representa mais um importante passo, na busca pelo homem, para o controle sobre a matéria, tendo, na engenharia nanoescalar, a ferramenta para grandes avanços na rotina da humanidade, reduzindo os efeitos dos impactos da atividade industrial, tanto pela produção de bens mais duráveis, quanto pela maior eficiência na utilização da energia do planeta.

Estruturas nanométricas podem apresentar diferentes propriedades quando comparadas com outros materiais em escalas de dimensões maiores. Este argumento, juntamente com o potencial das aplicações tecnológicas desses nanomateriais, tem sido responsável por um investimento, da ordem de trilhões de dólares, por parte de governos e indústrias em todo o mundo.

Em anos recentes, na literatura, tem sido descrita, com sucesso, a preparação de diversas nanoestruturas como PbS, PbO₂, Pb₃O₄, PbO, CuO, Cu₂O, Cu, Se, CdS, Bi₂S₃, SnS₂, ZnO e CeO₂ através de várias rotas de sínteses (CHENG et al, 2004; CHANG et al, 2012).

O óxido de cério (IV) é um importante material de aplicação industrial e de grande interesse em muitas aplicações científicas e tecnológicas. Ele se estabelece como um dos óxidos mais importantes, onde sua estrutura apresenta um grande leque de interesses, para o progresso da nanociência e nanotecnologia, devido a propriedades eletrônica, magnética, catalítica e microbiológica bastante desejáveis por razões sociais e econômicas (KEYSON et al, 2008).

Esses nanomateriais, com dimensões inferiores a 100 nm, são cada vez mais utilizados, como agentes antimicrobianos, quando testados sobre microrganismos, confirmando seus efeitos frente a sistemas vivos, e como matérias de partida, para a produção de fármacos, com uso em procedimentos de diagnóstico e tratamento médicos, em todo mundo. O uso de nanomateriais tem ajudado a desenvolver drogas contra várias doenças, como câncer, acidentes cardiovasculares e processos alérgicos (SURESH et al, 2013).

Para a obtenção do óxido de cério(IV) nanoestruturado, através de método hidrotermal de micro-ondas, a literatura relata muitas alternativas de precursores empregados. Uma opção, para essa síntese, seria apartir da utilização dos seguintes precursores: solução aquosa de sulfato de cério (IV), polietileno glicol 200 (PEG 200) + NaOH com tratamento térmico abaixo da temperatura ordinária ($\leq 300^{\circ}\text{C}$), em intervalos de tempos previamente definidos. Após obtenção do material, várias são as alternativas de caracterizações a serem empregadas,

entre elas, termogravimetria (TG), difracção de raios-X (XRD), microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (FEG-SEM), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), Método de Adsorção/Desorção de N₂ (BET), espectroscopia de infravermelho (IR), espectroscopia de UV-visível (UV-vis), espectroscopia Raman.

Diante disso, propôs-se realizar a síntese, caracterização e avaliação antimicrobiana, frente a *S. mutans*, de nanoestruturas de óxido de Cério (IV) (CeO₂), com elevadas pureza e áreas superficiais, obtidas através do referido método, onde o seu efeito bactericida foi validado através de análises como as de concentração inibitória mínima, fluorescência, absorbância.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LANTANÍDEOS

A classe de elementos denominada Lantanídeos (Ln), representa a série, dos elementos, que começa com o lantânio ($Z = 57$) (La), variando até o lutécio ($Z=71$) (Lu), contendo, todos eles, dois elétrons de valência, numa configuração $6s^2$ (SHRIVER, ATKINS, 2008).

Exceto para o promécio (Pm), os lantanídeos são razoavelmente comuns na crosta terrestre. A fonte mineral principal para os primeiros lantanídeos, entre eles o cério, é a monazita. Países como Brasil, Estados Unidos, Rússia, Índia, China e Austrália apresentam depósitos desses minerais com viabilidade econômica (ABRÃO, 1994).

Essa série apresenta um preenchimento progressivo dos orbitais $4f$ desde o cério ($4f^1$) até o lutécio ($4f^{14}$) e, na maioria dos casos, apresenta seus orbitais $5d$ vazios.

Os lantanídeos se caracterizam pela química dos elementos de estados de oxidação (III) e podem apresentar-se como sesquióxidos, com fórmula geral Ln_2O_3 , estado de oxidação mais estável em condições ambientes, que se assemelham aos óxidos dos grupos cálcio (Ca), estrôncio (Sr) e bário (Ba) e absorvem dióxido de carbono (CO_2) e água do ar formando carbonatos e hidróxidos (LEE, 1980).

Outros estados de oxidação (II e IV) são possíveis para essa série, porém com menor estabilidade do que a registrada para o íon Ln^{3+} . Os únicos elementos nos estados (IV) e (II), que favorecem reações em soluções aquosas, são cério (IV) (Ce^{4+}), Samário (II) (Sm^{2+}), európio (II) (Eu^{2+}) e itérbio (II) (Yb^{2+}) (LEE, 1980; SHRIVER, ATKINS, 2008).

A composição exata dos Lantanídeos depende de fatores como temperatura e pressão parcial de oxigênio que, durante a síntese, promovem variações na estrutura LnO_x ($1,5 \leq x \leq 2,0$).

Lantanídeos, misturados ou puros, normalmente são obtidos pela eletrólise de seus haletos fundidos (LEE, 1980; PALENIK et al 2009).

2.1.1 A química dos lantanídeos, seus compostos e estados de oxidação.

As propriedades químicas do grupo correspondem, essencialmente, às propriedades dos compostos iônicos trivalentes. Os metais são eletropositivos, com alta reatividade e de cor branco-prateado. O íon cérico em solução é obtido, classicamente, pela oxidação do Ce^{3+} em ácido nítrico (HNO_3) ou ácido sulfúrico (H_2SO_4) com íons persulfato ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$).

Com relação ao arranjo espacial, os íons Ln^{3+} são bastante diferentes dos outros íons metálicos trivalentes. Como os íons Ln^{3+} são maiores, há um aumento do número de coordenação, que pode variar de 6 a 12, tanto no estado sólido quanto em solução, sendo os números de coordenação 8 e 9 os mais comuns (OHLWEILER, 1971).

Os íons Ln^{3+} são paramagnéticos, com exceção dos íons ítrio (III) (Y^{3+}), latânio (La^{3+}) e lutécio (Lu^{3+}), que são diamagnéticos. Nos compostos com esses íons trivalentes, a luminescência, em geral, ocorre devido às transições f-f (MOELLER, 1975; SHRIVER, ATKINS, 2008).

Transições ópticas 4f – 5d também são possíveis e originam bandas muito mais intensas que as transições tipo f – f, mas essas bandas são geralmente muito largas. A luminescência do Eu^{2+} ($4f^7$) e Ce^{3+} ($4f^1$) são exemplos deste tipo de transição (MOELLER, 1975).

Os valores de potencial de redução padrão ($^\circ\text{E}$), para a série dos lantanídeos, são todos elevados, e seus hidróxidos, $\text{Ln}(\text{OH})_3$, possuem estruturas hexagonais, sendo que seu caráter básico diminui com o aumento do número atômico (diminuição do seu raio iônico) (COTTON, 1978).

Lantanídeos formam poucos complexos, em comparação com os elementos do bloco d, devido ao grande volume de seus elementos (raios da ordem de 0,85 a 1,60 Å) e por causa da dificuldade de seus orbitais f em formar orbitais híbridos (formação de ligações covalentes fortes) (SHRIVER; ATKINS, 2008).

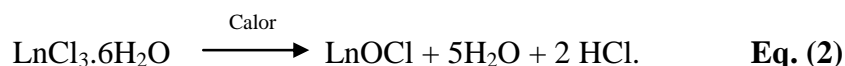
Metais de Lantanídeos reagem com hidrogênio, com temperaturas iniciais da ordem de 300 a 400°C, produzindo hidretos não estequiométricos de fórmulas LnH_2 e LnH_3 , que se decompõem em água, reagem com oxigênio e apresentam características como alta estabilidade térmica (em torno de 900°C) e propriedades intermediárias dos elementos do blocos e dos hidretos intersticiais do bloco d (LEE, 1980).



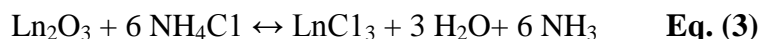
Nas reações envolvendo halogênios, o fluor possui particular importância devido a sua insolubilidade em água. Reações envolvendo ácido fluorídrico com íons de lantanídeos, na presença de ácido nítrico (3M), resultam na precipitação de sais insolúveis.

Reações de cloro e lantanídeos ocorrem em água, de onde podem ser recristalizados, formando sais hidratados em que os elementos que vão do lantânio (La) ao neodímio (Nd) geralmente cristalizam com sete moléculas de água e os que vão do neodímio (Nd) ao lutécio (Lu), incluído o ítrio (Y), cristalizam com seis moléculas (LEE, 1980; COTTON, 1978).

Cloretos anidros não podem ser obtidos facilmente a partir dos hidratos correspondentes, por aquecimento, pois perdem, mais facilmente, o HCl para a formação dos oxicloretos (LnOCl), em comparação com a perda de água (Eq. (2)). Os cloretos, solúveis na água, absorvida do próprio ambiente (deliquescente), cristalizam-se com seis ou sete moléculas de água de cristalização e, sob aquecimento, formam oxialetos e não os haletos anidros (escândio e cério formam os óxidos Sc_2O_3 e CeO_2 , quando desidratados em atmosfera de ar).



Uma forma simples para obtenção de cloretos anidros é através da reação entre cloreto de amônio e os respectivos óxidos dos lantanídeos, tratada termicamente a 300°C (Equação 3).



As reações envolvendo brometos e iodetos com lantanídeos apresentam comportamento semelhante aos observados nos cloretos. Em temperaturas elevadas, os lantanídeos reagem com Bromo, formando LnBr_4 e LnBr_6 (LEE, 1980; COTTON, 1978).

Em geral, como precursores desses lantanídeos, são utilizados sais hidratados provenientes de muitos oxiácidos (sulfatos, nitratos, bromatos, entre outros) (EDELHANN, 2012).

Lantanídeos, além de reagirem com oxigênio e halogênios, formam muitos compostos com outros metais e metaloides. Entre esses compostos, destacam-se sulfetos (Ln_2S_3) e oxisulfetos ($\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}_3$).

Os sulfetos, que apresentam propriedades semicondutoras, podem ser obtidos pela reação dos cloretos LnCl_3 com H_2S , a 1100°C , para formar Ln_2S_3 . São sintetizados também os compostos lantanídeos com os elementos da família V (Nitrogênio-N, Fósforo -P, Arsênio-As

e bismuto: LnN, LnP, LnAs, LnBi. São conhecidos também os boretos do tipo LnB₄ e LnB₆ e os carbetos LnC₂ e Ln₂C₃, de interesse em cerâmicas especiais (COTTON, 1978; OHLWEILER, 1971).

Para os lantanídeos, o estado de oxidação (II), comum para muitos elementos, como haletos binários, apresenta pouca ocorrência em solução e em complexos, devido a sua fácil oxidação para o estado (III) e compostos divalentes de samário (II), európio (II) e itérbio (II) são estáveis (COTTON, 1978; PALENIK et al, 2009).

O único lantanídeo no estado de oxidação (IV), que é suficientemente estável em solução aquosa, é o íon Ce⁴⁺ podendo ser encontrado neste estado tetravalente em alguns compostos com alto poder oxidante (PALENIK et al, 2009).

2.1.1.1 Cério e seus compostos

O cério, configuração eletrônica [Xe]4f¹ 5d¹ s², tem caráter fortemente eletropositivo e interações predominantemente iônicas, devido ao seu baixo potencial de ionização (3,49 kJ mol⁻¹), que permite a remoção dos três primeiros elétrons. Algumas das propriedades de seus compostos, como os diferentes estados de oxidação, são determinantes para suas aplicações tecnológicas (COTTON, 1978; LEE, 1980).

Dentre os compostos de cério (III), destacam-se o óxido, o hidróxido, os nitratos, os trihaletos, os sulfatos e os carbonatos. Os sais de cério (III) são estáveis ao ar, mas não o hidróxido (COTTON, 1978; PALENIK et al, 2009).

O carbonato de cério é obtido por adição de carbonato de amônio a uma solução de um sal de cério (III). Com o tratamento da solução desse sal em ácido nítrico, tem-se a produção de nitrato de cério, que quando submetido a uma evaporação com ácido sulfúrico, forma um novo sal, o sulfato de cério (COTTON, 1978; LEE, 1980).

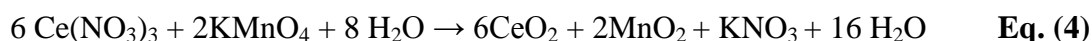
O trifluoreto de cério, CeF₃, é obtido a partir da redução do CeF₄ em atmosfera de hidrogênio a uma temperatura de 300°C (YOUSEFI et al, 2012).

Para o cério, diferentemente dos demais elementos dessa classe, o estado de oxidação (IV) também é estável, principalmente em virtude da configuração eletrônica semelhante à de um gás nobre ([Xe]4f⁰). Este elemento, no estado tetravalente, é estável em solução aquosa, porém a influência da carga de menor tamanho iônico faz com que os sais de Ce⁴⁺ sejam hidrolisados em soluções aquosas com mais facilidade que o íon Ce³⁺ e, conseqüentemente, estas soluções apresentem-se fortemente ácidas, proporcionando um maior interesse quanto ao estudo de sua química de oxiredução (PALENIK et al, 2009; SHRIVER, ATKINS, 2008).

O Cério (IV) apresenta como únicos compostos binários seus óxidos anidros (CeO_2), hidratados ($\text{CeO}_2 \cdot n \cdot \text{H}_2\text{O}$) e fluoretos (CeF_4).

Óxido de cério (IV) apresenta a cor branca quando puro, podendo ser obtido através do aquecimento em ar de cério metálico, do seu óxido trivalente, Ce_2O_3 , do hidróxido $\text{Ce}(\text{OH})_3$ ou a partir de qualquer sal de Ce^{3+} de oxiácidos, como oxalato, carbonato, nitrato, em atmosfera de ar ou oxigênio. O $\text{CeO}_2 \cdot n \cdot \text{H}_2\text{O}$, obtido da reação entre uma base e o íon Ce^{4+} , apresenta-se como um precipitado de cor levemente amarela (COTTON, 1978; PALENIK et al, 2009).

Uma alternativa para a síntese do óxido de cério (IV) com alto grau de pureza e rendimentos entre 95% e 98%, é através da oxidação do sal $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ por KMnO_4 em temperaturas elevadas (COTTON, 1978; EDELMANN, 2012), conforme a reação a seguir (Equação 4).



Compostos de cério (IV), devido ao seu elevado potencial de oxidação, apresentam propriedades como: alta mobilidade de oxigênio na rede cristalina e alta afinidade por compostos com grandes quantidades de oxigênio, nitrogênio e enxofre, muito importantes em diversas áreas tecnológicas (LI et al, 2008).

Compostos de cério formam fosfato insolúvel em HNO_3 (4M) e iodato insolúvel em HNO_3 (6M). Os fosfatos e iodatos podem ser usados para a separação de Ce (IV) dos lantanídeos trivalentes (COTTON, 1978; LI et al, 2008; PALENIK et al, 2009).

Cério (IV) pode ser extraído muito facilmente em solventes orgânicos, como TBP-diluyente, quando comparados aos lantanídeos trivalentes (COTTON, 1978; LI et al, 2008; PALENIK et al, 2009).

O íon hidratado de Ce (IV) ($\text{Ce}(\text{H}_2\text{O})_n$) é um ácido relativamente forte e, em soluções com baixo pH, pode sofrer hidrólise e polimerização. Em outros meios há coordenação dos ânions correspondentes como, por exemplo, em ácido sulfúrico (elevada concentração de íons sulfato), predominam as espécies $\text{Ce}(\text{SO}_4)_3^{-2}$ (COTTON, 1978; LEE, 1980; YOUSEFI et al, 2012).

O tetrafluoreto, CeF_4 , é obtido pelo tratamento de CeCl_3 anidro com flúor elementar, à temperatura ambiente. É relativamente inerte em água fria e pode ser reduzido a CeF_3 com hidrogênio a 200-300°C (LEE, 1980).

Ma et. al (2004), a partir do método de combustão, sintetizaram o $Ce_{1-x}Gd_xO_{2-\delta}$ ($x = 0 - 0,6$) a partir de uma solução sólida, com proporções estequiométricas de $Ce(NO_3)_3$ e $Gd(NO_3)_3$, obtendo um pó cerâmico com tamanho de partícula da ordem de 11 a 28 nm, que em seguida foram sinterizadas a $1300^\circ C$, durante 10 horas.

Várias são as aplicações de interesse industrial dos compostos de cério, dentre elas: dispositivos eletroquímicos (MOGENSEN et al, 2000; YASHIMA et al, 1998), catalisadores de três vias para escape de automóveis (NIKOLAOU et al, 1999; OZAWA et al, 1998), bloqueadores solares contra radiação ultravioleta (IMANAKA et al,b 2003); células solares híbridas (LIRA et al, 2006), agentes para remoção de H_2S (FLYTZANI et al, 2006), dentre outros.

Muitas são as rotas de síntese utilizadas para a obtenção de seus compostos: precipitação (CHEN et al, 2005), sonoquímica (QI et al, 2005), hidrotermal (SHUK et al, 1999), microemulsão (BUMAJDAD et al, 2004), transformação mecanoquímica (TSUZUKI et al, 2002), decomposição térmica (WANG et al, 2002), métodos sol-géis (DUDEK et al, 2010), a síntese solvotermal (SUN et al, 2005), além do método hidrotermal de micro-ondas (DEUS et al, 2013).

A utilização de cada técnica irá depender do tipo de produto a ser sintetizado, considerando as seguintes variáveis: estado de oxidação, pureza, tamanho de partícula, reprodutibilidade, rendimento e possibilidade de produção em larga escala (CHIANG et al; 1997; DURÁN et al, 2002; HIRANO et al, 2000; MUCCILLO et al, 2005; PUROHIT et al, 2006; TSUZUKI et al, 2002).

2.1.1.1.1 Óxido de Cério (III)

Muito se sabe sobre o óxido de cério (IV), porém, ainda há pouco conhecimento acerca da forma sesquióxida, devido à dificuldade de sua obtenção através de redução de alguns sais precursores e por causa de sua instabilidade (fácil oxidação), quando exposta ao ar. Atualmente, muitos autores têm confirmado que vacâncias encontradas em suas nanoestruturas apresentam grande estabilidade ambiental (GHOSHAL et al, 2012; MUCCILLO et al, 2005).

O sesquióxido de Ce, Ce_2O_3 , conforme descrito na Figura 1, possui uma rede hexagonal com grupo espacial $P3m1$, dois átomos de cério e três de oxigênio por célula unitária, onde o mecanismo de transição do CeO_2 para o Ce_2O_3 está ligado à geração de vacâncias de oxigênio (ANDERSON et al, 2007; SKORODUMOVA et al, 2001).

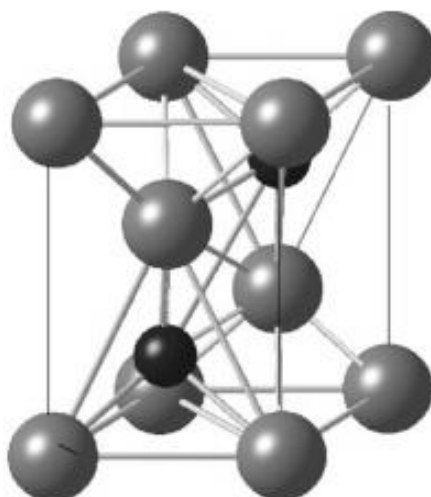
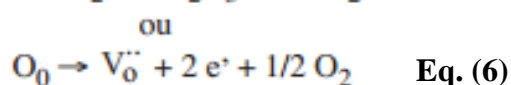
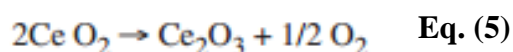


Figura 1 - Estruturas cristalinas da rede hexagonal (P 3m1) de Ce_2O_3 . Destaque para os átomos de Ce e O, representados por círculos pretos e cinzas, respectivamente (SKORODUMOVA et al, 2001).

Uma alternativa de obtenção do Ce_2O_3 é através do aquecimento do CeO_2 em hidrogênio a 1250°C e sua química redox é, em parte, relacionada com a energia semelhante de seus estados eletrônicos 4f e 5d . Quando compostos de cério, por exemplo, hidróxidos, oxilato ou nitrato, são aquecidos em oxigênio, o produto resultante é constituído de dióxido de cério. Essa redução é acompanhada por uma mudança da coloração branco-amarelado (do CeO_2) para cinza azulado do Ce_2O_3 (OHLWEILER, 1971).

Em geral, a diminuição da densidade aparente com o aumento da temperatura de sinterização é explicada como uma consequência da redução do CeO_2 a Ce_2O_3 que ocorre em altas temperaturas ($> 1200^\circ\text{C}$). Esta reação de redução resulta numa perda de massa, que é função do tamanho das partículas: quanto menor o tamanho das partículas, maior é a perda de massa. A reação de redução, na notação de Kröger e Vink, pode ser descrita conforme as Equações 5 e 6.



Onde $V^{\circ\circ}$ representa uma vacância de oxigênio que é criada quando um par de íons Ce^{4+} se reduz. Assim, a diminuição na densidade é atribuída à perda de oxigênio que ocorre durante a redução do óxido de cério (IV) a altas temperaturas (MUCCILLO et al, 2005).

Semelhante às aplicações do óxido tetravalente, nos últimos anos, as partículas de óxido de cério (III) têm recebido grande atenção nas áreas de saúde e bem-estar. Como exemplos, podem ser citados as aplicações bactericida, anti-fúngica e fotocatalítica (HASSAN, et al, 2012; YOUSEFI et al, 2012).

2.1.1.1.2 Óxido de Cério (IV)

Dentre os compostos de Ce^{4+} , o dióxido de cério (CeO_2 , também chamado de óxido de cério (IV)) é o mais estável em virtude de sua estrutura cúbica do tipo fluorita (grupo espacial $Fm\bar{3}m$). Suas aplicações são determinadas pela sua estabilidade oxidativa e sua interconversão do Ce^{3+} e Ce^{4+} . Esta química redox é, em parte, relacionada com as energias semelhantes dos estados eletrônicos 4f e 5d.

Tal estrutura, apresentada nas Figura 2 e 3, confere a este óxido uma estabilidade maior que o sesquióxido, Ce_2O_3 , com cério trivalente (estrutura hexagonal). Esta química redox é, em parte, relacionada com a semelhança das energias dos seus estados eletrônicos 4f e 5d (ANWAR et al, 2011; LI et al, 2008; YAMASHITA et al, 1995).

A redução do óxido de cério (IV) pode ocorrer através de defeitos promovidos na rede por vacâncias de oxigênio. A presença dessas vacâncias, no óxido de cério (IV), são eletrostaticamente compensadas pela existência de sítios de Ce (III), que promovem ao óxido, nova estequiometria e perda da coordenação completa, sendo melhor descrito como CeO_{2-x} (HASSAN, et al, 2012; LYONS et al, 2002).

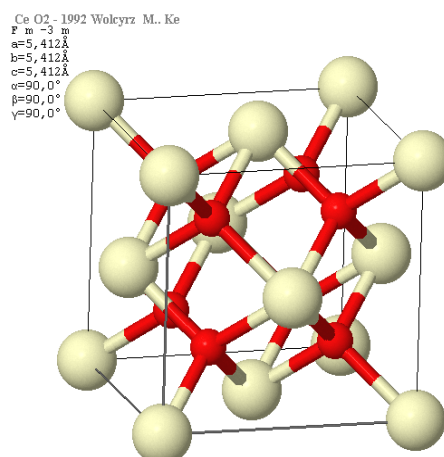


Figura 2 - Estrutura cristalina do CeO_2 (Fluorita)

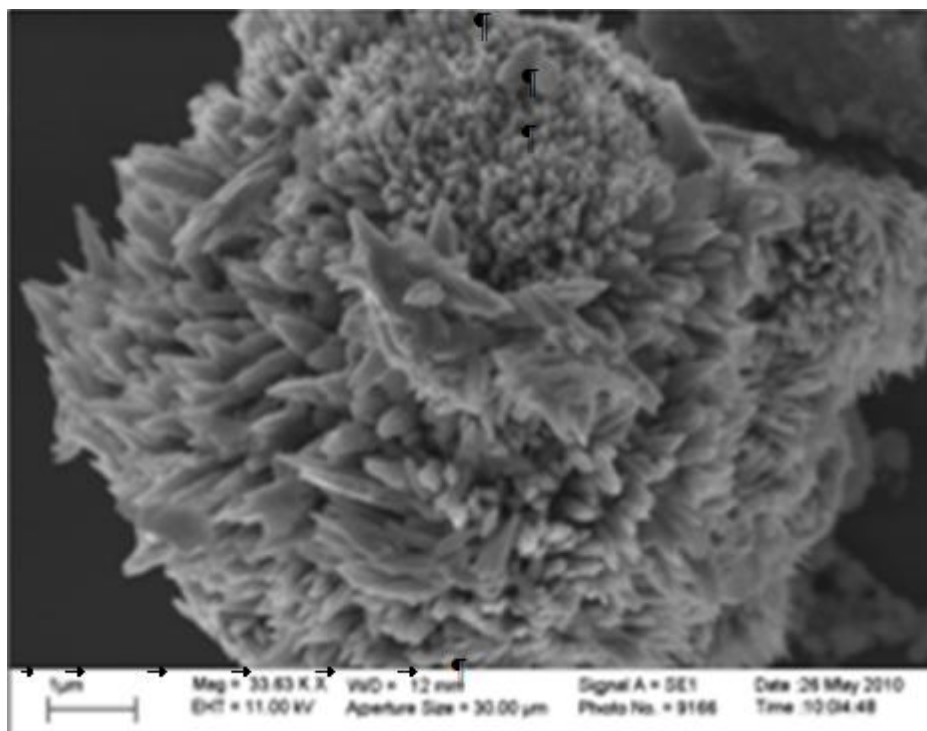


Figura 3 – Micrografia, do CeO₂, obtida por síntese hidrotermal de micro-ondas (KEYSON, 2008)

Para a obtenção de óxido de cério (IV), variados métodos são utilizados, dentre eles pode-se enumerar: reação hidrotermal convencional, reação hidrotermal de micro-ondas, método de microemulsão, transformação mecanoquímica, hidrólise térmica, decomposição térmica, solução de precipitação e sol-gel. No entanto, para muitos desses métodos, elevadas condições de temperaturas e/ou pressão associada a longos períodos de tempo de processamento são frequentemente parâmetros determinantes. Além disso, o controle de nanoestruturas de CeO₂ precisa ser melhor investigado quanto a suas aplicações (BUMAJDAD et al, 2004; DURÁN et al, 2002; FENG et al, 2006; HIRANO et al, 2000; YAMASHITA et al, 1995; TSUZUKI et al, 2004).

Aplicações práticas do óxido de cério (IV) nanoestruturado, assim como de outros óxidos nanométricos, demanda controle sobre um certo número de características específicas, tais como distribuição do tamanho das partículas, estrutura cristalina, morfologia particular, alta área de superfície e estabilidade térmica.

Óxido de cério mesoporoso, macroporoso, bem como nanotubos e nanofios foram sintetizados principalmente pelos métodos químicos. Estes métodos podem prever um caminho mais promissor para nanoestruturas, em termos de custos e potencial para a produção

em larga escala (FU et al, 2001; LAHA et al, 2003; LYONS et al; 2002; KOMARNENI, 2003; TERRIBILE et al, 1998).

A obtenção do óxido de cério (IV) de alta área superficial, de utilidade industrial superior, demanda partículas muito pequenas da ordem de 5 nm, ou, ainda, estruturas morfológicas intrincadas com estrutura fractal ou mesoporosa. No entanto, ainda é um desafio controlar a estrutura, textura e morfologia dos nanomateriais, sem a necessidade de dispendiosos e complexos processamentos (BAI et al, 2002; BOUCHARA et al, 2002; CHEN et al, 2010; VANTOMME et al, 2005; ZHANG et al, 2007).

Os estudos de todas essas rotas de síntese buscam controlar esses parâmetros críticos para obtenção de nanopartículas ultrafinas que são, significativamente, diferentes daquelas do mesmo material em forma convencional (BILECKA et al, 2010; CHEN et al, 2010; VANTOMME et al, 2005; ZHANG et al, 2007).

Torrens et al (1998) estudaram propriedades físicas e elétricas dos pós de $(\text{CeO}_2)_{0,8}(\text{GdO}_{0,15})_{0,2}$, obtidos por diferentes rotas de síntese como uma reação modificada a partir do método de co-precipitação, reação no estado sólido e processo hidrotermal. Como precursores para as sínteses, foram utilizados $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ e $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$ em água destilada e ácido oxálico (0,05 M) como um agente precipitante. O valor do pH foi ajustado entre os valores de 6,7-6,9, utilizando NH_4OH .

Dikmen et al (2002) utilizaram o método hidrotermal de micro-ondas, para preparar uma solução sólida de $\text{Ce}_{1-x}\text{Gd}_x\text{O}_{2-\delta}$ ($x = 0-0,3$). Esse procedimento foi iniciado através da dissolução dos sais precursores $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, separadamente em água, misturados e co-precipitados com NH_4OH em $\text{pH} = 10$. Os pós obtidos de $\text{Ce}_{1-x}\text{Gd}_x\text{O}_{2-\delta}$ ($x = 0 - 0,3$) a partir da solução sólida, apresentaram tamanhos de partículas da ordem de 41-68 nm.

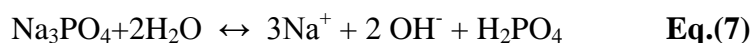
Yuan et al (2005) sintetizaram nanopartículas de óxido de cério (IV) (CeO_2) pelo método de pirólise, utilizando como precursor, o propionato de cério hidratado. O propionato de cério cristalino foi convertido em óxido de cério (IV) por calcinação em temperatura controlada por 90 min. Os resultados mostraram a influência da temperatura de calcinação nas propriedades físicas das partículas de óxido de cério (IV), onde temperaturas mais altas de calcinação promoveram partículas menores e mais densas (da ordem de 20-50 nm).

Thangadurai et al (2007) apresentaram duas alternativas de rotas de sínteses para a preparação de pós com óxido de cério (IV) nanoestruturados dopadas com cálcio. Como precursores para sínteses, foram utilizados CaCl_2 e $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$, e ácido oxálico. A preparação do material dopado com cálcio por reação de estado sólido foi feita em comparação com o método de síntese química, usando CeO_2 e CaCO_3 como materiais de

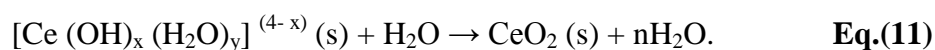
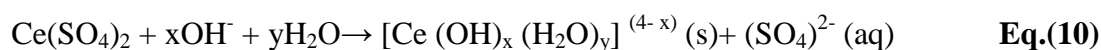
partida (co-precipitação). As misturas de CeO_2 e CaCO_3 foram submetidas a dois tratamentos térmicos, o primeiro a $1500\text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas e o segundo entre $1000\text{-}1350\text{ }^\circ\text{C}$ por igual período de tempo. A formação de um material, com fase fluorita de $\text{Ce}_{1-x}\text{Ca}_x\text{O}_{2-x}$ ($x = 0\text{-}0,2$) foi conseguido. Através da comparação dos métodos de síntese, observou-se que para a reação de estado sólido, os parâmetros de rede aumentam com a crescente quantidade de Ca até $0,10\%$ mol.

Dudek et al (2010) analisaram como as condições de preparação de uma solução sólida, contendo o sistema $\text{CeO}_2\text{-Ln}_2\text{O}_3\text{-CaO}$, ($\text{Ln} = \text{Gd}, \text{Sm}$), influenciou na estrutura e microestrutura das amostras e nas suas propriedades eletrolíticas. Estes resultados podem ser aplicados na construção de dispositivos eletroquímicos em diferentes temperaturas de funcionamento ($500\text{-}700^\circ\text{C}$).

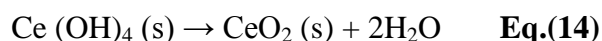
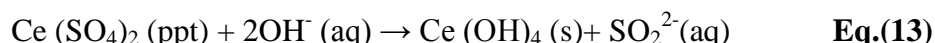
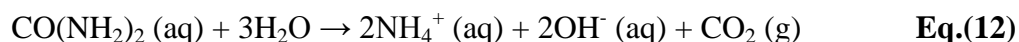
Yan et al (2008) obtiveram nanovaretas de óxido de cério (IV) a partir de $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ com a utilização do template Na_3PO_4 através do método hidrotermal e o mecanismo proposto para síntese (equações 7,8 e 9) pode ser descrito da seguinte forma: fase inicial, condições hidrotermais e a hidrólise dos sais precursores que envolvidos na solução, dá origem a íons como OH^- , Ce^{3+} , que são oxidados pelas moléculas de O_2 existentes, promovendo a formação de um complexo de cério gelatinoso e, por fim, mediante tratamento térmico (200°C), as nanoestruturas do óxido são formadas.



Radovic et al (2009) produziram nanocristais de óxido de cério a partir da formação do complexo $[\text{Ce}(\text{OH})_x(\text{H}_2\text{O})_y]^{(4-x)}$ (onde $x + y$ é o número de coordenação de Ce^{4+}), obtido através da adição controlada de uma solução de base à solução aquosa de $0,4\text{ M}$ de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ (equações 10 e 11). Durante o processo, íons de Ce (IV), são hidrolisados com moléculas de água ou íons OH^- , resultando no complexo.



Tsai et al (2006) também utilizaram precursor de sulfato de cério e, através de reação de decomposição em solução de uréia, obtiveram partículas de óxido de cério (IV) com diâmetros da ordem de 100 nm e a reação química pode ser descrita em três etapas (decomposição da uréia Eq.(12); precipitação do hidróxido Eq. (13) e a formação da óxido de cério (IV) Eq.(14):



Sun et al (2005) estudaram o efeito de surfactantes, como octadecan-1-amina ($\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{N}$), bis-(2-etilhexil)-sulfosuccinato de sódio (NaAOT), dodecilbenzeno-sulfonato de sódio (SDS, $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NaO}_3\text{S}$) e brometo de cetiltrimetilamônio (CTABr), na síntese de nanopartículas de óxido de cério (IV) e suas pesquisas apresentaram várias rotas possíveis de reação para formação nanovaretas de CeO_2 (equações de 15 a 24):

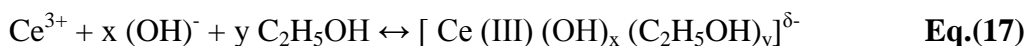
Hidrolização :



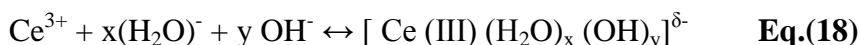
Coordenação:



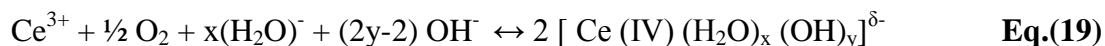
Precipitação (solvotermal):



Precipitação (hidrotermal):

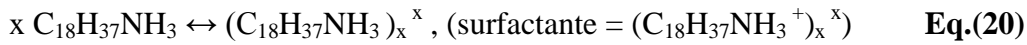


Oxidação:



Reação envolvendo template:

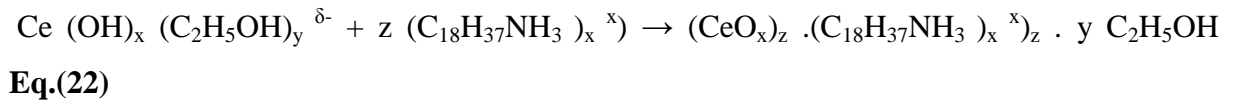
Micelização:



Hidrotermal:



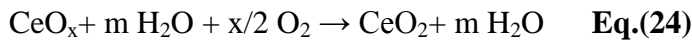
Solvotermal:



Lavagem (eliminação do template):



Calcinação:



2.2 NANOESTRUTURAS

A capacidade de sintetizar, caracterizar e aplicar novos materiais nanoestruturados, representa um ponto crítico para o avanço da nanotecnologia (DANG et al, 2010). Neste sentido, o uso de espécies químicas direcionadoras de nanoestruturas, os chamados templates modeladores, têm desempenhado importante função no mecanismo de crescimento controlado de nanomateriais.

Recentemente, muitas tentativas têm sido feitas para a obtenção de nanoestruturas (nanofios, nanobastões ou nanotubos) ,de óxidos metálicos, em virtude de sua ampla aplicação. Diversos óxidos metálicos têm recebido atenção devido ao seu potencial de uso como componentes ativos ou que interconectam dispositivos eletrônicos, ópticos, óptico-eletrônicos, eletroquímicos e eletromecânicos, fabricados em nanoescala (PHOKAA et al, 2009; YAO et al, 2010).

As superfícies de nanomateriais, com estruturas em três dimensões (3D), são de grande relevância para o desempenho final de sua aplicação como catalisadores, biossensores, microeletrônica e para dispositivos de armazenamento de dados, dentre outros (ANWAR et al, 2011; HOU et al, 2010; YAO et al, 2010).

Durante a última década, novas rotas de síntese controladas de materiais inorgânicos, foram estudadas, sobretudo as que produzem nanoestruturas, especialmente às orientadas através de uma estrutura cúbica de face centrada (fcc). Para essas rotas de síntese, foram utilizados metais (Ag, Au, Pt, e outros) e óxidos de metais (Cu_2O , CeO_2 , Fe_3O_4 , dentre outros) (IIJIMA, 1991; SAIKAT et al, 2008; YAO et al, 2010).

Nanocristais, com estruturas cúbicas de face centrada (fcc), são formados em estruturas poliédricas, limitadas pelas superfícies de baixa energia, com as orientações {100}, {110} e {111} e ao mudar a anisotropia da superfície de cristais, com as condições experimentais e a adição de vários surfactantes, a taxa de crescimento dos diferentes planos irá resultar na formação de nanocristais com formas controladas, tais como cúbicos, octaedros, dentre outras (ANWAR et al, 2011; YAO et al, 2010; SAIKAT et al, 2008).

Embora os estudos tenham sido realizados sobre a síntese de forma controlada de nanocristais, a caracterização da superfície de estruturas 3D, das partículas obtidas em escala nanométricas, ainda representa uma grande fonte para novos estudos. Um nível de compreensão mais detalhado da superfície e da morfologia das nanopartículas nos permitirá um passo significativo para melhor controle das estruturas, bem como auxiliará no estabelecimento do mecanismo de crescimento para novas rotas de síntese verde, por exemplo (ANWAR et al, 2011; HOU et al, 2010).

Atualmente, estruturas de formas 3D, com dimensões de até 50 nm, podem ser visualizadas, diretamente, através de equipamentos como o microscópio eletrônico de varredura (MEV), porém, quando se tratam de estruturas menores que 50 nm, outras ferramentas precisam ser empregadas, como por exemplo, a microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscopia de força atômica (AFM), microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-AR), microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução (MET-AR), entre outros (LI et al, 2008; MALAC et al, 2007).

2.2.1 Aplicações de nanoestruturas em sistemas biológicos.

O termo “inorgânica” pode levar a suposição de que essa área da química se dedique apenas ao estudo de elementos ou compostos que não façam parte da composição dos organismos vivos. No entanto, todos os seres vivos contêm um grande número de compostos inorgânicos, que desempenham papéis importantes na manutenção da vida. O estudo dos compostos inorgânicos, presentes naturalmente ou por contaminação em meios biológicos, constitui hoje um ramo promissor da química dos biosistemas (FARIAS, 2009).

Nesse século, a biotecnologia tem se destacado como uma importante ferramenta para o desenvolvimento tecnológico e científico mundial. A combinação da nanotecnologia com processos bioquímicos, biotecnológicos e em biologia molecular tornou-se uma emergente área de pesquisa como a nanobiotecnologia, que nos oferece grandes oportunidades para o desenvolvimento de novos materiais (SREEREMYA et al, 2012).

Com o objetivo de elucidar e desenvolver novos materiais com estruturas em escalas nanométricas com caráter híbrido, é de extrema necessidade um estudo mais aprofundado das propriedades de superfícies dessas nanopartículas. Além disso, nanomateriais híbridos podem favorecer a importante combinação de nanopartículas (de propriedades magnéticas ou não magnéticas) com biosistemas, tais como anticorpos, proteínas e outras funcionalidades, levando-os a características biofuncionais e de nanoparticulados, promovendo e exibindo ligações altamente seletivas. Essas nanopartículas poderiam ter muitas aplicações biológicas e medicinais, incluindo a dispensação controlada de drogas, diagnóstico médico por imagens, e purificação de proteínas (HORAK et al 2007; SALVIULO et al 2010).

A relação da área de superfície com o volume (ou a massa) de partículas, em escala nanométrica, é muito maior quando comparamos com as de dimensões micrométricas. Como o material na forma nanoparticulada apresenta uma área superficial muito maior, sua reatividade química, geralmente, aumenta significativamente (cerca de 1000 vezes) com essa diminuição do tamanho das estruturas (BUZEA et al 2007).

Silva et al (2005) apresentaram um estudo sobre nanoestruturas derivadas do fulereno (C₆₀), tanto *in vitro* quanto *in vivo*, devido a seu potencial neuroprotetor, onde o material responsável pelo modelo de fornecimento da neuroproteção é o fulerenol, que é o fulereno funcionalizado pela hidroxila.

Os nanotubos de carbono, devido a sua robustez estrutural e versatilidade morfológica, têm sido utilizados em várias aplicações biomédicas, incluindo a engenharia de tecidos. Estudos recentes reportam a uma matriz formada por nanocompósitos, constituídos principalmente por nanotubos de carbono, utilizados como um substrato para o crescimento de células neurais a partir das embrionárias (JAN et al, 2007).

Quanto à ação tóxica desses materiais, estudos relataram a toxicidade *in vitro* do fulerenol, com concentrações das doses em torno de 1 a 100 mg/ml e diâmetro médio de partícula da ordem de 4,7 a 9,5 nm, em células endoteliais presentes na veia umbilical humana (SILVA et al, 2005, ZHU et al, 2007). Pesquisas com nanotubos de carbono revelaram sua ação danosa ao DNA (genotoxicidade) induzidas nas paredes múltiplas de células-tronco embrionárias de camundongos variando seus efeitos biológicos, onde um mesmo

nanomaterial pode desempenhar propriedades favoráveis (neuroproteção) e desfavoráveis (resposta toxicidade celular específico), de acordo com os receptores envolvidos (ZHU et al, 2007).

Muito antes do recente interesse pela nanociência, a IUPAC dividia materiais porosos e seus respectivos tamanhos de poros em três categorias: microporosos (<2 nm), mesoporosos (2-50 nm), e macroporosos (> 50 nm). As aplicações biomédicas de tais materiais incluem bioseparação, biodetecção, transporte de fármacos e, em bioprocessos, age no controle da coagulação sanguínea (BLUMEN et al 2007).

Alguns avanços foram conseguidos, com a utilização de materiais nanoporosos, em vários processos biológicos essenciais. Na engenharia biomédica, cientistas utilizaram membranas de óxido de alumínio poroso (preparadas por processo eletroquímico) como substratos de crescimento celular para a produção de osteoblastos e compararam a eficiência da técnica entre vários diferentes óxidos de alumínio porosos e não porosos (SWAN et al, 2005).

Park et al (2007) demonstraram que os nanotubos de TiO_2 , alinhados verticalmente (também obtido por via eletroquímica), podem direcionar a adesão e proliferação de células de mamíferos em substratos porosos anodizados.

A literatura reporta que íons como Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ podem reagir com bactérias através de diferentes grupos de proteínas. A capacidade de ação da Ag^+ na formação de sais pouco solúveis é também considerada como um dos principais mecanismos para atacar as células de bactérias. A ação bactericida de nanoestruturas de prata é bastante difundida na literatura, especialmente quando tratamos de bactérias Gram-negativas, tais como *Escherichia coli*, e a sua ação se dá através da liberação de seus íons, onde, segundo a literatura, a penetração desses íons, invadiriam as células e interfeririam nesses sistemas metabólicos (SOTIRIOU et al, 2010). Nanopartículas de Cd^{2+} e de Zn^{2+} podem também ligar-se a proteínas da membrana celular contendo enxofre, interferindo na permeabilidade celular (SANTOS et al, 2013).

A toxicidade microbiana de íons metálicos, tais como prata, cobre, níquel e zinco, tem sido utilizada há muito tempo e, não surpreendentemente, nanopartículas formadas a partir desses metais tem apresentado considerável poder toxicológico. O material mais amplamente estudado e vulgarmente utilizado, por sua toxicidade microbiana, é a prata (metálica ou em outras formas combinadas) devido ao seu potencial como agente antibacteriano, mesmo quando as suas partículas se apresentam em dimensões convencionais (SOTIRIOU et al, 2010).

Estudos *in vitro* têm mostrado que nanopartículas de prata causam a elevação de espécies reativas de oxigênio, do inglês, Reactive Oxygen Specie (ROS); a peroxidação lipídica e a redução nos níveis de Glutathione (GSH), comprometendo a desativação radicalar do micro-organismo (SOTIRIOU et al, 2010).

A atividade antibacteriana de nanoesferas de prata (diâmetro de 9 nm), contra bactérias resistentes, esteve relacionada ao comportamento dos íons quimissorvidos de Ag^+ , que se formam com extrema sensibilidade ao oxigênio. As interações dessas nanoestruturas, após imobilização em nanopartículas de sílica contra a bactéria *Streptococcus coli*, mostrou a dependência de sua ação bactericida com as dimensões das nanopartículas envolvidas, bem como com suas variações morfológicas. Como exemplo, contra a bactéria *E. Coli*, temos nanoplaquetas de prata, apresentando maiores atividades em comparação a outras nanoestruturas desse metal (nanoesféricas e nanohastes) (SOTIRIOU et al, 2010; SURESH et al, 2013).

As partículas de prata com dimensões de 1 a 20 nm apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus coli*, *Nitrosomonas europaea*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas putida*, degradando a parede celular dos microrganismos por provável ação de espécies reativas de oxigênio (SURESH et al, 2013).

Um estudo sobre a toxicidade de várias nanoestruturas de óxidos metálicos (Al_2O_3 , SiO_2 , TiO_2 e ZnO), em diferentes tipos de bactérias (*E. coli*, *B. subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*), mostraram a dependência dos seus diferentes níveis de toxicidade com a geração de ROS. Pode-se citar, como exemplo, as suspensões aquosas de nanopartículas de ZnO , que produziram altos níveis de ROS, ou seja, de radicais hidroxila, resultando em um estresse oxidativo, com maior dano celular do que quando comparados com a ação de partículas de natureza microescalar, as quais não apresentaram relevantes ações toxicológicas. Outras observações foram feitas em relação à dependência do potencial toxicológico com as dimensões de partículas de óxido de zinco, frente às bactérias *S. aureus* (SURESH et al 2013, O' BRIEN et al, 1998).

A função de nanopartículas CuO , como material antimicrobiano, têm sido estudada em bactéria como *E. coli*, *B. subtilis*, *Salmonella typhi*, *S. aureus* e *P. putida*, onde seu provável mecanismo de ação esteja relacionado com espécies reativas de oxigênio (SURESH et al, 2013).

O CeO_2 possui atividade antimicrobiana contra a bactéria *E. coli*, *B. subtilis*, *Shewanella oneidensis* e *Pseudokirchneriella subcapitata*, degradando a parede celular dos microrganismos por provável ação de espécies reativas de oxigênio. Em relação à estética, ele é usado em cerâmicas odontológicas para simular a fluorescência observada no esmalte dentário humano (O' BRIEN et al, 1998).

A análise desses casos surge como um desafio na rotina de muitos pesquisadores, que precisam escolher, de forma adequada, o tipo correto de material nanoestruturado (orgânico ou inorgânico) a ser empregado em sistemas biotecnológicos e biomédicos (BLUMEN et al, 2007; ZHU et al, 2007).

A bactéria *S. mutans* é a principal causadora de cárie dentária em todo o mundo, sendo considerado o mais cariogênico de todos os estreptococos orais. Vários métodos têm sido utilizados na tentativa de diminuir a colonização deste microrganismo: a aplicação tópica de substâncias sobre a estrutura dental e a aplicação de vacinas e anticorpos contra este microrganismo, justificando um estudo mais específico para o seu entendimento. Bactérias cariogênicas como essas, utilizam-se de cápsulas de polissacarídeos para reagirem contra o esmalte dentário provocando dano a dentina, promovendo a formação de cáries (SANTOS et al, 2013).

A resistência aos antibióticos levou a uma crescente busca de novos agentes que possam inibir o crescimento bacteriano. Os dentes revestidos com nanopartículas de ZnO e CuO mostraram uma redução significativa na formação do biofilme em 85% e 70%, respectivamente, quando comparados com os casos com dentes não revestidos. Os resultados preliminares sugerem que a ação dos dois tipos de nanomateriais ocorre através da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS).

Chang et al (2012), utilizando titânia e prata em revestimentos compostos por TiO_2/Ag e óxido de zinco (ZnO), ambos em implantes à base de Ti, para aumentar a atividade antibacteriana frente à bactéria *S. mutans*, concluíram que os filmes de ZnO apresentaram maior capacidade antibacteriana e menor compatibilidade celular, em comparação com os compostos de TiO_2/Ag .

Estudos realizados, sobre o efeito bactericida e bacteriostática das nanopartículas de prata, óxido de zinco e ouro, em *S. mutans*, mostraram que as nanopartículas de prata, em comparação com as de ouro e de óxido de zinco, necessitaram de uma menor concentração para inibir o desenvolvimento das cepas de *S. mutans*, sendo as mais eficazes no combate a cárie (SIERRA et. al, 2008).

2.2.2 Produção de Espécies reativas de Oxigênio (ROS)

O oxigênio é um agente oxidante poderoso e pode ser letal para algumas bactérias. Durante muitos processos, a formação de peróxido de hidrogênio ocorre através do simples ato de respirar, sendo parte do oxigênio oriundo da respiração empregado para a produção de radicais livres. Evidências comprovam que essa produção conduza à oxidação do DNA, proteínas e lípidos de membranas (SANTOS et al, 2013).

Bactérias afetadas por ROS perdem a integridade de suas membranas, progressivamente, e isso as impossibilita de aderir às superfícies, para manter uma comunicação adequada com outras bactérias, ou para expressar outras funções com eficiência. Muitas teorias para explicar os mecanismos de ação das nanopartículas envolvem a libertação de ROS e inibição da adesão celular (SANTOS et al, 2013; SOTIRIOU et al, 2010).

Nanomateriais artificiais como CdSe, CdTe, CdSe-ZnS, TiO₂, ZnO, Ag, CuO, ZnS, SiO₂, CeO₂, através de processos físicos ou químicos (por exemplo, luz ultravioleta ou catalítica ativação de elétrons) e por meio de superfícies ativas redox, podem reagir com oxigênio molecular para a geração de ROS (por exemplo, radicais superóxido), sendo estas relacionadas a respostas tóxicas de um certo número de sistemas biológicos. Em outras pesquisas, cientistas atribuíram o rompimento da membrana de bactérias à geração de ROS a partir de altas concentrações de nanoestruturas híbridas de prata, utilizando placa de argila como suporte (SURESH et al, 2013).

Finalmente, está bem documentado que as bactérias expostas a nanopartículas apresentam estresse oxidativo relacionado com ROS. O que ainda é um campo aberto de investigação é o mecanismo por trás do processo, e se ROS gerado por nanopartículas podem resultar em mais danos às células não bacterianas (SANTOS et al, 2013). Com base nas informações expostas, sobre os danos causados por estresse oxidativo, relacionado com ROS, em biosistemas, segue, na Figura 4, uma representação esquemática dos possíveis efeitos de partículas menores (3nm) e maiores (10nm) de óxido de cério (IV) em uma bicamada lipídica e no citoplasma bacteriano.

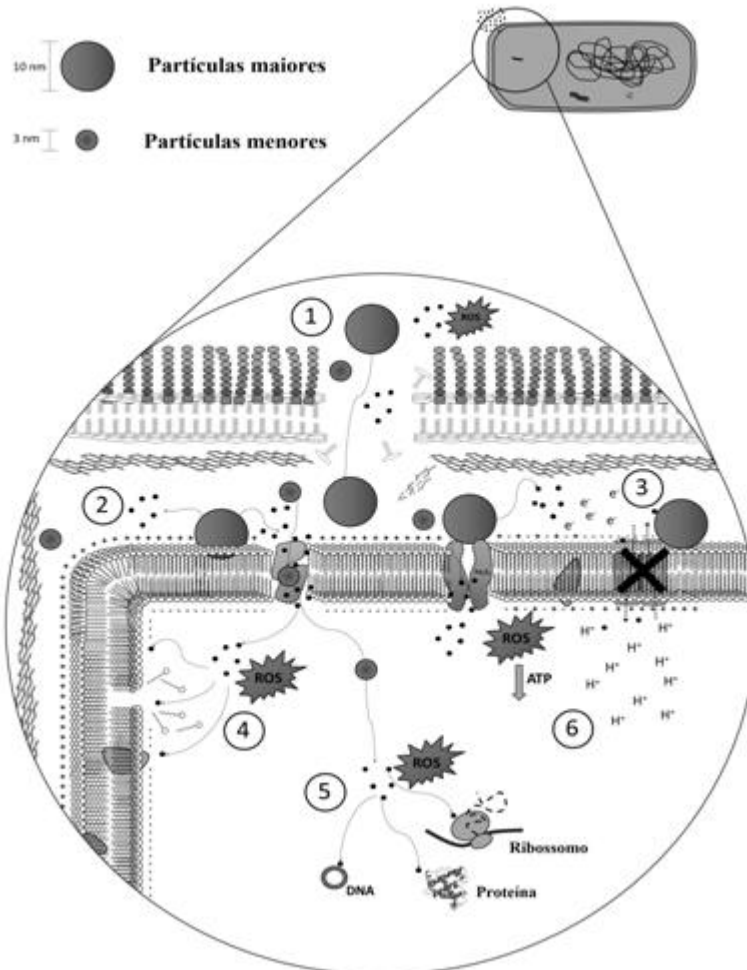


Figura 4 - Representação dos possíveis efeitos de partículas menores (3 nm) e maiores (10 nm) de óxido de cério (IV) em uma bicamada lipídica e no citoplasma bacteriano. **1)** Os danos da parede celular e da camada de peptidoglicano causada pelo contato direto com as nanopartículas; **2)** a liberação de íons tóxicos; **3)** Danos causados por prótons em bombas de efluxo, promovendo sérios problemas na regulação do pH e alteração das taxas de membrana; **4)** Geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem danificar os sistemas biológicos (degradação da parede celular); **5)** ROS degradando DNA, RNA e proteínas, com interferência sobre a síntese proteica; **6)** Baixa produção de trifosfato de Adenosina (ATP), devido à acidificação (mecanismo 3) e à presença de ROS (mecanismos de 4 e 5) (SANTOS et al, 2013).

2.2.3 Respostas toxicológicas de nanoestruturas

Em geral os lantanídeos, incluindo o cério, possuem baixa toxicidade quando presentes em materiais com baixa solubilidade aquosa. Quando oralmente administrados, tem-se pequena absorção no trato gastro-intestinal, fazendo dos lantanídeos, e do cério, benignos tóxicos (MOGENSEN et al, 2000).

A solubilidade é um aspecto crítico na bioavaliação oral dos materiais e a natureza dos ânions é muitas vezes importante na determinação de materiais tóxicos (MOGENSEN et al, 2000).

A correlação entre a toxicidade das nanopartículas e o potencial de absorção de seus íons representa um dos fatores fundamentais de sua ação antimicrobiana. Por exemplo, quando a toxicidade comparativa de várias formas de óxidos metálicos nanocristalinos, como ZnO, CuO e TiO₂ foi apreciada em bactérias como a *Vibrio fischeri*, nanopartículas de TiO₂ foram atóxicas, mesmo em concentrações elevadas (20 g.L⁻¹), ao passo que ZnO e nanopartículas de CuO foram consideradas tóxicas, com valores de CL50 de 1,9 a 79 mg.L⁻¹, respectivamente (CL 50-concentração letal de uma substância química que promove a morte da metade (50%) de um grupo de organismos expostos, em um tempo definido) (RAGHUPATHI et al, 2011).

O ouro é um material muito comum em estudos biomédicos e suas propriedades inertes tornam-se ideais como alternativa de mecanismo de transporte. Estudos mostraram que sua toxicidade é sensivelmente dependente das dimensões das nanopartículas administradas (SYED et al, 2013). Após 24 horas da administração de nanopartículas de ouro com 10 nm de dimensão, na corrente sanguínea de ratos, a presença desses metais foi evidenciada na corrente sanguínea, em regiões do fígado (maior concentração), baço, rins, pulmões, cérebro, órgãos reprodutivos e coração. Com a utilização de partículas maiores (50, 100, 250 nm), observou-se uma menor distribuição, encontrando-as, exclusivamente, no fígado, baço, e sangue. O mesmo comportamento foi observado, quanto ao acúmulo de nanopartículas no fígado e no baço, para nanotubos de carbono (de 10 a 20 nm), nanoestruturas de óxido de ferro (da ordem de 11 nm) e para estruturas de CdSe e ZnS com dimensões da ordem de 13 nm (SYED et al, 2013).

Gaiser et al (2012) mostraram, em seus estudos, a influência do tamanho de partícula do óxido de cério (IV) na ação toxicológica, frente aos resultados de mortalidade para a espécie *Daphnia magna* (espécie de crustáceo representante da família Daphniidae) e

compararam sua ação toxicológica com as de nanopartículas de prata. Crustáceos *D. magna* foram expostos a nanopartículas de prata (concentração de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$) e os resultados de CL50 foram observados após período de 48 horas (mortalidade de 50% de *D. magna* após 48 h). Isto pode ser atribuído a fatores como as dimensões nanométricas das partículas de prata, confirmando a alta toxicidade dessas nanoestruturas na espécie de invertebrados aquáticos.

Em outro experimento, a bactéria da espécie *D. magna* foi exposta a diferentes concentrações de óxido de cério (IV), com dimensões da ordem de 14, 20 e 29 nm, constatando-se que, para as partículas menores (14 e 20nm), após o tempo de 48 horas, o CL50 foi observado a uma concentração de 40 mg.L^{-1} , e para partículas maiores (29 nm) essa mortalidade foi observada a uma concentração de 71 mg.L^{-1} , após igual período de tempo. Por ter utilizado diferentes concentrações do óxido de cério (IV), em relação ao primeiro experimento envolvendo prata, estes resultados não são diretamente comparáveis, mas apontam para uma maior toxicidade da prata em comparação às nanopartículas de CeO_2 (GAISER et al, 2012).

Organizações de saúde e ambientais estão concentrando esforços em estudos toxicológicos e avaliações dos riscos de novos produtos contendo nanomateriais de óxido de cério (IV) (suscetíveis a entrar no mercado em um curto prazo) e pesquisas recentes investigaram a distribuição e persistência da utilização de nanoestruturas de óxido de cério (IV) como modelo de ação sanguíneo. Vários estudos relataram o óxido de cério (IV) com propriedades neuro e cardio-protetoras, o que sugere que, de acordo com o bioreceptor a ser utilizado, tem utilidade terapêutica em distúrbios médicos causados por espécies reativas de oxigênio. Por outro lado, há relatos de toxicidade induzida pelo óxido de cério (IV) associada ao aumento do estresse oxidativo (PARK et al, 2010).

Estudos sobre a farmacocinética do cério em nanoescala constataram que nanopartículas de CeO_2 com cerca de 30 nm apresentaram um tempo de meia vida (tempo necessário para a concentração plasmática ou a quantidade original de um fármaco no organismo se reduza à metade), da ordem de 0,125 h, sendo esse resultado de vital importância para a compreensão da farmacocinética desses materiais em relação às suas potenciais aplicações terapêuticas e/ou toxicidade (YOKEL et al, 2009).

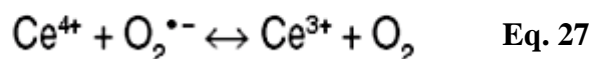
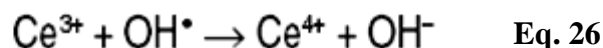
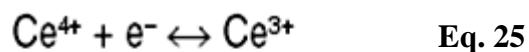
Pouco se sabe sobre a influência do tamanho e da distribuição do metal e de seus óxidos metálico na depuração do sangue. Estudos realizados, sobre a influência do tamanho da partícula de óxido de cério (IV) na depuração sanguínea e outros aspectos fisiológicos, mostraram que (DAN et al,2012):

- Para infusões de nanopartículas de óxido de cério (IV) de 30 nm, com concentrações de 50 ou 250 mg.kg⁻¹ em um período de uma hora, a concentração de cério no sangue de ratos foi de 0,56 e 1,3 mg.L⁻¹, respectivamente, enquanto que após a infusão de partículas com dimensões menores (5 nm), na concentração de 100 mg.kg⁻¹, utilizando o mesmo tempo de infusão (1 hora), constatou-se uma aumento da concentração de óxido de cério (IV) no sangue da ordem de 370 mg.L⁻¹, sugerindo que a taxa de depuração do CeO₂ na corrente sanguínea foi dependente do tamanho das partículas.

- A administração oral de cério e seus compostos têm efeito praticamente nulo. Isto se deve ao fato de o cério praticamente não ser absorvido pelo corpo. No entanto, a injeção subcutânea viabiliza essa absorção, depositando-se cerca de 50% do cério no fígado, 25% nos ossos, e levando sua eliminação de 14 a 15 meses. A inalação de óxido ou fluoreto de cério induz a formação de granulomas nos pulmões. O cério, bem como todas as outras terras raras, diminui a pressão sanguínea e atua como agente anticoagulante. As terras raras têm diminuta toxicidade aguda.

- Os efeito de nanopartículas de CeO₂ em células humanas e o efeito tóxico sobre células epiteliais brônquicas (BEAS-2B) foram relacionados à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Equações 25 a 27).

Pelletier et al (2010) demonstraram que nanopartículas de óxido de cério (IV) promoveram, de acordo com tipo de receptor, inibição de espécies reativas de oxigênio (*in vitro* e *in vivo*). A natureza deste efeito protetor vem, provavelmente, das propriedades de oxidação-redução (redox) do óxido de cério (IV) (entre Ce⁴⁺ e Ce³⁺) e sua estrutura inorgânica CeO_{2-x}, com estequiometria incompleta, permite defeitos através de vacâncias de oxigênio (MOGENSEN et al, 2000), sendo viável a sua utilização como nanomaterial de aplicação biomédica, possuindo, como uma relevante característica, atividade antioxidante (em pH fisiológico) (KARAKOTI et al, 2008; PARK et al, 2008).



Tem sido sugerido a utilização do óxido de cério (IV), na prevenção e/ou tratamento do câncer, cardiomiopatia diabética, radicais livres induzidos pelo fumo, efeitos colaterais da radioterapia, degeneração da retina, acidente vascular cerebral e doenças neurodegenerativas (KARAKOTI et al, 2008).

Um maior número de pesquisas, quanto ao crescimento e biocompatibilidade desses nanocompósitos, é necessário, pois a escolha, utilização e avaliação da toxicidade de qualquer material nanoestruturado, para aplicações biomédicas, não representa uma simples tarefas, especialmente para aplicações em neurociência, que compreende processos biológicos envolvidos nas funções mais vitais do sistema nervoso central, incluindo o cérebro e a medula espinhal (KARAKOTI et al, 2008).

Nanopartículas de óxido de cério (IV) foram avaliadas quanto a prevenção da perda da visão, devido à degeneração de células fotorreceptoras, causada principalmente pela produção de espécies reativas intermediárias, induzidas pela luz, as nanoestruturas de óxido de cério (IV), em investigações *in vivo*, têm sido amplamente pesquisadas para essa aplicação(KARAKOTI et al, 2008; KIM et al, 2012; PARK et al, 2008).

A reversibilidade e as propriedades auto-regenerativas de nanoestruturas de óxido de cério (IV) sugerem que este material pode ser fornecido em uma dose única e pode apresentar uma vida de prateleira, aparentemente, pseudo-infinita. Outro estudo demonstrou recentemente o efeito neuroprotetor de nanopartículas de óxido de cério (IV), em dose única, na reparação da medula espinhal e em outras doenças relacionadas com o sistema nervoso central (SNC), podendo aumentar a sobrevivência dos neurônios na medula espinhal e reduzindo o dano oxidativo relacionado ao estresse (KARAKOTI et al, 2008; KIM et al, 2012).

2.3 SURFACTANTES

Os surfactantes, também chamados *templates* ou direcionadores, são compostos anfifílicos que apresentam comportamento tanto hidrofílico, quanto lipofílico, adsorvendo em superfícies ou interfaces de um sistema e podendo promover a alteração da energia livre ou interfacial das mesmas (HUCZKO, 2000). Maniasso (2001) cita que o termo “interface” significa o limite entre as duas fases imiscíveis, enquanto o termo superfície indicaria uma interface onde uma fase é líquida e a outra é gasosa, geralmente ar.

Surfactantes possuem estrutura molecular constituída de duas regiões bem definidas. Uma das regiões, também chamada de cabeça, apresenta grupos funcionais de pequeno tamanho, demonstrando um forte caráter polar, enquanto a outra, não polar ou apolar, constitui o grupo hidrofóbico, formado de cadeias parafínicas alongadas do tipo $(CH_2)_n$, com forte caráter apolar (LI et al, 2012; MANIASSO, 2001; TAN et al, 2011).

O papel particular dos surfactantes, incluindo suas estruturas eletrônicas e atômicas em superfícies do tipo CeO_2 e muitos aspectos fundamentais do crescimento, ainda não é completamente compreendido (TAN et al, 2011).

Vários polímeros, com ação surfactante, são empregados na preparação de nanopartículas e podem ser de origem natural ou sintética, sendo os naturais derivados de compostos como albumina, colágeno, ácido hialurônico, gelatina, quitosana e alginato. Os polímeros sintéticos são Poli(metacrilato de hidroxietila)(PHEMA), Acetato de Polivinila (PVA), poli (ácido âmico) (PAA), polietilenoglicol (PEG) (MANIASSO, 2001; TAN et al, 2011; YANG et al, 2006).

Nos processos úmidos, através de ligações covalentes, os surfactantes formam diferentes tipos de conjugados com nanopartículas, entre eles, os dendrímeros e as micelas.

Dendrímeros são macromoléculas de polímeros sintéticos que podem ser de diferentes naturezas (peptídeos, lipídios, polissacarídeos, dentre outros). Um dendrímero é formado por uma típica molécula central, deixando vários "ramos", que por sua vez, produzem uma imagem tridimensional em camadas concêntricas de arquitetura globular bem definida (Figura 5(a)). Cada passo da síntese dos dendrímeros é bem controlado, conduzindo a uma estrutura organizada de tamanho particular, que apresenta um determinado número de grupos funcionais, sendo que a presença destes grupos (amino, carboxilo, hidroxilo, dentre outros), sobre a superfície dos dendrímeros, estabelece muitas de suas aplicações (YANG et al, 2006).

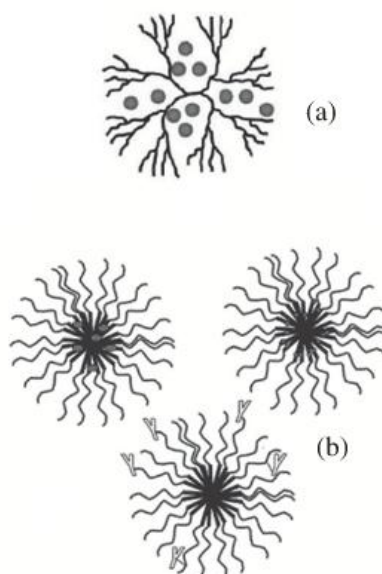


Figura 5 -Sistemas nanoestruturados, a) dendrímeros e b) micelas (Adaptado de VILLANOVA et al, 2010).

As micelas são partículas coloidais esféricas ou oblongas de compostos anfifílicos formados espontaneamente em solução (Figura 5(b)). Micelas poliméricas são partículas coloidais com um núcleo hidrofóbico, um exterior hidrofílico e uma superfície funcionalizada, que promove respostas a estímulos do ambiente (VILLANOVA et al, 2010).

A formação da estrutura do cristal consiste basicamente do processo de precipitação e da nucleação, seguido por fases de crescimento das partículas, onde a tensão superficial (γ) e proporções de saturação (S) são influenciadas diretamente por fatores, como pH do solvente e concentração do surfactante, interferindo na nucleação e no crescimento do cristal, por meio de fenômenos, como a supersaturação (MASUI et al, 1997).

Polímeros e copolímeros empregados na preparação de micelas são obtidos a partir do polietilenoglicol (PEG), brometo de cetiltrimetilamônio (CTMABr), dietileno glicol (DEG), poli (histidina), poli (ácido aspártico), poli (isopropil acrilamida), poli (2-etil-2-oxazolona), poli (metacrilato de 2-dimetilaminoetila), dentre outros (MASUI et al, 1997; VILLANOVA et al, 2010).

Feldmann (2003), sintetizou óxido de cério em dietileno glicol (DEG), a partir de cloreto de cério heptahidratado, com a utilização de NaOH, promovendo maior oxidação de Ce^{3+} a Ce^{4+} .

Vantomme et al (2005) apresentaram o método hidrotermal como uma boa alternativa para produção em larga escala de partículas cristalinas de óxido de cério, utilizando brometo de cetiltrimetilamônio (CTMABr) como surfactante catiônico, para orientar o crescimento e agregação das nanoestruturas cristalinas.

Sun et al (2005) utilizaram alguns *templates*, como octadecan-1-amina ($C_{18}H_{39}N$), bis-(2-etilhexil)-sulfosuccinato de sódio (NaAOT), dodecilbenzeno-sulfonato de sódio (SDS, $C_{18}H_{29}NaO_3S$) e brometo de cetiltrimetilamônio (CTABr) na síntese de nanopartículas de óxido de cério (IV), e observaram seus diferentes efeitos na morfologia:

a) A presença de octadecilamina ($C_{18}H_{39}N$) mostrou-se fundamental na formação de nanobastões de CeO_2 ;

b) A utilização de dodecilbenzeno-sulfonato de sódio bis, (2-etil-hexil) sulfossuccinato (NaAOT) ou dodecilbenzeno-sulfonato de sódio (SDS, $C_{18}H_{29}NaO_3S$) mostrou um baixo rendimento na síntese dessas estruturas;

c) A síntese, envolvendo o brometo de cetiltrimetilamônio (CTMABr), não foi eficiente para a formação das nanopartículas de óxido de cério (IV) com tal morfologia.

Nanopartículas de óxido de cério (III), com arranjo hexagonal bem definido, monodispersas e cristalinas, foram sintetizadas através de copolímero dibloco PS-b-PEO, adquirido de fonte polimérica sem purificação, em superfícies de substrato de silício com a utilização deste *template/* direcionador. A estabilidade do sesquióxido e suas condições de calcinação foram exploradas e, surpreendentemente, sua estrutura pareceu ser relativamente estável em condições ambiente, com pouca evidência de oxidação (até aquecimento a temperaturas acima da temperatura ambiente) (GHOSHAL et al, 2012).

Partículas esféricas bem dispersas, uniformes e cristalinas de CeO_2 foram preparadas a partir de sal precursor de cério (III), em solução de acetato de etila e propilenoglicol, através de tratamento térmico, realizado em duas etapas: a primeira, em que uma mistura complexa de óxido de cério, hidrato de óxido de cério, hidróxido de cério e cério glicolato foi obtida a $187^\circ C$ (ponto de ebulição do poliol) por várias horas, e a segunda, para obtenção do óxido de cério (IV) puro, realizada a $500^\circ C$, por uma hora (ANDREESCU et al, 2006).

Apesar de sabermos que o mecanismo detalhado da ação dos surfactantes ainda não seja completamente conhecido, é possível que suas diferentes estruturas promovam variados efeitos sobre a cinética de crescimento de nanoestruturas de CeO_2 .

2.3.1 Polietilenoglicol (PEG) como surfactante

Óxido de cério pode ser obtido com a utilização de vários polióis, sendo o polietilenoglicol (PEG) utilizado como direcionador em diferentes rotas de sínteses de nanoestruturas de óxidos metálicos, devido ao seu baixo custo, sua simplicidade quanto a procedimentos de utilização e por permitir reações em temperaturas amenas ($\leq 200^{\circ}\text{C}$). Sua concentração micelar crítica (cmc) é alcançada quando misturamos 0,36 mL de PEG em 100 mL de água destilada, resultando em uma solução de $1,25 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ do polímero (cmc de PEG) (NEMA et al, 2010; ZHANG et al, 2007).

Nanobastonetes policristalinos de CeO_2 foram sintetizados, por meio de ultrassom, utilizando polietilenoglicol (PEG), como agente direcionador de estrutura, à temperatura ambiente (ZHANG et al, 2007).

Uekawa et al (2002) produziram, por aquecimento do nitrato de cério hidratado em polietilenoglicol (PEG), partículas de óxido de cério, descobrindo que polímeros de maior peso molecular favoreciam a formação dessas partículas, sendo que sua precipitação envolvia a hidrólise de aquo-complexos de íons de cério $\text{Ce}(\text{H}_2\text{O})_n^{3+}$ como fase intermediária da reação.

2.3.1.1 Adsorção e forças atrativas de Van der Waals na mistura CeO_2 -PEG

Na busca da compreensão dos efeitos do surfactante não-iônico e a influência de sua concentração micelar crítica na redução da viscosidade das diferentes misturas de PEG/ CeO_2 utilizadas (% volume), Yin et al (2005), através de seus resultados de DRX e DSC, demonstraram a ocorrência de uma forte adsorção da cadeia polimérica do PEG às partículas de CeO_2 , levando à formação de uma série de ligações físicas, especialmente nas misturas com menores concentrações do direcionador .

De acordo com literatura, acredita-se que a reação envolvendo as nanopartículas e o polímero PEG promova a formação de micelas poliméricas, agindo como nanoreservatórios, em que as interações hidrofóbicas ou as ligações de hidrogênio fornecem a base para sua solubilidade e estabilidade nos compostos formados (LAVASANIFAR et al, 2006). Uma maior concentração do surfactante na solução pode provocar uma menor área de contato entre partículas, surfactante e a água e, conseqüentemente, produzir maior número de aglomerações nas estruturas (MANIASSO, 2001).

A literatura ainda reporta que, ao se elevar a concentração do óxido de cério (IV) a valores iguais ou superiores à encontrada para o PEG na solução resultante, a fase deste polímero reveste facilmente as partículas de CeO_2 e este fenômeno pode ser atribuído a existência de forças atrativas interparticulares de Van der Waals, mostrando que o PEG envolve facilmente a superfície das partículas do óxido, permitindo misturas em várias concentrações dos dois integrantes e apresentando o PEG como uma boa alternativa de direcionador para a síntese de nanopartículas (Figura 6) (MANIASSO, 2001; ZHANG et al, 2007).

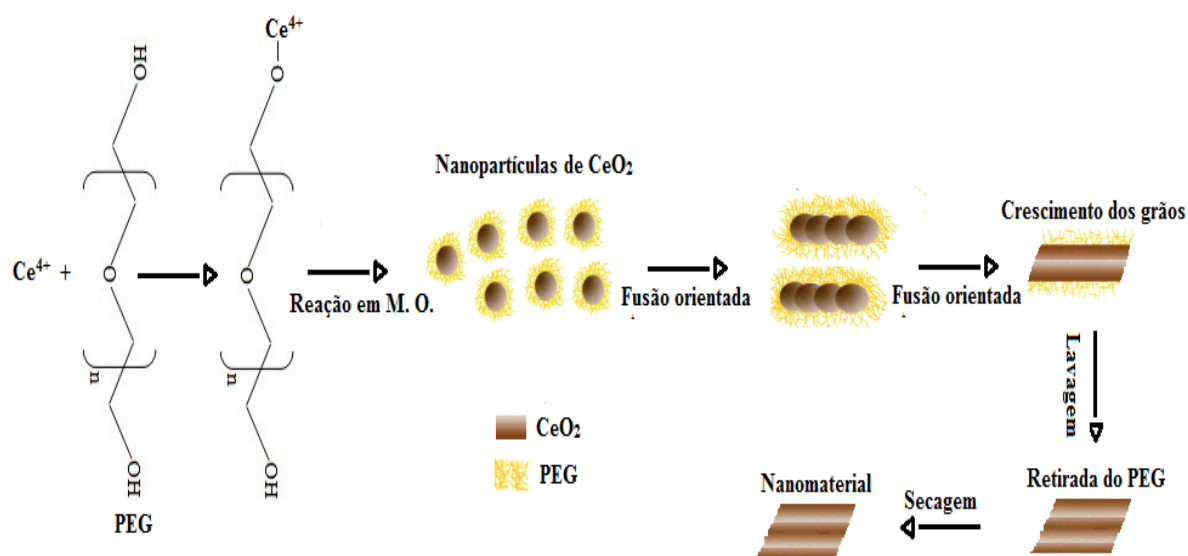


Figura 6 - Ilustração esquemática da síntese de nanoestruturas de óxido de cério (IV) utilizando polietilenoglicol (PEG) com agente direcionador.

2.4 CRISTALIZAÇÃO

Os processos que ocorrem durante as fases iniciais da formação de sólidos cristalinos são ainda pouco compreendidos. A investigação dos processos de formação das mais diferentes estruturas é um enorme desafio para muitos métodos analíticos e teóricos. Por isso, partículas muito pequenas ou agregados, com composição química e tamanhos diferentes, devem ser mais estudados antes, durante e após a nucleação (BYRAPPA, 1991; KOLB et al, 1976).

Sólidos cristalinos representam uma das mais importantes classes de compostos para o desenvolvimento de materiais. Entretanto, a compreensão da preparação de alguns desses materiais ainda é um desafio. Eles podem ser caracterizados através da determinação de sua estrutura e de sua composição química, a partir de propriedades químicas e físicas existentes. Tais propriedades são "geradas" durante o desenvolvimento da estrutura cristalina. A relação direta dessas propriedades de um sólido desempenha um papel fundamental para o desenvolvimento de novos materiais com propriedades interessantes (BYRAPPA, 1991).

Ezersky et al (1993) estudaram as condições hidrotermais usando como ferramenta uma técnica de radiografia. Esta compreensão promove um maior desenvolvimento experimental e teórico.

Experimentos envolvendo crescimento de cristal em processos hidrotermais são realizados nas condições de gradiente de temperatura em autoclaves padrão e por ação de micro-ondas. O crescimento de um único cristal pode ser realizado de duas maneiras:

- Recristalização da substância sólida, incluindo a sua dissolução na fase líquida por convecção, transferência de parte da substância dissolvida à zona de crescimento ou de sementes;
- Dissolução da mistura dos componentes com a ajuda do transporte de massa por convecção em direção à zona de crescimento e interação dos componentes dissolvidos da superfície das sementes.

Para modelar o crescimento do cristal, a partir de uma única semente, é necessário estabelecer condições de crescimento para o processo representado pela soma de macro e micro-processos, que ocorrem entre o limite de interface da solução e do cristal. Composição da concentração, temperatura da solução, pressão, além de condições hidrotérmicas e de superfície de contato das fases são alguns dos parâmetros físicos e químicos que determinam o regime e a taxa de dissolução em massa, possibilitando a formação de novas estruturas (KOLB et al, 1976). A seguir, representação esquemática do crescimento de nanopartículas de CuO (Figura 7).

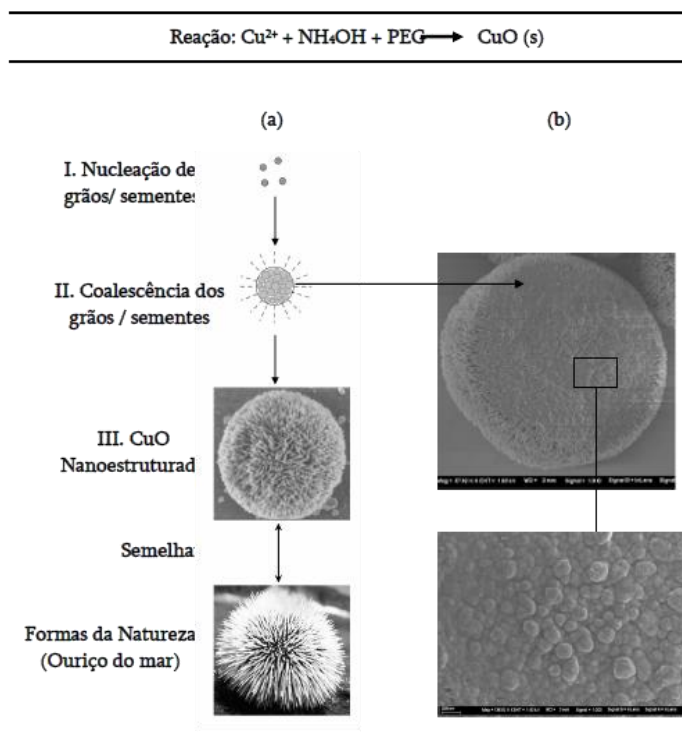


Figura 7 - Representação esquemática da síntese e mecanismo de crescimento de partículas de CuO com PEG (KEYSON et al,2008).

2.5 METODOLOGIAS PARA OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

As nanopartículas podem ser obtidas por diferentes métodos de síntese, utilizando-se reações que se classificam de acordo com o estado físico dos materiais precursores utilizados. As reações em estado sólido (método cerâmico ou mistura de óxidos) e as reações que envolvem métodos químicos por via úmida (sol-gel, co-precipitação, método dos precursores poliméricos, hidrotermal) são alguns dos métodos utilizados para obter nanopartículas.

2.5.1 Reações no estado sólido

Dentre os métodos comuns para o preparo de nanopartículas, que envolvem a reação no estado sólido, destaca-se o método de síntese mecânica (mistura mecânica de óxidos metálicos).

2.5.1.1 Síntese Mecânica

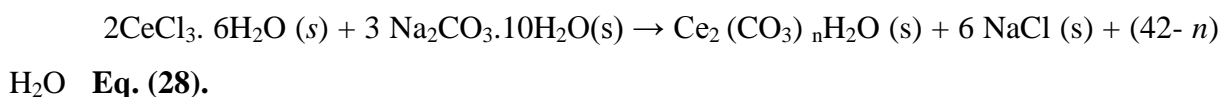
A Síntese Mecânica (SM) é uma técnica de processamento de pó que permite sintetizar uma grande variedade de materiais cristalinos, amorfos e soluções sólidas, com estruturas nanométricas estáveis ou metaestáveis. Esta técnica surgiu no final dos anos 60,

destinando-se à produção de superligas de níquel. É um método de grande interesse, pois permite a redução da granulometria das fases envolvidas no material, favorecendo uma considerável interação química, reduzindo problemas relacionados à estequiometria do material, em condições amenas de temperatura. A desvantagem, desse método, é a contaminação que ocorre devido, principalmente, ao atrito do pó com as esferas e paredes do moinho (CARBAJAL-RAMOS et al, 2013).

O processo é realizado quando uma mistura sólida é submetida a um tratamento físico de moagem que envolve colisões aleatórias de partículas em alta energia. Para isso, diversos tipos de moinhos são empregados, sendo o moinho de esfera o mais comum.

Nanoestruturas de $Ce_{1-x}Zr_xO_2$ ($x \leq 0.2$) foram obtidas a partir das misturas da $CeCl_3$ e $ZrCl_4$ em NaOH, por tratamento de síntese mecânica, em diferentes tempos de moagem (5 e 15 horas), sendo obtidas nanopartículas com uma composição final de $Ce_{0.8}Zr_{0.2}O_2$. A solução sólida sintetizada apresentou boa estabilidade térmica, elevada área superficial e grãos de dimensões nanométricos, após lavagem, para a eliminação do NaCl produzido na reação, e secagem a 600 °C (CARBAJAL-RAMOS et al 2013; LI et al, 2005).

Uma outra proposta, para a produção de nanopartículas de óxido de cério (IV), por método mecano-químico, é apresentada através da Equação 28 e do fluxograma apresentado na Figura 8 (TSUZUKI et al, 2004).



Uma síntese, em condições amenas, foi induzida a partir do processo de moagem e uma subsequente calcinação dos pós precursores que, juntamente com o subproduto NaCl, levou à formação de nanopartículas de óxido de cério (IV). A presença do subproduto de NaCl em pó diminuiu, significativamente, a agregação das partículas de CeO_2 . Análises microscópicas de transmissão eletrônica mostraram tamanhos de cristalitos, para o óxido de cério (IV), da ordem de 40-70 nm (LI et al, 2005).

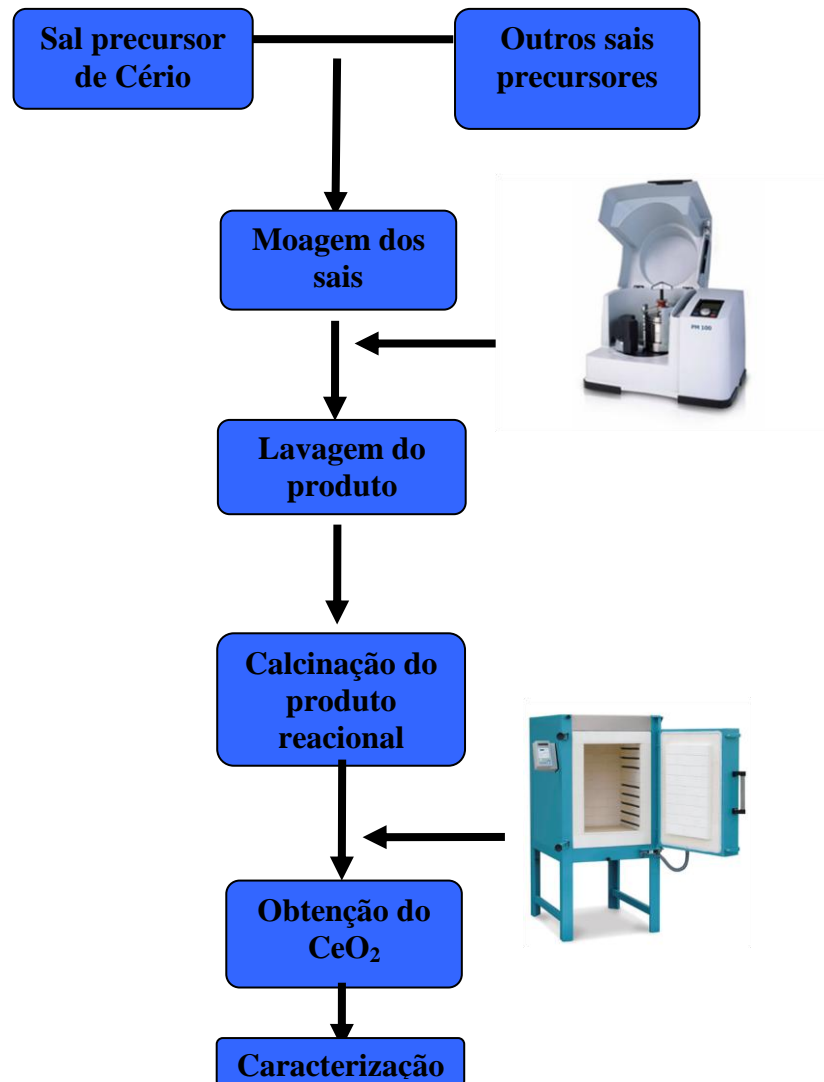


Figura 8 - Processo de obtenção de nanopartículas de CeO_2 a partir do método de síntese mecânica.

2.5.2 Reações por via úmida

Métodos por via úmida são mais utilizados que o método de reação no estado sólido por apresentarem melhores propriedades como maior homogeneidade entre os reagentes, alta pureza dos produtos e baixa temperatura de processamento (KWON et. al, 1998).

No intuito de melhorar as características das nanopartículas, métodos químicos como sol-gel (KAKIHANA et al, 1967), co-precipitação (BĚLINA et al, 2007), precursores poliméricos (PECHINI, 1967) e hidrotermal de micro-ondas (GODINHO et al, 2008), têm sido investigados nos últimos anos, por permitirem sínteses com controle mais preciso de estequiometria (especialmente na obtenção de óxidos simples) e controle do tamanho das

partículas e da sua morfologia, embora, haja certa dificuldade de controle de fase e estequiometria quando da obtenção de óxidos mistos.

O processo sol-gel tem sido utilizado, nas últimas duas décadas, para preparação de cerâmicas, vidros e filmes finos. A literatura descreve a existência de três tipos de processamento sol-gel (KAKIHANA et al 1967):

- A) Sol-gel coloidal ;
- B) Gel polimérico inorgânico de compostos organometálicos;
- C) Rotas de gel, envolvendo a formação de polímeros orgânicos “in situ”.

Dentre os tipos de processamento sol-gel, o terceiro método destaca-se por envolver a formação de uma rede polimérica orgânica, baseando-se na preparação de uma solução viscosa que contem os íons metálicos, polímeros e um solvente apropriado, os quais serão convertidos em um gel termoplástico com o aumento da concentração dessa solução. O princípio básico deste método é reduzir a individualidade dos diferentes íons metálicos, podendo ser alcançado, por meio do envolvimento do complexo dos metais quelados, durante o crescimento da rede polimérica. Este método é conhecido como Pechini e destaca-se, dentre os métodos de síntese por via úmida, por ser simples, versátil, ter um baixo custo efetivo, além de utilizar uma rota de queima com baixas temperaturas (KAKIHANA et al 1996). Todavia, este método demanda várias etapas de processo, altas temperaturas de calcinação e consumo considerável de energia/tempo (Figuras 9 e 10).

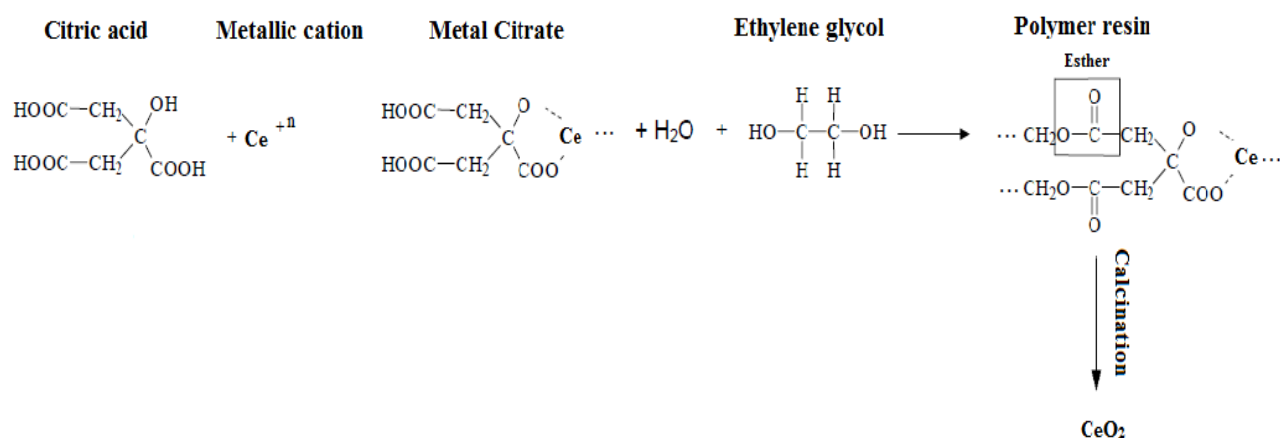


Figura 9 - Proposta de mecanismo para obtenção de compostos de cério pelo método dos precursores poliméricos.

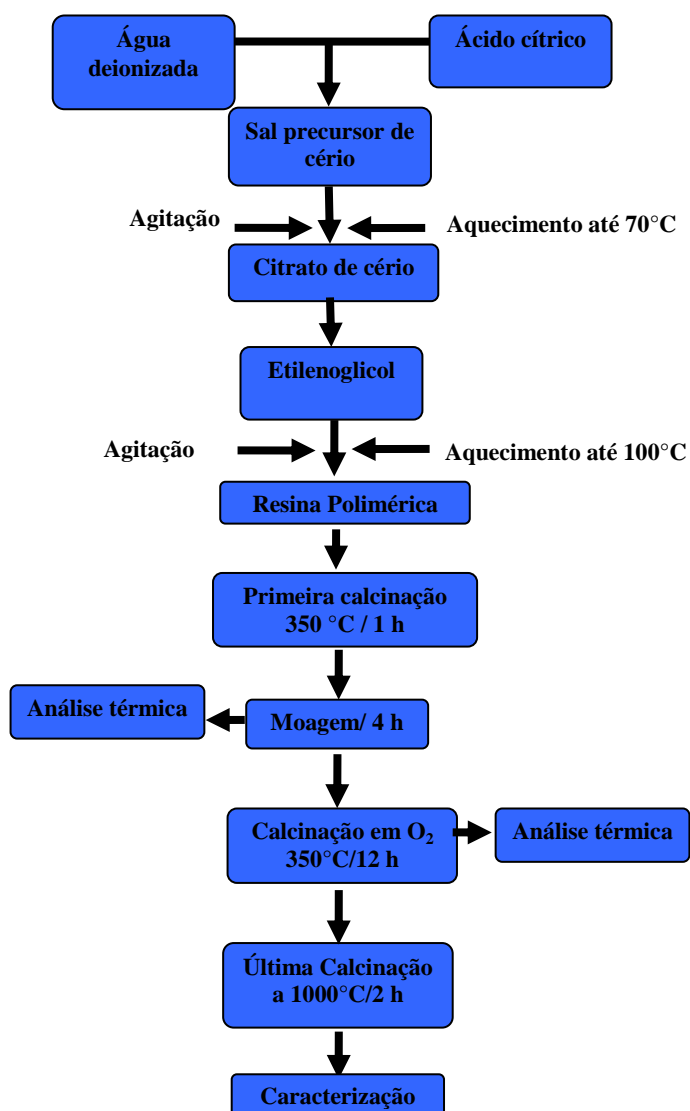


Figura 10 - Processo de obtenção de nanopartículas de CeO₂ a partir do método dos precursores poliméricos.

2.5.2.1 Decomposição ultrassônica

O ultra-som é usado na indústria para limpeza de materiais, solda de plásticos, processos químicos, preparação de emulsão e suspensão, degaseificação de solventes e avaliação não-destrutiva em materiais, isto é, a obtenção de informações sobre defeitos, fraturas, aglomerados, inclusão e anisotropia, e, em hospitais, para análise de imagem (MARTINES et al, 2000).

Também chamada de sonoquímica, a decomposição química é conhecida como um excelente método para a preparação de nanopartículas. Em trabalho recente, partículas amorfas ou materiais nanocristalinos, nanopartículas de cromo, manganês, molibdênio, gálio, dentre outros óxidos de metais de transição, foram sintetizados (LORIMER, 1990).

Métodos químicos, envolvendo emissão de ultra-sônica, possibilitam a produção de uma grande variedade de materiais nanoestruturados. Essas rotas de síntese consistem na utilização de ondas sonoras com comprimentos superiores a 20 KHZ e vem recebendo grande atenção, de grupos de pesquisa, devido às facilidades experimentais do processo (LORIMER, 1990; MARTINES et al, 2000; YIN et al, 2002), tais como:

- Possibilidade de sínteses empregando pequenas quantidades de reagentes;
- Temperaturas inferiores a 200 °C e conseqüente econômica de energia (Química verde)

Estudos reportam teorias que tentam explicar o mecanismo de formação das nanoestruturas a partir do crescimento e colapso de bolhas (Figura 11) que são formadas no líquido, fenômeno conhecido como cavitação acústica, que promovem a quebra de ligações pelas radiações e favorecem, através da formação de bolhas, a orientação de crescimento dos materiais a partir dos planos de menor energia (MARTINES et al, 2000).

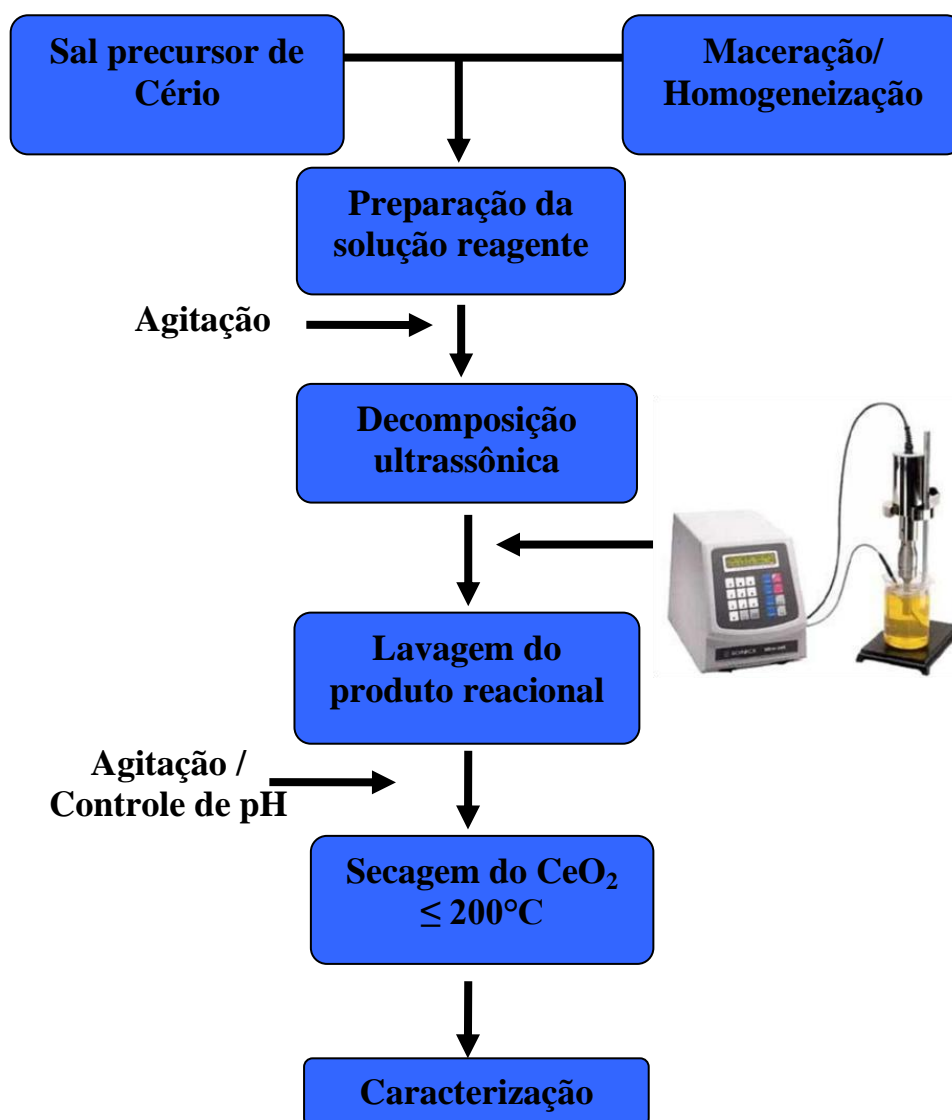


Figura 11 - Processo de obtenção de nanopartículas de CeO_2 a partir do método decomposição ultrassônica (Sonoquímica).

2.5.2.2 Precipitação

O processo de precipitação, Figura 12, utilizado para a produção de diversos tipos de materiais, consiste na formação de um produto sólido insolúvel, a partir de uma solução constituída por precursores, sendo algumas variáveis, como temperatura, pH da solução e concentração dos reagentes, determinantes para o controle dos parâmetros do processo e para a obtenção de pós com partículas finas, elevada área superficial específica e homogeneidade química, contudo, como desvantagens para esse método temos, em alguns casos, a dificuldade de precipitar todos os cátions de interesse ao mesmo tempo e, em algumas situações, por

proporcionar a formação de hidróxidos e acarretar um aumento dos aglomerados de partículas, pode necessitar de uma etapa adicional de calcinação, visando a obtenção de materiais nanoestruturados (CHEN et al, 2005; ZHOU et al, 2002).

Após a etapa de precipitação, o produto intermediário é submetido a uma sequência de lavagens, até a estabilização do valor de pH, devendo ser, posteriormente, filtrado, seco e calcinado (Figura 12). No processo de secagem, devido à ação de forças capilares, podem ocorrer aglomerações do material. Para evitar essa formação, os precipitados devem ser submetidos a tratamentos específicos, tais como, lavagem com líquidos orgânicos, tratamento hidrotermal convencional ou induzido por micro-ondas, dentre outros (CHEN et al, 2005).

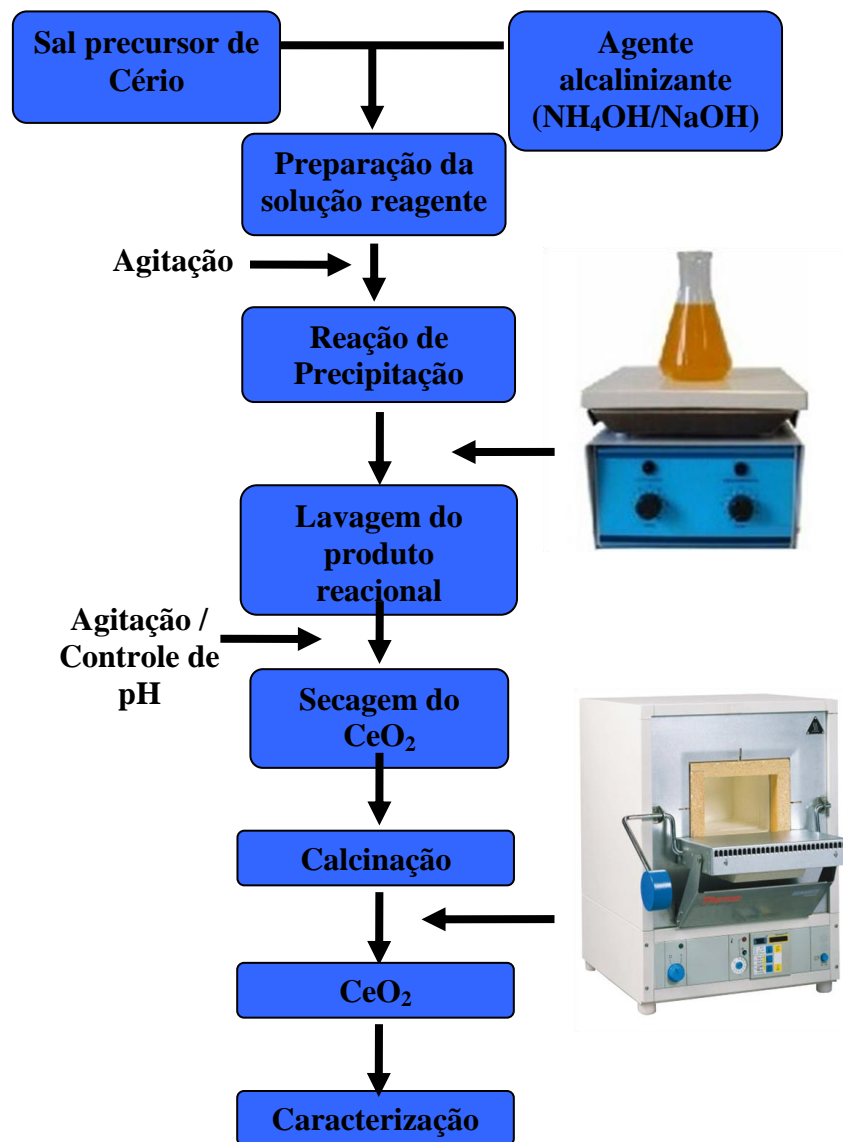


Figura 12 - Processo de obtenção de nanopartículas de CeO_2 pelo método de precipitação.

2.5.2.3 Método Hidrotermal

O método hidrotermal é um processo viável e um dos mais promissores, para eficiente preparação de vários óxidos metálicos cristalinos, homogêneos, com alta pureza e com forma submicrométrica e nanométrica bem definidas, com redução de impurezas e obtidos sob regime ordinário de temperatura ($\leq 300^{\circ}\text{C}$) embora ainda exija, em muitos casos, grandes intervalos de tempo de síntese. Os materiais sintetizados por esse método, exibem uma série de vantagens em relação à outras técnicas, tais como: menor custo, baixa temperatura de síntese, tamanho e morfologia controláveis, que é um papel chave nas propriedades dos nanomateriais (GODINHO et al, 2008; YAMASHITA et al, 1995). Partículas em escala nanométrica, de diferentes tamanhos e formas, têm atraído muita atenção, pois podem ser facilmente produzidas, devido à facilidade do controle de síntese, de processamento, de parâmetros como baixa temperatura. A nucleação homogênea em síntese hidrotermal torna possível alcançar nanopartículas com elevado grau de pureza (BYRAPPA, 1991).

Yamashita et al(1995) utilizaram o referido método para a síntese do CeO_2 , onde utilizou-se 100mL de solução aquosa de $(\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ alcalinizada até valor de pH igual a 10. Esta mistura foi então agitada e, em seguida, processada por várias horas para completa reação hidrotermal.

A despeito da versatilidade do método hidrotermal, uma pequena ressalva pode ser feita ao seu desempenho; o fato da cinética de cristalização possuir baixa velocidade quando as temperaturas de processamento são inferiores a 300°C , condições estas desejadas para processos “*soft chemistry*”. Entretanto, para aumentar-se a cinética de cristalização, pode-se combinar energia de micro-ondas ao processo hidrotermal, gerando-se assim o processo Hidrotermal de Micro-ondas.

2.5.2.4 Hidrotermal de micro-ondas

Dentre os diversos métodos de obtenção de nanopartículas relatados na literatura, o processo hidrotermal de micro-ondas é um método de grande interesse no processamento de materiais tanto orgânicos, quanto inorgânicos. Ele apresenta boa viabilidade econômica e ambiental, uma vez que é realizado em sistema fechado (isolado), utilizando baixas temperaturas de síntese e baixo consumo de energia (YOSHIMURA et al; 2008). Nesta técnica, são empregadas as vantagens do aquecimento por micro-ondas e do método

hidrotermal que podem está associados ao efeito de orientação no crescimento das partículas (KOMARNENI et al, 2003).

Dessa maneira, o processo hidrotermal promovido por micro-ondas (Figuras 13 e 14), pode conduzir à formação de materiais com boa homogeneidade química, rendimento mais elevado, melhor reprodutibilidade e menor custo, embora, como dito anteriormente, haja certa dificuldade de controle de fase e estequiometria quando da obtenção de óxidos mistos. Devido a essas vantagens, nos últimos anos, o número de relatos, onde a técnica de preparação hidrotermal convencional foi substituída por método hidrotermal de micro-ondas, está cada vez maior (YOSHIMURA et al 2008). Os materiais sintetizados por esse método são bem cristalinos e facilmente dispersos em meio aquoso.

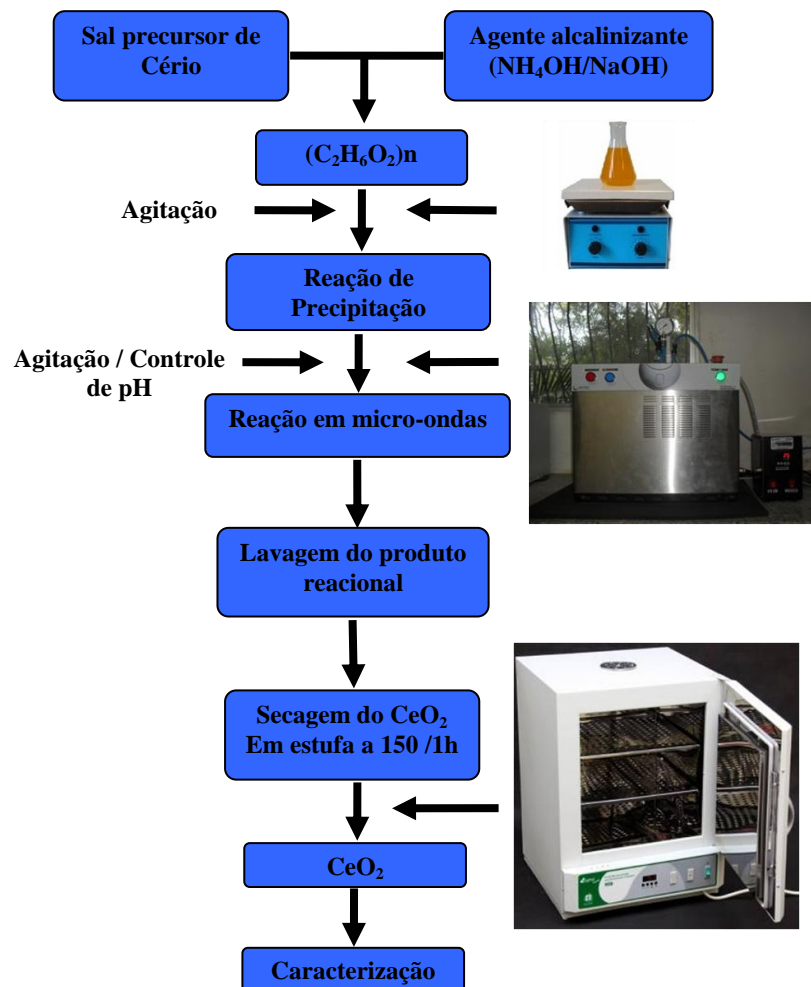


Figura 13 - Representação esquemática do método hidrotermal induzido por micro-ondas.

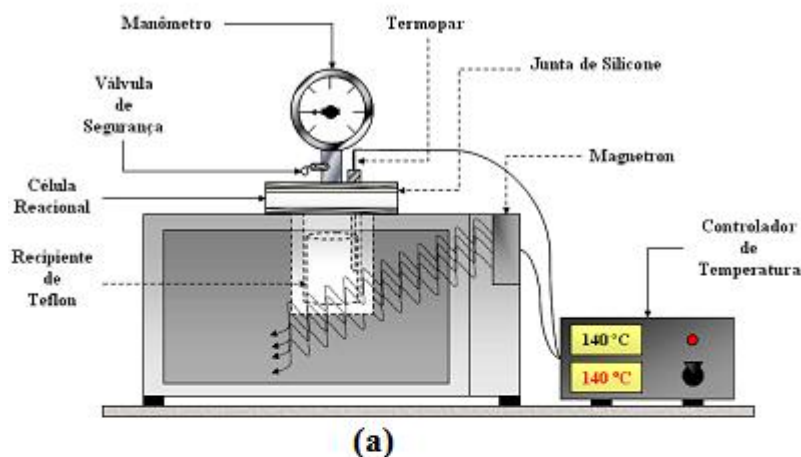


Figura 14 Representação esquemática (a) e Fotos (b) Reator de Micro-ondas industrial(VOLANTE et al,2008).

A introdução da energia das micro-ondas em uma reação química, que tenha ao menos um componente capaz de acoplar fortemente com as micro-ondas, conduz a taxas de aquecimento mais elevadas aumentando, assim, a cinética de cristalização em até duas ordens de magnitude, devido ao super aquecimento na solução, provocado pelas micro-ondas. Além disto, efeitos de orientação, não térmicos, estão associados ao acoplamento do material com as micro-ondas (Figura 15). Dessa maneira, o método pode conduzir à formação de novas fases, homogeneidade química, rendimento mais elevado, melhor reprodutibilidade e menor custo (VOLANTE et al 2008; WANG et al 2011; ZHOU et al, 2008).

O controle da forma e tamanho das nano-estruturas são de grande interesse. Por exemplo, a síntese de nanoestruturas 1D ou 2D e a montagem dessas morfologias em escala nanométrica para formar blocos ordenados superestruturas ou complexos funcionais, oferecem grandes oportunidades para explorar as suas propriedades e conseqüentemente, a fabricação de nano dispositivos. É ainda mais intrigante que o arranjo da sua nanoestrutura é responsável por grande parte desse comportamento interessante. A padronização da superfície, em nanoescala, é de grande interesse para aplicações na optoelectrónica, fotónica, biosensor, e biochip detecção (CHENG et al 2004; VOLANTE et al 2008; WANG et al 2011).

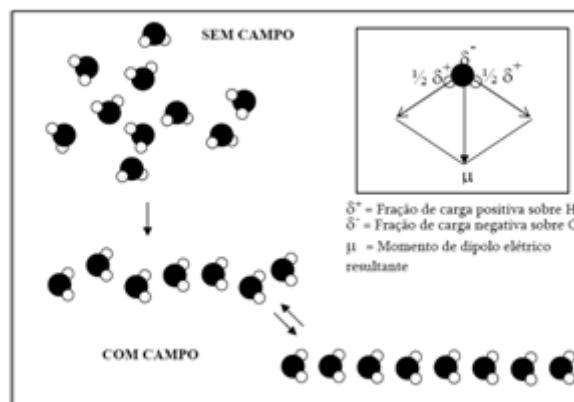


Figura 15 - Ilustração do processo de acoplamento/desacoplamento promovido pelas micro-ondas no mecanismo de aquecimento da água (VOLANTE et al 2008) .

Do ponto de vista clássico, o aquecimento de um material, devido à irradiação por MO, dá-se em virtude da interação da onda eletromagnética do fóton de micro-onda com o dipolo elétrico da molécula. O aquecimento de uma substância pode então ser entendido como uma analogia do que acontece com as moléculas quando estas são submetidas à ação de um campo elétrico. Quando o campo é aplicado, como mostrado na Figura 15, as moléculas que possuem momento de dipolo elétrico tendem a se alinhar com o campo. Quando o campo que provocou a orientação dos dipolos moleculares é removido, ocorrerá uma relaxação dielétrica, isto é, as moléculas tenderão a voltar para o estado anterior (menos alinhado), dissipando a energia absorvida na forma de calor. A princípio, quanto maior for o dipolo elétrico, mais intenso deve ser a orientação molecular sob a ação do campo elétrico. Se um material possui maior valor de constante dielétrica (Σ), então maior quantidade de energia pode, a princípio, ser armazenada (CHENG et al 2004; SREEJA et al 2007; VOLANTE et al 2008).

O uso das micro-ondas permite transferir a energia diretamente para dentro do material onde é convertida em calor através da interação dos átomos e moléculas com o campo eletromagnético.

Assim, o aumento na cinética de cristalização, em até duas ordens de magnitude, é conseguido devido ao superaquecimento localizado na solução promovido pelas micro-ondas, reduzindo assim, o tempo de processamento (CHENG et al 2004; SREEJA et al 2007; VOLANTE et al 2008).

A partir da Figura 16, observa-se um esquema mais ilustrativo sobre o método com interferência das micro-ondas, onde é observado a obtenção de partículas de SrWO_4 (SCZANCOSKI et al, 2009), relacionando o modo de aquecimento e a influência do tempo na morfologia do material. Essa melhor organização é, usualmente, atribuída ao processo de redissolução do material.

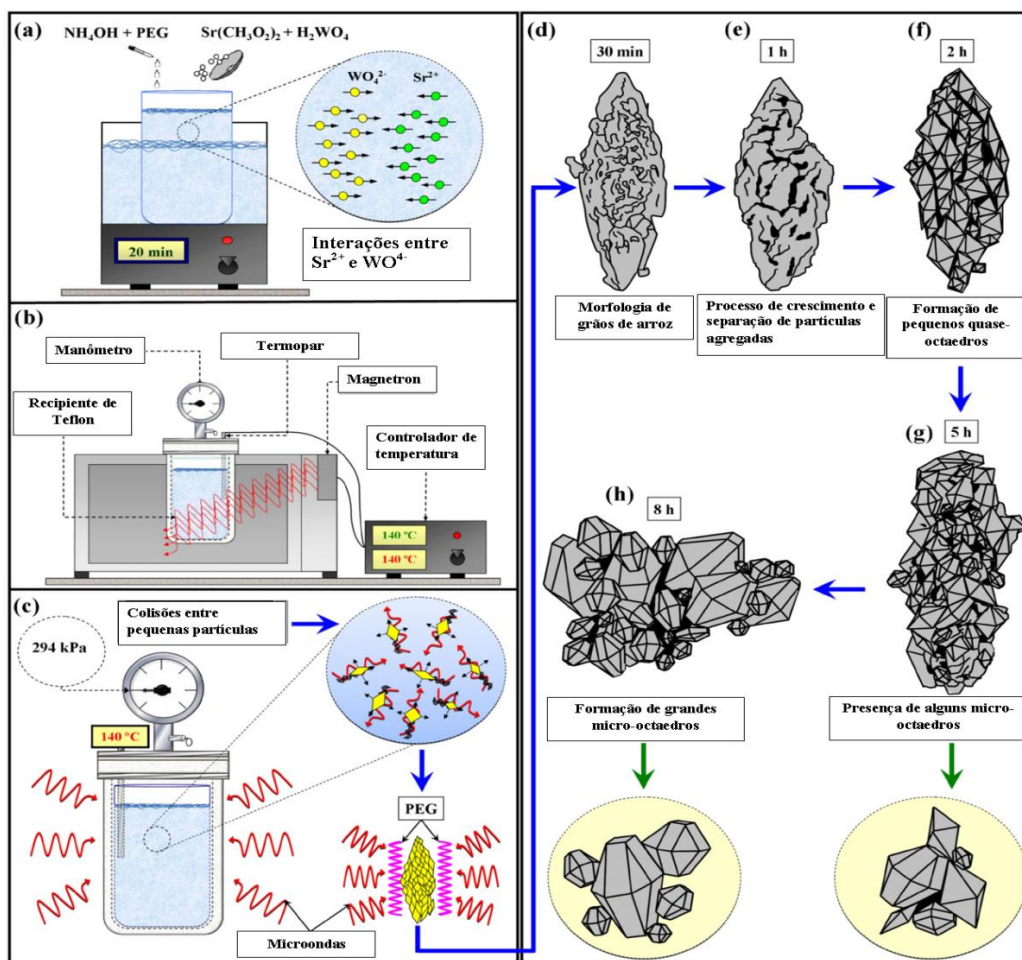


Figura 16 - Representação esquemática da síntese e mecanismo de crescimento de partículas de SrWO_4 por Hidrotermal de Micro-ondas (SCZANCOSKI et al, 2009).

Alguns estudos, sobre a síntese de nanoestruturas 1D e 2D de CeO_2 , através de métodos químicos em solução foram publicados. Estes métodos químicos, em solução, incluem a síntese de microemulsão hidrotérmal deposição direta em solução aquosa, crescimento orientado pela ajuda de surfactante e refluxo em solução alcoólica. Portanto, o uso de métodos hidrotérmicos, promovido por micro-ondas, para obtenção de nanoestruturas de CeO_2 , constitui-se em uma boa estratégia de síntese para o estudo dos parâmetros que influenciam na química de obtenção do óxido de cério (IV) nanoestruturado (WANG et al, 2011).

Apesar dos progressos comunicados para a síntese de nanotubos de óxido de cério (IV), o mecanismo responsável pelo processo de crescimento permanece incerto. Por exemplo, foi relatada a síntese de nanotubos de óxido de cério (IV), policristalino, e proposto um mecanismo de crescimento baseado na montagem de nanocristalitos de óxido de cério (IV) com crescimento preferencial longitudinal em uma direção. Acredita-se que o mecanismo não era baseado em um processo de nucleação e crescimento (ANWAR et al, 2011).

Mai et al, (2005) descreveu a síntese apenas de cristal de nanotubos de óxido de cério (IV). O crescimento das nano-formas foi atribuído a um mecanismo de nucleação e crescimento, controlando principalmente a dissolução / recristalização em condições hidrotérmicas em um alto pH ($\text{pH} > 10$) e uma temperatura de cerca de 100°C .

Deus et al (2013) prepararam com sucesso nanopartículas de óxido de cério (IV), cristalino, por método hidrotérmico de micro-onda, a partir do precursor de $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$, e PEG (surfactante). O agente alcalinizante NH_4OH foi adicionado à solução até pH 10. Um tratamento hidrotérmico inicial foi feito, até 100°C , durante 8 minutos, para se obter pó de CeO_2 . Onde a solução resultante foi transferida para uma autoclave, selada, em uma célula de Teflon, e colocada em um reator de micro-ondas hidrotérmico (2,45 alimentação GHz máxima de 800 W). O sistema reacional foi, termicamente, tratado a 100°C , por 8 minutos, com uma taxa de aquecimento fixada em $10^\circ\text{C} / \text{min}$. A pressão, na autoclave selada, foi estabilizada em 1,2 atm. A autoclave foi, naturalmente, arrefecida até temperatura ambiente. Nanopartículas de óxido de cério (IV) foram coletadas e lavadas, com acetona, por várias vezes e, em seguida, secas, em estufa, à 80°C . Através da análise de microscopia eletrônica de varredura, foi observada uma estreita distribuição de partículas de óxido de cério (IV). Este método pode ser utilizado para preparar pós de CeO_2 em curto espaço de tempo e a baixas temperaturas.

A utilização do dispositivo hidrotermal de micro-ondas para a síntese e processamento das nanoestruturas de óxido de cério ainda permite:

- - Um estudo exploratório, da técnica e da rota de síntese, aplicado à obtenção de nanoestruturas de outros óxidos metálicos;
- - A obtenção controlada de nanoestruturas ;
- - Entender se há interferência do “template” (polietileno glicol) na formação e na morfologia das estruturas;
- - Investigar a influência das micro-ondas sobre a síntese e processamento dos nanomateriais.

Essas vantagens fazem a tecnologia das micro-ondas muito atrativa em virtude de seus potenciais econômicos e tecnológicos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar, por rota hidrotermal de micro-ondas, a obtenção de nanoestruturas de óxido de cério (IV) e sua aplicação, biotecnológica, na odontologia.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Avaliar a influência do tempo, do template (surfactante direcionador PEG 200) e dos agentes alcalinizantes (NaOH e NH₄OH) na síntese e na morfologia do óxido de cério (IV).

Caracterizar as nanoestruturas obtidas por meio do referido método, utilizando métodos físicos tais como: Difractometria de Raio-X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura por emissão de campo (FEG-SEM), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Espectroscopia de UV-visível, Espectroscopia na região do infravermelho, Espectroscopia Raman, Análise térmica e Fisissorção e nitrogênio (método BET);

Avaliar a atividade antimicrobiana do dióxido de cério nanoparticulado, tanto na sua forma pura, quanto na sua mistura sólida com óxido de zinco odontológico, material utilizado em restaurações provisórias.

Verificar o potencial bacteriostático e bactericida, do óxido de cério (IV) associado ao óxido de zinco odontológico, frente a bactérias *S. mutans* em forma planctônica.

4 METODOLOGIA

Neste capítulo, serão descritos os seguintes procedimentos experimentais:

- (a) A metodologia de obtenção das nanopartículas, de óxido de cério (IV), e suas respectivas caracterizações;
- (b) A metodologia de avaliação da atividade bactericida e bacteriostática, desses óxidos, frente a *S. mutans*.

4.1 REAGENTES UTILIZADOS

Os reagentes utilizados para a síntese do óxido de cério (IV) estão listados na Tabela 1, com suas respectivas características.

Tabela 1 - Reagentes utilizados na síntese do CeO₂

Reagente	Fórmula	Fornecedor	Pureza (%)
Sulfato de Cério	Ce (SO ₄) ₂ . 4H ₂ O	NEON	P.A.
Polietilenoglicol 200	HO(C ₂ H ₄ O) _n H	Acros Organics	P.A.
Hidróxido de Sódio	Na(OH)	Vetec	P.A.
Hidróxido de Sódio	NH ₄ (OH)	Vetec	P.A.

4.2 METODOLOGIAS PARA A SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO ÓXIDO DE CÉRIO (IV).

4.2.1 Preparação dos materiais

Foi dissolvido 0,5 mmol de sulfato de cério, tetra hidratado, em 100 mL de água destilada com a adição de agente alcalinizante até o pH desejado (valor de pH 14 para NaOH, 5mol.L⁻¹ ou pH igual a 11 para NH₄OH, P.A.). A solução foi mantida sob agitação por 15 min até completa dissolução do sal precursor. Em seguida foram adicionados 500 mg de PEG 200 e mantida sob agitação por mais 15 minutos. Esta mistura reacional foi transferida para a autoclave de teflon, hermeticamente selada, e encaminhada ao Reator Hidrotermal de Micro-

ondas modelo HMO 100 I9TEC (Figura 14) para a realização da síntese hidrotermal (2,45 GHz, com uma potência máxima de 1200 W). Cada sistema reacional utilizado foi tratado termicamente a 150°C, utilizando, como intervalos de tempo, os valores 1, 5, 15, 30 e 60 minutos, com uma taxa de aquecimento fixada em 10°C / min.

Como resultado, observou-se um precipitado de partículas muito finas que foram coletados e , após decantação, lavados, por várias vezes, com água destilada, até pH neutro constante, e, em seguida, foram submetidos à secagem, em estufa, a temperatura de 150°C por uma hora. O material, após secagem, foi encaminhado para as caracterizações. Esse método de obtenção está representado, a seguir, na figura 17.

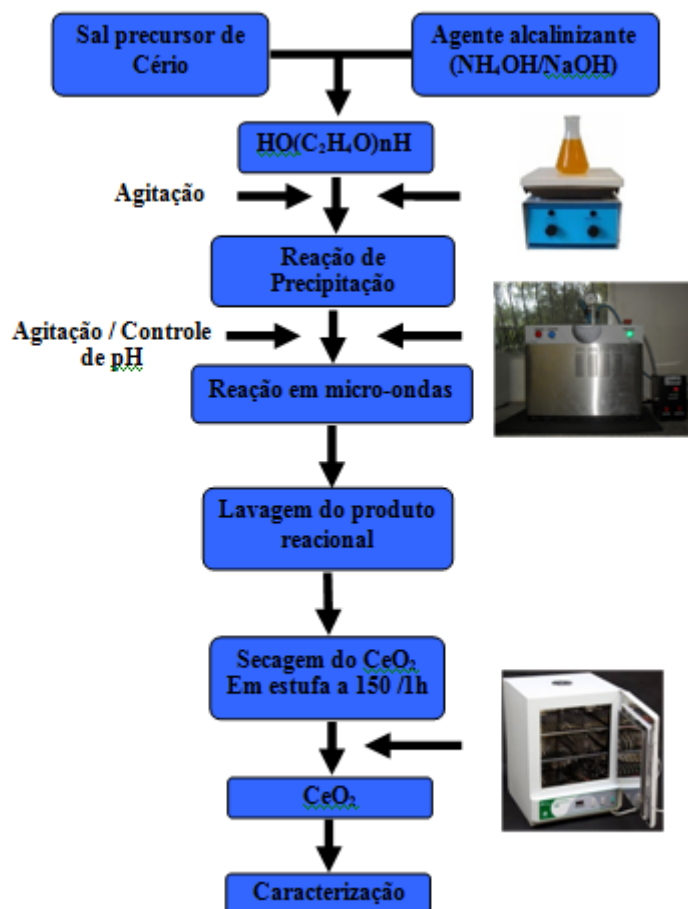


Figura 17 Representação esquemática da síntese das partículas de CeO₂ por HMO.

4.2.2 Técnicas de Caracterização

Os óxidos produzidos foram caracterizados, no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM), no Laboratório de Solidificação Rápida (LSR) e no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE-PE), por difração de raios-X (DRX), análise térmica (TG), espectroscopia de infravermelho (IR), espectroscopia Raman, espectroscopia UV-visível, e análises morfológicas como fisissorção de nitrogênio (método BET), microscopia de eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-AR), microscopia eletrônica de transmissão (MET).

4.2.2.1 Análise Térmica

Foram obtidas as curvas termogravimétricas, termogravimétricas derivadas e de análise térmica diferencial (TG e DTA) em um aparelho SDT 2960 Simultaneous DSC-TGA, da TA Instruments. Foi utilizada uma atmosfera de ar sintético, uma vazão de 100 mL.min⁻¹ e uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ com a faixa de temperatura de até 1000°C, utilizando um cadinho de alumina, com uma massa da ordem de 10 mg.

A partir desses resultados, podemos analisar o comportamento térmico do material através das suas etapas de perda de massa, que normalmente podem está associadas à fenômenos como saída de água, saída de alguns gases adsorvidos na superfície do material e à eliminação da matéria orgânica (WANG et al 2011).

4.2.2.2 Difração de Raios X (DRX)

As amostras foram analisadas XRD-6000 /SHIMADZU. Todas as amostras sólidas foram caracterizadas por DRX. Para a análise todos os materiais foram previamente passados por uma peneira de 200 mesh. Em seguida, compactados em um porta amostras, e colocados no equipamento. O equipamento possui um goniômetro vertical. O tubo utilizado foi o de cobre e o filtro de níquel foi utilizado para minimizar e/ou extinguir o efeito do K β e K α 2. A potência utilizada foi de 2 kVA, voltagem de 30 kV e corrente de 30mA. As fendas utilizadas foram: de divergência 1°, de dispersão 1° e a fenda de recepção de 0,3 mm. As varreduras para todas as amostras foram feitas explorando o intervalo de 5-90°, com um passo de 0,02° e velocidade de 2°min⁻¹, avaliando a amostra de forma geral com o propósito de identificar possíveis fases secundárias. Os resultados da análise foram comparados e analisados com as fichas cristalográficas JCPDS – Joint Committee of Powder Diffraction Standards.

4.2.2.3 Parâmetros de rede

Os parâmetros de rede da célula unitária cúbica foram determinados a partir das reflexões dos planos (1 1 1), (2 0 0) e (3 1 1). As posições 2θ e os índices (h k l) foram os dados de entrada para o programa Rede 93, desenvolvido na Unesp - Araraquara, baseado no método dos mínimos quadrados.

4.2.2.4 Desordem a longo alcance e Cristalinidade Relativa

As dimensões médias dos cristalitos foram calculadas, utilizando como referência o pico de maior intensidade, referente ao plano de difração (111), utilizando o padrão externo de quartzo e a equação de Scherrer (Equação 30).

$$TC = 0,9\lambda / \beta \cos\theta \quad \text{Eq.(29)}$$

e

$$\beta^2 = B^2 - b^2 \quad \text{Eq.(30)}$$

Onde:

TC = tamanho médio do cristalito;

λ = comprimento de onda da radiação eletromagnética, CuK ;

θ = ângulo de difração;

β = largura a meia altura (FWHM) do pico de difração, em que se considera a Equação 2;

B = largura da meia altura (FWHM) dos picos da amostra;

b = largura da meia altura dos picos de um padrão. A largura a meia altura dos picos foi determinada usando o programa computacional PeakFit.

A cristalinidade relativa é a relação entre o material amorfo e o material cristalino para um mesmo sistema e foi calculada a partir da relação entre as intensidades dos picos de difração. A evolução da cristalinidade relativa do óxido de cério (IV) foi obtida considerando 100 % cristalina, a amostra com maior intensidade do pico (1 1 1) - I_{100} , e 0 % cristalina, a amostra com menor intensidade de pico (I_0):

$$CR(\%) = \frac{I - I_0}{I_{100} - I_0} * 100 \quad \text{Eq.(31)}$$

4.2.2.5 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro IRPRESTIGE-21 / SHIMADZU. As amostras, avaliadas por essa caracterização, foram prensadas com KBr, utilizando, aproximadamente, 1 mg de amostra dispersa em 50 mg de KBr, em forma de pastilha, sendo a região de análise compreendida entre 3500 a 400 cm^{-1} .

Essa técnica, nos fornece as unidades estruturais dos compostos, com base nas frequências vibracionais das moléculas, e verifica quais possíveis espécies químicas estão presentes.

4.2.2.6 Espectroscopia Raman

A análise por espectroscopia Raman foi realizada num espectrofotômetro JOBIN-YVON U1000, com monocromador duplo, fotomultiplicadora de GaAs resfriada, um sistema de contagem de fótons e laser de argônio. Foi utilizado um comprimento de onda 488 nm para excitação. Todas as medidas foram realizadas à temperatura ambiente.

4.2.2.7 Espectroscopia de absorção na região do UV-Visível

As análises de espectroscopia UV-vis foram realizadas em um espectrofotômetro UV-visível de marca SHIMADZU, com acessório para reflectância, modelo UV-2550, com comprimento de onda na região entre 190-900 nm.

De acordo com os dados do espectro de absorção, o band gap (E_g) ótico das partículas de CeO_2 pode ser estimado usando a equação:

$$\alpha h\nu = C(h\nu - E_g)^{1/2} \quad \text{Eq.(32)}$$

onde α é o coeficiente de absorção, $h\nu$ é a energia do fóton, E_g é a energia do band gap para transições diretas (transição entre banda de condução e a banda de valência com emissão de fóton) e C é uma constante. Assim, traçando o gráfico $(\alpha h\nu)^2$ versus E , é possível obter E_g como o valor de E correspondente ao valor de $(\alpha h\nu)^2 = 0$, por extrapolação da região linear (HO et al 2005; Wang et al 2007).

4.2.2.8 *Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-AR)*

As amostras de óxido de cério (IV) foram analisadas em um equipamento Quanta 200 FEG, no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE-PE).

A microscopia eletrônica de varredura é utilizada em várias áreas do conhecimento, incluindo a caracterização de óxidos. O uso desta técnica vem se tornando mais freqüente por fornecer informações de detalhe, com aumentos de até 300.000 vezes. A imagem eletrônica de varredura é formada pela incidência de um feixe de elétrons no mineral, sob condições de vácuo. A incidência do feixe de elétrons no mineral promove a emissão de elétrons secundários, retroespalhados e absorvidos, assim como de raios X característicos e de catodoluminescência.

Foi feita uma suspensão bastante diluída da amostra em acetona, em seguida, adicionou-se uma gota da suspensão no substrato de vidro, que após secagem foi recoberto com filme de carbono.

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica que permite obter informações acerca da morfologia e tamanho dos grãos das amostras analisadas. Esta é uma técnica que fornece informações da textura, topografia e de superfície de pós ou de filmes (KEYSON et al, 2008).

4.2.2.9 *Microscopia eletrônica de transmissão (MET)*

As amostras de óxido de cério (IV) (micrografias e EDS) foram analisadas em um Microscópio eletrônico de transmissão FEI de 200kV, modelo Tecnai20, emissor LAB6 ou W, módulo EDAX, tomografia Xplore3D, suporte de aquecimento controlado, no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE).

Um feixe de elétrons atravessa a amostra sofrendo diversos tipos de espalhamento que dependem das características do material. Imagens de campo claro são formadas por elétrons que sofrem pouco desvio, enquanto as de campo escuro são formadas por elétrons difratados pelos planos cristalinos do material. Interações do feixe com o material geram raios-X característicos que fornecem informações sobre os elementos químicos presentes na amostra.

Foi feita uma suspensão bastante diluída da amostra em acetona, em seguida, adicionou-se uma gota da suspensão nos respectivos grids (porta amostras).

A microscopia eletrônica de transmissão permite obter informações acerca da morfologia, tamanho dos grãos, orientação dos planos contidos na amostra, distância interplanares, entre outras.

4.2.2.10 Fisissorção de nitrogênio (método BET)

As amostras sólidas foram analisadas em um BELSORPII / BEL no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE). Inicialmente as amostras foram tratadas há 523 K por 2 horas em um BelprepII / BEL com fluxo de N₂(g). No equipamento a sorção foi realizada com N₂(g) e com padrão de He, em um dewar contendo N₂.

4.3 APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA

As propriedades biotecnológicas e microbiológicas, dos óxidos produzidos, foram avaliadas, no Laboratório de Biologia e Saúde Bucal, por análises de concentração inibitória mínima, absorvância, fluorescência, prova de resazurina, difusão em poços.

4.3.1 Preparação da suspensão bacteriana

As cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* foram semeadas em meio BHI-caldo (Brain and Heart Infusion) com 10% sacarose, por 24h a 37°C, em estufa microbiológica. A massa bacteriana foi devidamente tratada para os testes de concentração inibitória mínima (CIM). Para tanto, as cepas foram distribuídas em dois tubos, tipo Falcon, com volumes iguais de 3 ml e centrifugadas a, aproximadamente, 6000 rpm por 10-15 minutos. Em seguida, foi removido o sobrenadante (resíduos do meio nutritivo mais exolipopolisacarídeos oriundos do metabolismo celular) e a massa bacteriana residual foi ressuspensa em 5mL de NaCl a 0,85% (0,9g/100 mL), e encubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 1 hora, com agitações em vortéx a cada 10 minutos. Encerrado esse período, as bactérias foram novamente centrifugadas, sob as mesmas condições de centrifugação inicial, com remoção do sobrenadante e ressuspensão, dessa vez em 2,4mL, em solução salina. Obtida essa suspensão bacteriana, foi feita análise do valor, da escala de McFarland, que deve se aproximar de 0,135 unidades arbitrárias de absorvância (usando espectrofotometria), equivalente a $1,5 \cdot 10^8$ Unidade Formadora de Colônia (UFC).

4.3.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM) para cimento de óxido de zinco odontológico e eugenol modificado por óxido de cério (IV).

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada, tendo como base o método de diluição em meio líquido, preconizado por Andrews (2001), modificado por Abinader (2005), segundo as normas do NCCLS (2002), e aplicado por Vasconcelos et al (2008).

Para a realização do ensaio foram utilizados os grupos experimentais representados a seguir (Tabela 2):

Tabela 2 - Identificação dos grupos experimentais

Grupos	Atribuições
Grupo 1 – G1	CeO ₂ 10% + ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 2 – G2	CeO ₂ 20% + ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 3 – G3	CeO ₂ 30% + ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 4 – G4	CeO ₂ 40% + ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 5 – G5	Óxido de zinco odontológico (ZnO) + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 6 – G6	Eugenol diluído em Twen 3% (na proporção 1:1 com controle positivo)
Grupo 7 – G7	Controle – (controle negativo: apenas o BHI)
Grupo 8 – G8	Controle + (controle positivo: BHI + inóculo bacteriano)

Os conteúdos dos grupos experimentais de G1 a G5 foram transferidos para conjuntos de tubos, seguindo as diluições 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, de forma que cada tubo contivesse (Figura 18) a respectiva diluição, o inóculo (0,05 mL) e o BHI caldo (necessário para completar 10 mL) (Tabela 2). Para o grupo 6, foram utilizados várias diluições de Eugenol, diluído em Tween 80 % , nas proporções 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, onde a primeira diluição representou o controle positivo das amostras e todos os tubos foram agitados em vórtex (agitador de tubos MA-162, Brasil) (Figura 19) e incubados em estufa bacteriológica por 24 horas a 37°C em microaerofilia (Figura 20). Os grupos G7 e G8, que representam os controles positivos (+) e negativos (-), não sofreram diluições.

Decorrido esse tempo, foi retirado 100 μ L de cada tubo e colocado em placa de Elisa que conduzida a um leitor de microplaca de 96 poços (BMG Fluostar Optima, BMG Labtech) para medida da absorbância (Figura 21).



Figura 18 - Tubos contendo grupos experimentais e suas diluições.

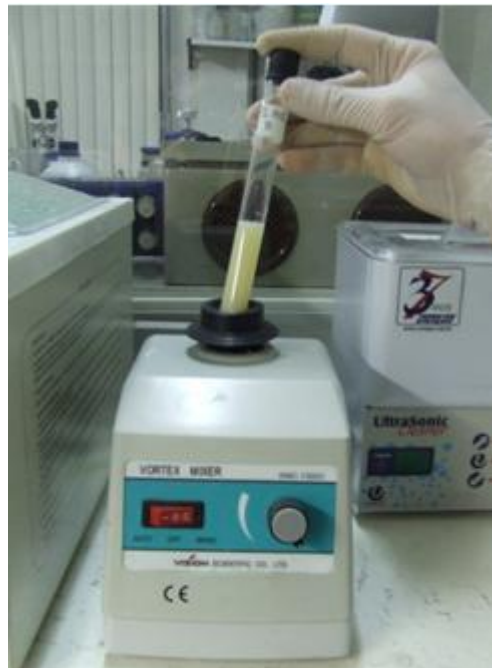


Figura 19 - Tubos agitados em vórtex.



Figura 20 - Tubos em jarra de microaerofilia.



Figura 21 - Placa de Elisa posicionada em leitor.

Paralelamente, foi realizado o teste colorimétrico com resazurina (indicador redox). Este é um indicativo da presença de bactérias vivas ou mortas no líquido dos tubos. Um volume de 100 μL de cada tubo foi dispensado em diversos poços da placa de microdiluição (ou ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Figura 22) e acrescentado 35 μL de resazurina (Figura 23) para determinar a presença de bactérias vivas e mortas.

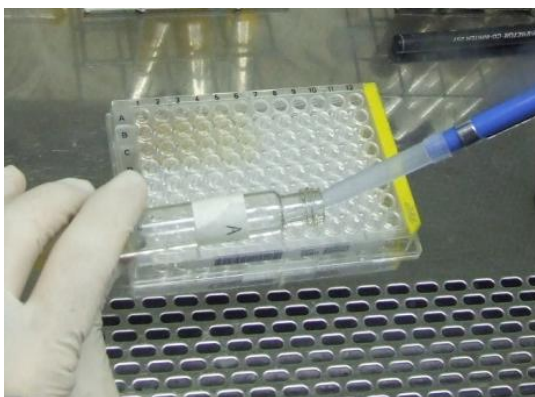


Figura 22 - Solução do tubo dispensada na placa de Elisa para teste colorimétrico.



Figura 23 - Dispensação da resazurina na placa de Elisa.

A mudança de cor, nos orifícios (de azul para rosa), é interpretada como indicativo da presença de microrganismo sensível ao material testado (Equação 33). Os experimentos foram realizados em triplicata (Figura 24). Para confirmação de morte bacteriana (CBM), foi retirado 100 μL do poço controle onde se estimou a CIM e plaqueado em BHI - Ágar para confirmar a presença de bactérias viáveis.

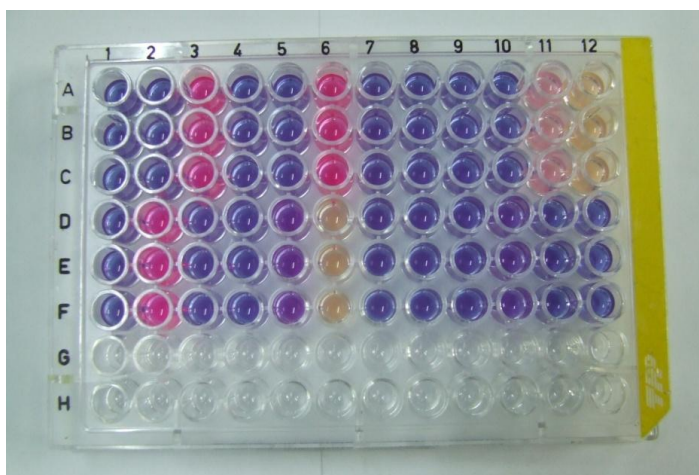
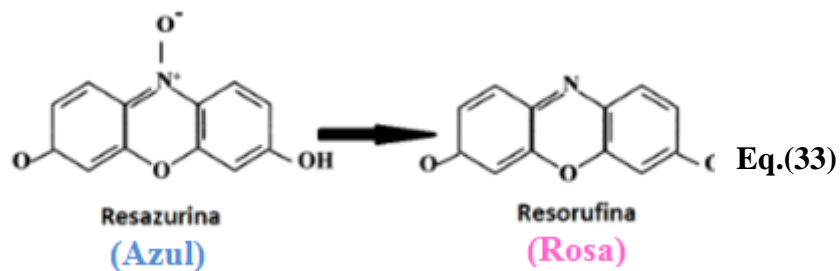


Figura 24 - Poços da Placa de Elisa contendo solução dos tubos (BHI, inóculo e material) e resazurina.

4.3.3 Fluorescência

A técnica da fluorescência permite determinar a presença de bactérias vivas e mortas, de modo a fornecer mais um parâmetro para a confirmação da atividade antimicrobiana dos grupos testados (FILOCHE et al, 2009).

A técnica funciona por meio da exposição das amostras, testadas em meio líquido, a uma combinação de dois corantes (SYTO 9 e Iodeto de propídio) que permitem identificar células com membrana celular danificada. Os corantes diferem tanto em suas características espectrais, quanto em sua capacidade para penetrar as células, bacterianas, saudáveis.

Quando usado, isoladamente, o SYTO 9 (verde) cora, geralmente, todas as bactérias numa população tanto aquelas com membranas intactas, quanto aquelas com membranas danificadas. No entanto, o iodeto de propídio (vermelho) penetra apenas bactérias com membranas danificadas, causando uma redução na fluorescência do corante SYTO9 quando

os dois corantes estão presentes na amostra. A excitação/emissão máximas para estes corantes são cerca de 480/500 nm para SYTO9 e 490/635 nm para o iodeto de propídio.

A cepa de *S.mutans* UA159 foi inoculada em meio BHI-caldo, usando-se 600 µL de massa bacteriana (estoque conservado em glicerol sob refrigeração) em 7 mL de BHI-caldo para cada um dos dois tubos tipo Falcon por 24 horas a 37°C em anaerobiose. Esse novo cultivo foi realizado no segundo dia de experimento (dia da montagem da macro ou microdiluição), para garantir que no dia seguinte (terceiro dia do experimento), o volume suficiente de bactérias para padronização na escala de MacFarland, servisse de comparativo, verificando se o óxido de cério (IV) utilizado, de fato reduziu a população bacteriana.

Após o período de 24h de crescimento, a massa bacteriana ou inóculo foi centrifugada a 6000 RPM por 10 a 15 minutos, o sobrenadante descartado e essa massa foi ressuspensa em 240 µL de solução salina a 0,85%.

Em um dos tubos foi adicionado 4,8 mL de solução salina a 0,85% (para manter as bactérias vivas) e em outro 4,8 mL de álcool isopropílico a 70% (para promover a morte bacteriana). O inóculo foi então incubado por 1 hora em estufa bacteriológica a 35°C, com agitações em vortex a cada 15 minutos, e ao término desse período, foi novamente centrifugado a 6000 RPM por 10 a 15 minutos.

Novamente o sobrenadante foi descartado para ressuspensão da massa bacteriana, agora em 2,4 mL de solução salina a 0,85%. A concentração bacteriana foi padronizada de acordo com a escala de MacFarland, usando-se placas de microdiluição tipo TPP 96 poços de fundo chato. Para determinar a concentração bacteriana, a leitura de absorbância deve apresentar valor da ordem de 0,135 unidades arbitrárias (o que corresponde a 10^8 UFC/mL).

Após determinar e padronizar a concentração da massa bacteriana foi preparado uma curva de calibração usada como referência para as leituras dos poços analisados, fazendo-se uma combinação entre bactérias vivas e mortas, em volumes diferentes. Tomando-se a bactéria viva como referência, a curva foi montada de modo a possuir as seguintes concentrações: 0%, 20%, 50%, 80% e 100% de bactérias vivas. Para volumes complementares para garantir o volume final de 100 µL foi usada a preparação com bactérias mortas (100%, 80%, 50%, 20% e 0%). A mistura foi então feita em tubos Eppendorf para facilitar o manuseio do material, e em seguida homogeneizada em vórtex.

A mistura foi transferida para uma placa preta apropriada para fluorescência tipo Greiner 96 poços, pipetando-se 30 µL de cada um dos tubos Eppendorf em um poço específico. De cada amostra de leitura também foi retirada um volume de 30 µL para leitura. Para cada poço de leitura, seja da curva de calibração ou dos poços contendo o material a ser

analisado, foram acrescentados 30 µL do reagente constituído pela mistura de SYTO[®] 9 + Iodeto de Propídio, na proporção de 1:1 do Kit para Viabilidade Bacteriana LIVE/DEAD[®] BacLight[™] da Invitrogen.

Cada componente do kit foi diluído em tubos tipo falcon contendo 2,5 mL de água deionizada estéril (ultra-pura). Em seguida, os dois componentes foram misturados na proporção de 1:1 antes de serem usados, sempre protegidos da luz por papel alumínio.

Após cada poço (contendo a substância a ser analisada) ter sido exposta a mistura de reagentes na proporção de 1:1, cobriu-se a placa com alumínio para evitar ao máximo qualquer exposição à luz por 10 minutos antes de ser feita a leitura de fluorescência. A leitura foi executada no aparelho modelo FLUO star Optima marca BMG LABTECH.

4.3.4 Técnica de difusão em poços

Utilizou-se BHI-caldo suplementado com 10% de sacarose para cultivo da bactéria *S. mutans*, e repetida a padronização da escala de MacFarland. Foram distribuídos 15 ml do meio sólido BHI-Ágar por placa de Petri de tamanho médio, onde foi inoculado 1 mL da massa bacteriana devidamente padronizada em solução salina, para a escala de McFarland.

A placa foi manipulada de modo a proporcionar a homogeneização e contato do inóculo sobre a superfície do Ágar em toda a placa. Em seguida, a placa foi inclinada sobre um papel filtro estéril, para que o excesso do inóculo fosse escorrido, deixando a placa aberta por alguns minutos para secagem (evitando difusão do inóculo sob o Ágar). Perfurou-se o meio com a base de uma ponteira estéril, formando um poço de 0,94 cm de diâmetro para receitação do material odontológico manipulado com eugenol conforme recomendação do fabricante e distribuídos grupos como mostrado, na Tabela 3, a seguir:

Tabela 3 - Identificação dos grupos experimentais (Difusão em poços)

<i>Grupos</i>	<i>Atribuições</i>
Grupo 1A – G 1A	CeO ₂ Comercial + ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 2A – G 2A	CeO ₂ nanométrico 10% em ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 3A – G 3A	Eugenol + ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 4A – G 4A	CeO ₂ Nanométrico em ZnO odontológico + Eugenol + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 5A – G 5A	CeO ₂ Comercial + Eugenol + ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo
Grupo 6A – G 6A	Óleo mineral + ZnO odontológico + <i>S. mutans</i> em BHI-caldo

Teve-se o cuidado de padronizar a quantidade de eugenol colocado, sendo de 60 μL para todos os materiais acrescentados nos poços. Uma placa teve o Agar perfurado para o controle com eugenol e outro com óxido de zinco e eugenol convencional. Uma placa foi deixada sem perfuração para controle de esterilidade do experimento como um todo. As placas fechadas foram levadas para estufa microbiológica em jarra de microaerofilia (oxigênio do ar reduzido) por 24 horas (Figura 25).



Figura 25 - Óxido de zinco e eugenol modificado por cério na placa de Petri com meio BHI Agar.

Após esse período, as placas foram fotografadas para registro de eventual formação de halo de restrição ou inibição, que caso presente, deveria ter seu diâmetro medido com paquímetro (Figura 26).



Figura 26 - Aferição do halo de inibição com paquímetro.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DA EVOLUÇÃO DAS FASES

Os difratogramas de raios-X, dos pós de CeO_2 , nas suas diferentes condições de sínteses (com ou sem PEG 200, na presença de NaOH ou NH_4OH , tratados a $150\text{ }^\circ\text{C}$ nos tempos de 1, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos), são apresentados nas Figuras 27, 28, 29 e 30. Pode-se observar picos referentes à estrutura cúbica de face centrada, fluorita, em todas as amostras, orientados pelos planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), (3 1 1), (2 2 2) e (4 0 0), comprovando o sucesso do método proposto. As fases encontradas foram indexadas, após análises e correlações, a partir da ficha JCPDS 25- 1164 (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) para a estrutura, fluorita, do CeO_2 .

Com a variação do tempo de exposição das micro-ondas nos sistemas, observou-se que o material amorfo tende a uma leve organização. Tal comportamento foi observado em todos os difratogramas, promovendo uma sutil relação entre a cristalinidade e a variação do tempo de síntese das amostras.

Os picos de difração apresentaram-se mais alargados, em comparação a amostra comercial, indicando uma diminuição no tamanho dos cristalitos (Figura 33), porém, não se observa variações significativas, quanto à intensidade dos picos, para as Figuras 27, 28, 29 e 30.

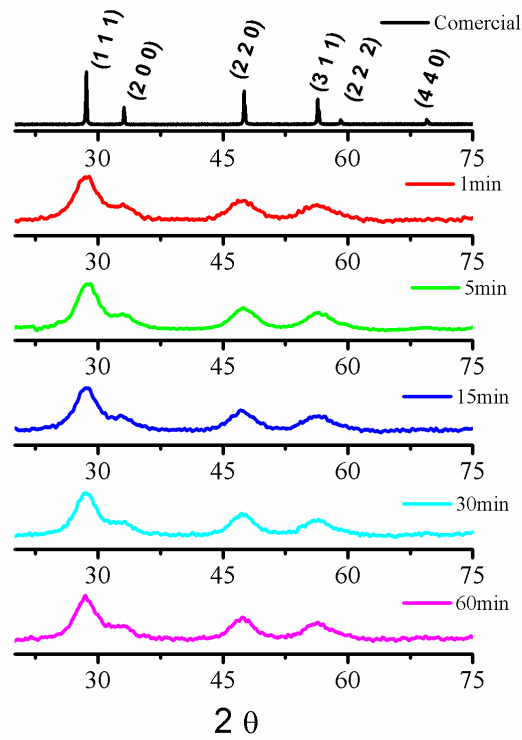


Figura 27 - Difractogramas de raios-X do sistema CeO₂ na seguinte rota de síntese: CeO₂-NaOH-150°C.

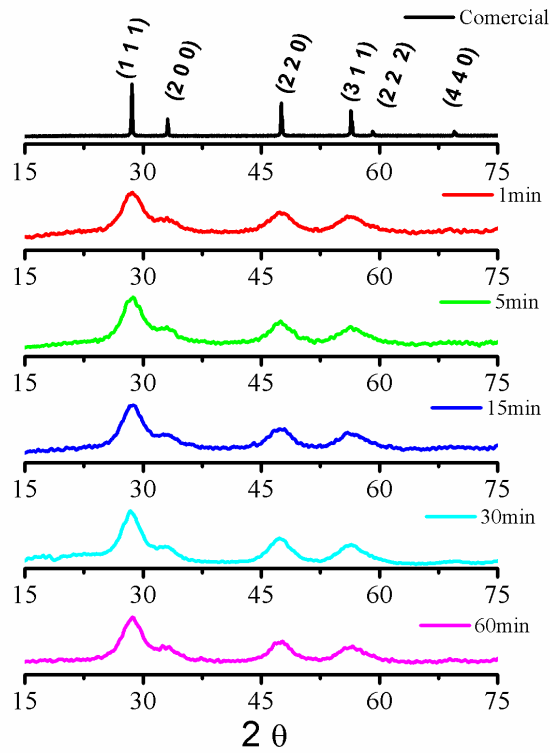


Figura 28 - Difractogramas de raios-X do sistema CeO₂ na seguinte rota de síntese: CeO₂-NaOH-PEG-150°C.

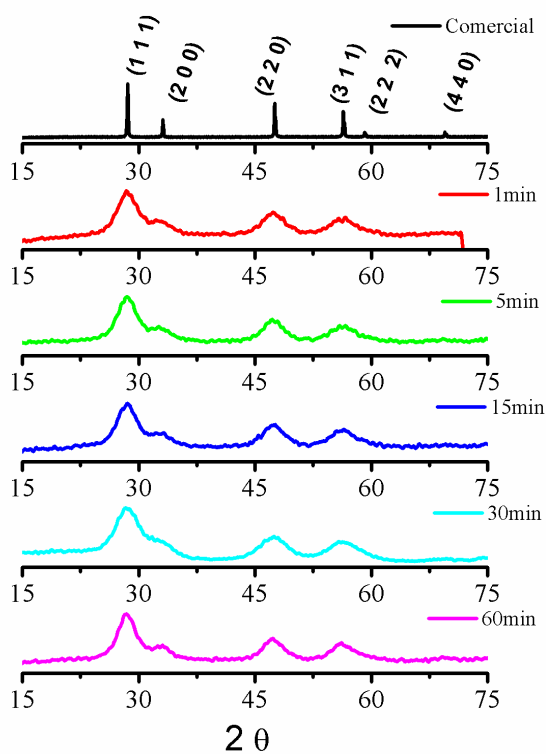


Figura 29 - Difratogramas de raios-X do sistema CeO_2 na seguinte rota de síntese: CeO_2 - NH_4OH - 150°C .

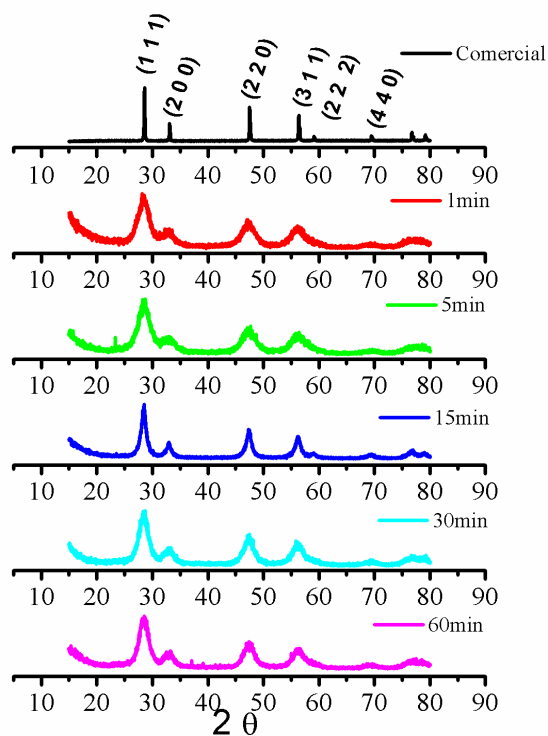


Figura 30 - Difratogramas de raios-X do sistema CeO_2 na seguinte rota de síntese: CeO_2 - NH_4OH -PEG- 150°C .

5.1.1 Parâmetros de rede

A partir dos dados obtidos dos difratogramas, foi possível avaliar os parâmetros de rede para a estrutura do dióxido de cerio em função da variação do tempo de exposição às micro-ondas (Tabela 4 e Figura 31).

Os dados teóricos, para cada cálculo, foram obtidos através da ficha JCPDS 25- 1164, informados anteriormente, onde o parâmetros teóricos foram calculados através da média ponderada entre os valores das fichas referentes ao CeO₂.

Karel Mašek, et.al. (2012); Chen, et al(2010) investigaram os resultados de uma série de rotas alternativas para a produção de nanocristais de óxido de cério (IV) com diferentes naturezas químicas e observaram pouca evidência em um modelo consistente para explicar mudanças de parâmetros de rede a partir dos tamanhos dos nanocristais obtidos.

Para todos os sistemas estudados (Figura 31), foram obtidos valores médios experimentais de parâmetros de rede em torno de 5,40 Å (muito próximos do valor teórico, 5,41 Å), correspondendo a um volume médio de 157,5 Å³ para a célula unitária (Tabela 4). Uma sutil organização, em função do tempo de exposição às micro-ondas, foi observada, porém, outras variações promovidas no processo de síntese do óxido de cério (IV) (agente alcalinizante e template), não forneceram alterações significativas quanto aos resultados de parâmetros de rede.

Tabela 4 Volumes das células unitárias para o CeO₂ (Å³).

Amostras/V.C.U. Tempo (minuto)	1	5	15	30	60
CeO ₂ -NaOH-150°C	157,2	157,8	158,1	158,8	158,6
CeO ₂ -NaOH-PEG-150°C	156,6	158,6	160,7	158,6	155,6
CeO ₂ -NH ₄ OH-150°C	160,9	160,9	158,1	158,6	160,1
CeO ₂ -NH ₄ OH-PEG-150°C	159,2	158,5	160,9	160,9	159,1
CeO ₂ Teórico			158,4		

V.C.U. – Volume da célula unitária.

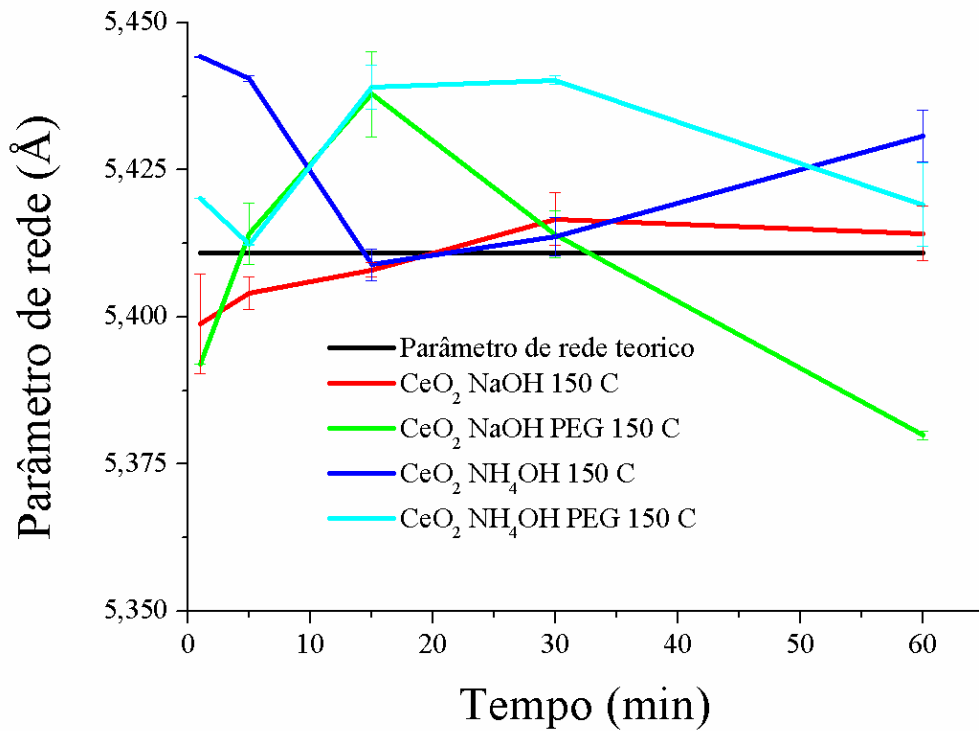


Figura 31 - Parâmetros de rede para a fluorita de CeO₂.

Comparando os resultados experimentais com os valores teóricos de parâmetros de rede, observou-se pequenas variações, em função do tempo de exposição das micro-ondas, comentadas abaixo para os seguintes sistemas:

✓ CeO₂ NaOH 150°C: observou-se uma maior aproximação com os valores teóricos, mas a evolução com tempo não definiu uma maior organização do sistema.

✓ CeO₂ NaOH PEG 150°C: observou-se uma menor aproximação do comportamento teórico de parâmetros de rede, porém, com a evolução do tempo, foi percebida uma maior organização do sistema, dentre todas as amostras, gerando menores distorções no material .

✓ CeO₂ NH₄OH PEG 150°C: observou-se uma menor coerência com os valores teóricos (entre todas as amostras) e, com a evolução do tempo, os valores teóricos e experimentais se aproximaram, promovendo uma maior organização do sistema.

✓ CeO₂ NH₄OH 150°C: Nos tempos iniciais de 5 e 15 minutos, foram observados uma maior tendência de desorganização do sistema, provocando tensão na rede e promovendo alteração nos parâmetros de rede. Porém, com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas, o sistema voltou a se organizar.

5.1.2 Desordem a longo alcance (FWHM)

Todas as fluoritas sintetizadas apresentaram comportamentos semelhantes, tendência de ordem com a evolução do tempo de síntese, quanto à organização a longo alcance, referentes ao plano (111) (pico 100%). Os resultados são apresentados na Figura 32.

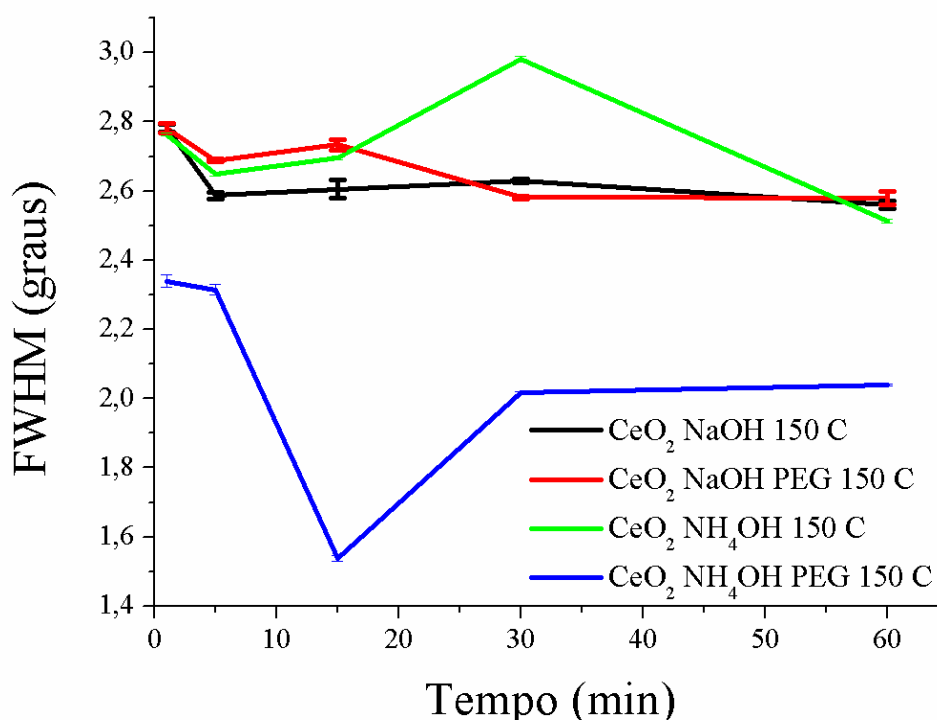


Figura 32 - FWHM para as fluoritas com sistema CeO₂ nas seguintes rotas de síntese: CeO₂-NaOH-150 °C; CeO₂-NaOH-PEG-150°C; CeO₂-NH₄OH-150°C e CeO₂-NH₄OH-PEG-150°C.

Observa-se que o sistema CeO₂ NH₄OH PEG 150°C, entre todos os sistemas estudados, apresentou uma diminuição considerável de FWHM, indicando uma maior organização e maior eliminação de defeitos. Entre as três primeiras rotas de síntese, expostas no gráfico da Figura 32, os valores de FWHM foram próximos, porém, houve um aumento na ordem a longo alcance, com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas. Tal comportamento corroborou com os resultados de parâmetros de rede e análise térmica (Figuras 31 e 34, respectivamente).

Comparando os resultados experimentais de desordem a longo alcance (FWHM), dentre as rotas de sínteses apresentadas, com seus diferentes tempos de exposição às micro-ondas, observou-se as seguintes variações de FWHM:

✓ $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$: Observou-se organização do sistema em virtude da evolução do tempo de exposição às micro-ondas.

✓ $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$: Comportamento próximo ao observado para o sistema anterior que, com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas, apresentou maior organização.

✓ $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$: Observou-se a maior coerência de ordem a longo alcance, em comparação com as outras rotas de síntese, onde o resultado com tempo de exposição de 15 minutos, apresentou a maior organização a longo alcance, dentre todas as amostras analisadas.

✓ $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$: Na amostra, com tempo de exposição de 30 minutos, ocorreu a maior desorganização, dentre todas, onde tal tensão na rede, promoveu alteração de largura a meia altura (FWHM). Com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas, o sistema voltou a se organizar.

5.1.3 Tamanho de Cristalito

Com o aumento do tempo de exposição às micro-ondas, observou-se que, para todos os sistemas, utilizados, para obtenção do óxido de cério (IV), ocorreu uma diminuição no tamanho dos cristalitos (Figura 33) e para as amostras de CeO_2 , utilizando NaOH, os menores cristalitos, dentre todas as amostras, foram observados.

Comparando os resultados experimentais de tamanhos de cristalitos, para os sistemas aqui apresentados, com seus diferentes tempos de exposição às micro-ondas, observou-se as seguintes variações:

✓ $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$: observou-se os maiores tamanhos de cristalito, entre todos os sistemas obtidos. Esses valores diminuem em virtude da evolução do tempo de exposição das micro-ondas.

✓ $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$: Na amostra, com tempo de exposição de 30 minutos, observou-se o maior valor de tamanho de cristalito entre todos os sistemas estudados.

✓ $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$ e $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$: Estes dois sistemas apresentaram comportamentos semelhantes ao sistema $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$, com pequenas variações nos tamanhos dos cristalitos.

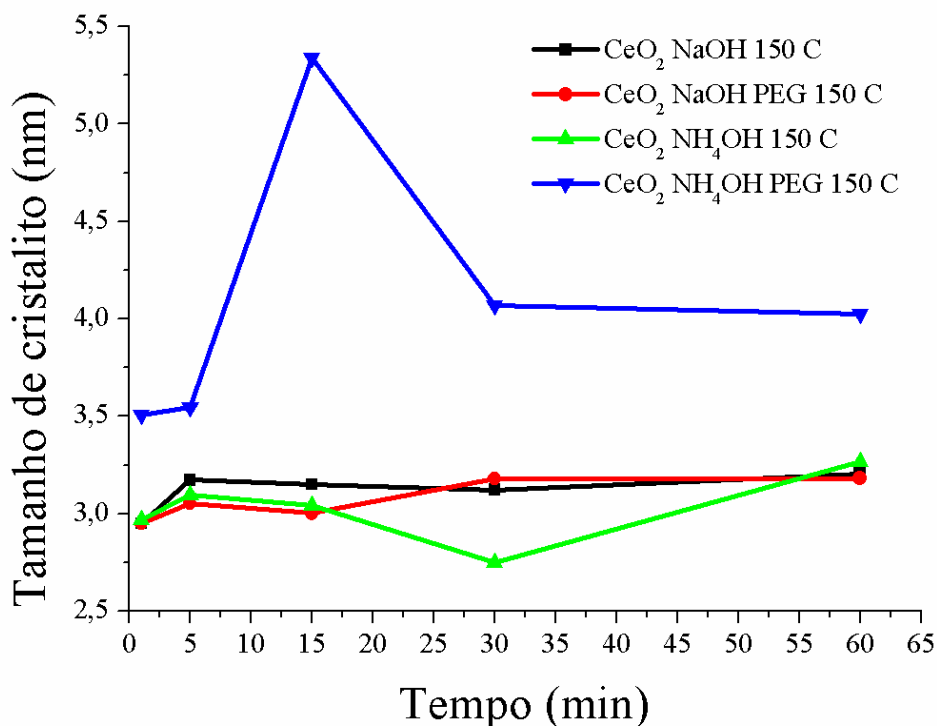


Figura 33 - Tamanho de cristalito para os sistemas de CeO_2 nas seguintes rotas de síntese: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$; $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$; $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$ e $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

5.2 ÁREA DE SUPERFÍCIE - O MODELO DE BET

As áreas de superfície específica das amostras com suas diferentes rotas de sínteses e tempos de exposição às micro-ondas, são mostradas na Tabela 5, e, adotando para as amostras de óxido de cério (IV), a densidade de $7,2\text{ g/cm}^3$ (ZHANG et al 2003) e a fórmula citada no item 3.1.9, foram calculados todos os valores de diâmetros de partículas. Os valores de áreas superficiais (Tabela 5) foram comparados com os resultados de diâmetros de partículas (Tabela 6) para todos os sistemas estudados, onde se observou as seguintes variações:

✓ $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$: Observou-se as maiores áreas superficiais e conseqüentemente, os menores diâmetros de partículas, dentre todos os sistemas estudados.

Uma diminuição dos tamanhos das partículas foi identificada com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas.

✓ $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$: Foi observado comportamento semelhante ao sistema anterior com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas, porém com áreas superficiais e diâmetros de partículas menores.

✓ $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$: Observou-se um comportamento contrário em comparação com as amostras que utilizaram NaOH, ocorrendo um aumento nas dimensões das partículas com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas.

✓ $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$: observou-se uma maior regularidade quanto às dimensões de partículas e resultados de áreas superficiais, com a evolução do tempo de exposição das micro-ondas, entre todos os sistemas estudados.

Diâmetros de partículas de óxido de cério (IV), em todos os sistemas estudados, são da ordem de 3 a 7 nm e foi observado entre 5 e 8 células unitárias para a formação de um cristalito, estando coerente as observações dos tamanhos de partículas e esses resultados foram corroborados com as análises de BET. Comparando os tamanhos de partículas com os tamanhos de cristalito obtidos, a partir dos difratogramas para os sistemas contendo NaOH (Figura 27 e 28), podemos estimar que a grande maioria das partículas são compostas de um cristalito. Esse comportamento não se observou-se em apenas duas amostras (Na presença de NaOH no tempo 1 minuto e NH_4OH no tempo de 15 minutos, ambos com PEG 200 e tratados a 150°C) que apresentaram-se mais fragmentadas (≈ 2 cristalitos).

Os sistemas contendo NaOH, apresentaram maiores valores de área superficial e uma diminuição de diâmetro de partícula de até 44,02% em comparação com as amostras contendo NH_4OH .

A possibilidade de obtenção de materiais com dimensão nanométrica, por meio do método de síntese hidrotermal de micro-ondas, envolvendo baixo consumo de energia (baixas temperaturas) e pequenos intervalos de tempo de síntese, torna-o muito atrativo e promissor. Isto é ratificado ao analisar o material de CeO_2 obtido, neste trabalho, a partir de 1 minuto de síntese a 150°C , com áreas superficiais que variaram entre 117 a $295 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (Tabela 5) e com tamanho de partícula da ordem de 5nm. Esses resultados foram muito superiores aos relatados na literatura (OLIVEIRA et al. 2011), que obtiveram áreas superficiais em torno de $112 \text{ m}^2/\text{g}$ e tamanho de partículas com aproximadamente 10 nm, para o mesmo material, envolvendo o referido método a 150°C por 60 minutos.

Tabela 5 - Valores de área de superfície, em metro quadrado por grama ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), para as fluoritas de CeO_2 (m^2/g) nas seguintes rotas de síntese: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$; $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$; $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$ e $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

Amostras/Tempo	1min	5min	15min	30min	60min
$\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$	187	295	255	231	282
$\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$	120	207	174	211	213
$\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$	193	171	187	170	180
$\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$	170	159	117	176	165

Tabela 6 - Valores de tamanhos de partículas do sistema CeO_2 , em nanômetros (nm), nas seguintes rotas de síntese: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$; $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$; $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$ e $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

Amostras/Tempo	1min	5min	15min	30min	60min
$\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$	4,4	3,0	3,2	3,6	2,9
$\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$	7,0	4,0	4,7	4,0	3,9
$\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$	4,3	4,8	4,4	4,9	4,6
$\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$	5,0	5,2	7,0	4,7	5,0

5.3 ANÁLISE DE TERMOGRAVIMETRIA

As curvas sobrepostas TG do óxido de cério (IV) obtidos nos intervalos de 1 minuto e 60 minutos, na presença ou não de polietilenoglicol 200, são mostradas, na Figura 34 e na Tabela 7.

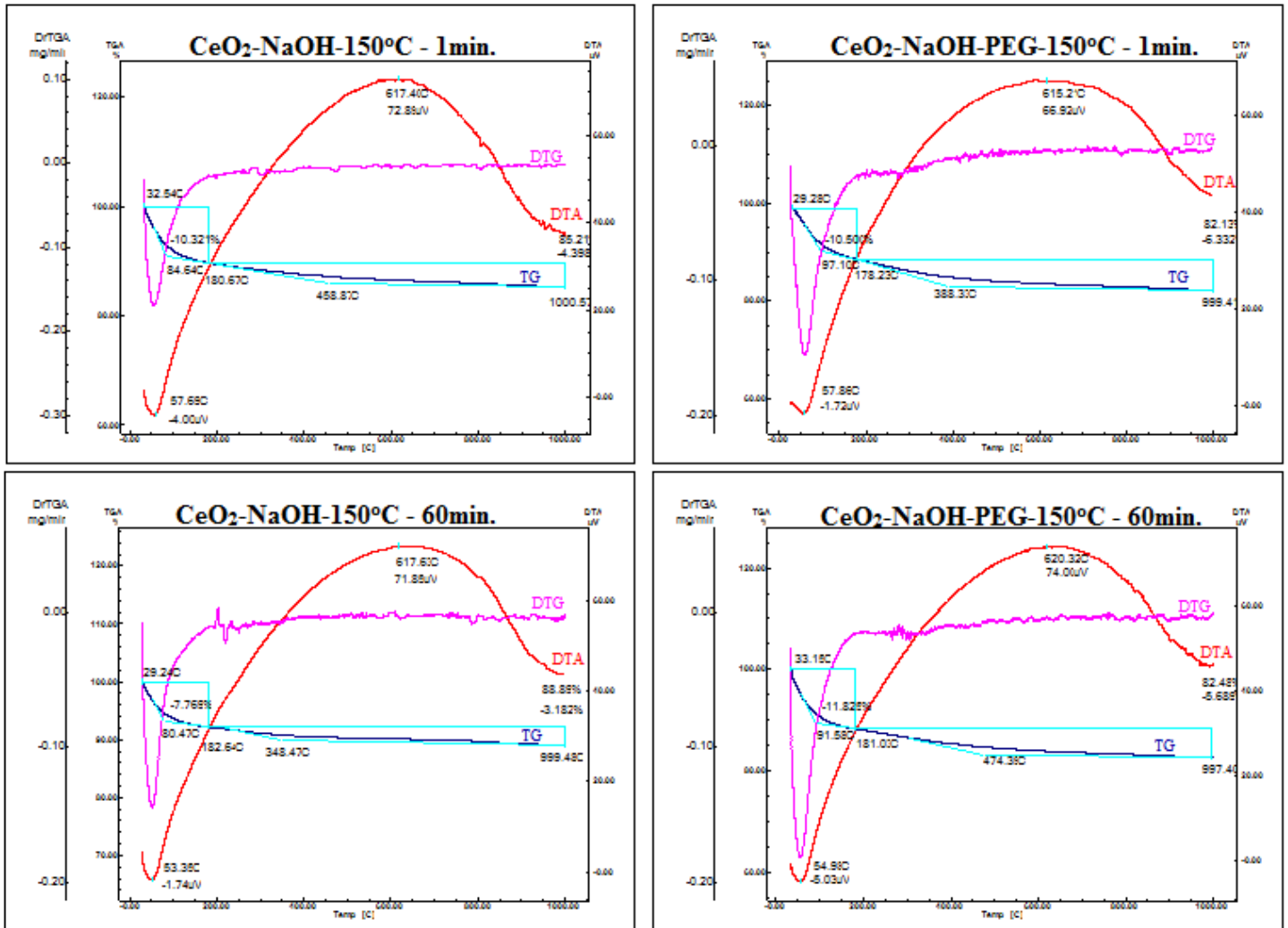


Figura 34 – Curvas de termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG) e de análise térmica diferencial (DTA) do sistema CeO₂ nas seguintes rotas de síntese: CeO₂-NaOH-150°C; CeO₂-NaOH-PEG-150°C.

Tabela 7 - Dados das curvas de análise térmica do sistema CeO₂ nas seguintes rotas de síntese: CeO₂-NaOH-150°C; CeO₂-NaOH-PEG-150°C.

Amostras	TG – Não isotérmica				DTA		
	Etapas	T _i ^a – T _f ^b / °C	T _{onset} °C	Δm ^c / %	Transição	T/ °C	
CeO₂ 150 °C/ 1 min	Sem PEG	1 st	33 - 181	85	10,4	Endo	58
		2 nd	181 - 1000	459	4,4	Exo	617
		Resíduo	-	-	85,2	-	-
	Com PEG	1 st	29 - 183	80	7,8	Endo	53
		2 nd	183 - 999	348	3,1	Exo	617
		Resíduo	-	-	88,9	-	-
CeO₂ 150 °C/ 60 min	Sem PEG	1 st	29 - 178	97	10,5	Endo	58
		2 nd	178 - 999	388	6,3	Exo	615
		Resíduo	-	-	82,1	-	-
	Com PEG	1 st	33 - 181	92	11,8	Endo	55
		2 nd	181 - 997	474	5,7	Exo	620
		Resíduo	-	-	82,4	-	-

As curvas TG, DTG e DTA de CeO₂, com e sem a adição de PEG 200, sintetizados nos tempos de 1 e 60 minutos (Figura 34 e Tabela 7), apresentaram duas etapas de perda de massa. A primeira etapa variou de 29 a 183 °C, sendo atribuída à saída de água e de alguns gases adsorvidos na superfície do material, com um pico endotérmico na curva de DTA, oscilando entre 53 e 58 °C. A segunda etapa, que ocorre no intervalo aproximado de 178 a 1000 °C, está associada a um pico exotérmico na curva de DTA, que variou de 615 a 620 °C, sendo atribuído à água coordenada ao cátion metálico e à quebras, por reação de oxidação, de cadeias orgânicas (FU et al, 2005).

5.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORBÂNCIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Tarte et al,(1990), na sua interpretação, afirmaram que os espectros vibracionais de um sólido devem ser considerados pelas propriedades de simetria das bandas vibracionais ou deve-se tentar relacionar as frequências das vibrações a átomos determinados ou a grupos de átomos.

Espectros, na região do infravermelho, do óxido de cério (IV), tratadas a 150 °C por método hidrotermal de micro-ondas, são apresentadas nas Figuras 35, 36, 37 e 38. As amostras obtidas, apresentaram bandas na região em torno de 1629 e 1100 cm^{-1} , atribuídas à vibração de deformação H-O-H e à presença de grupos hidroxilas. De acordo com a literatura (NAKAMOTO, 1997) é possível distinguir entre a água e a hidroxila devido a bandas de vibração de deformação na região por volta de 1600 cm^{-1} , para a água, enquanto o complexo hidroxila-metal M-OH exibe um modo vibracional em torno de 1100 cm^{-1} . Isto é uma evidência de uma grande quantidade de moléculas de água adsorvidas nas superfícies dos pós (PREDOANA et al, 2007).

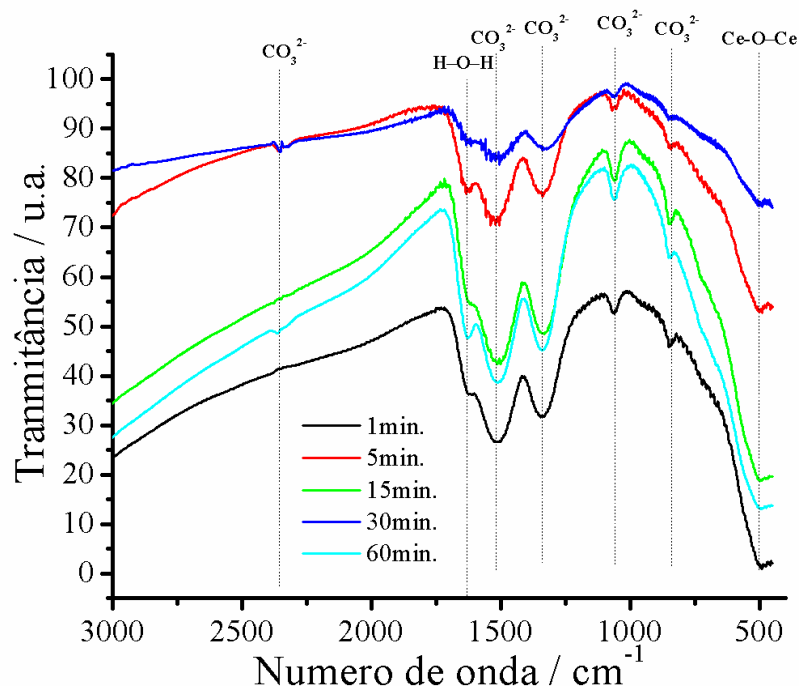


Figura 35 - Espectros de absorção na região do infravermelho do óxido de cério (IV): $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$.

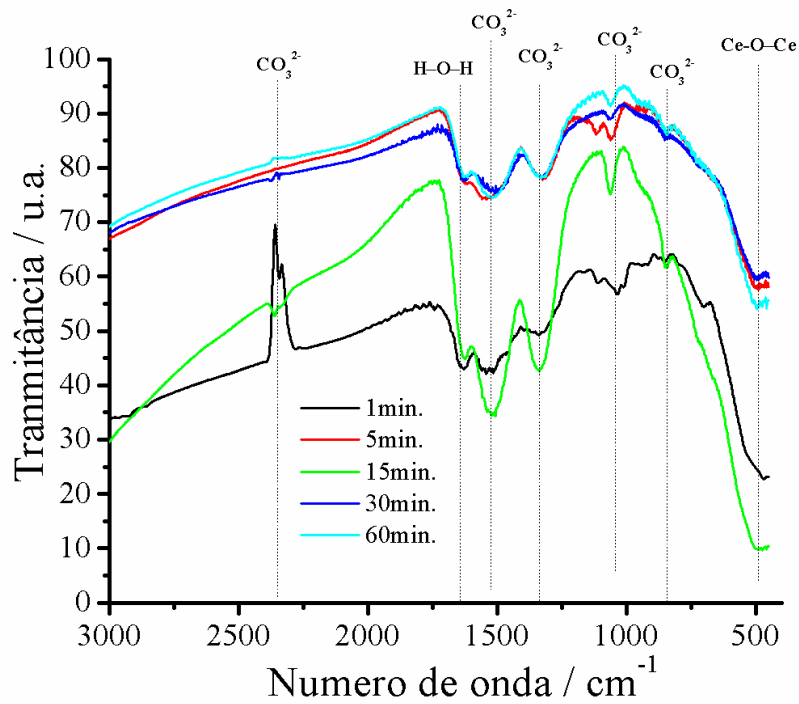


Figura 36 - Espectros de absorção na região do infravermelho do óxido de cério (IV) para o sistema: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-}150^\circ\text{C}$.

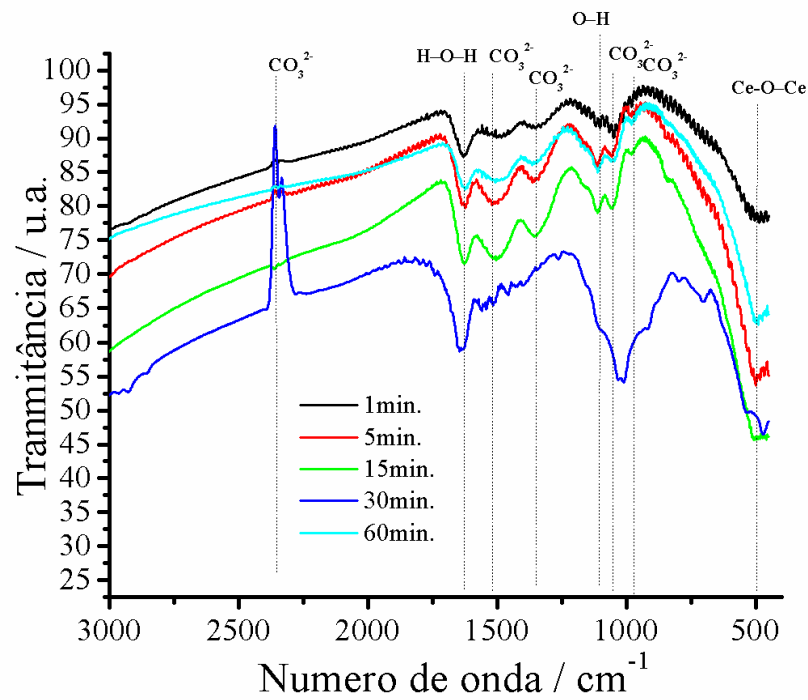


Figura 37 - Espectros de absorção na região do infravermelho do óxido de cério (IV) para o sistema: $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-}150^\circ\text{C}$.

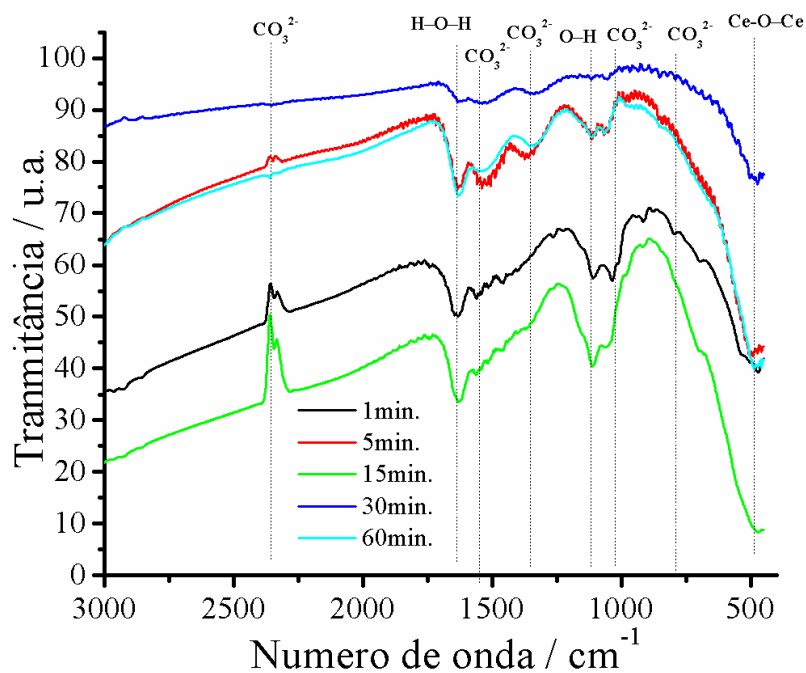


Figura 38 - Espectros de absorção na região do infravermelho do óxido de cério (IV) para o sistema: $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

Estudos mostram que bandas em torno 2350, entre 1320 e 1530 cm^{-1} (intensidade forte), entre 1040 – 1100 cm^{-1} (fraca), entre 800 – 890 cm^{-1} (entre fraca e média), e ainda entre 670 – 745 cm^{-1} (fraca ou podendo não aparecer), podem indicar a presença de carbonatos (em todas as amostras, independente da presença do PEG 200) (FINOS et al, 2012; NYQUIST et al, 1971).

Finos et al. (2012), pesquisaram grupos carbonato de superfície e constatou que o CeO_2 é capaz de formar grandes quantidades de espécies de carbonatos através da adsorção de CO_2 em diferentes pressões e pela dessorção com temperatura programada (a partir de 298 K), constatado através das análises de espectroscopia de infravermelhos, que mostraram a formação de diferentes tipos de carbonatos (incluindo bicarbonato). Acreditamos que tal comportamento possa explicar a presença das bandas referentes a carbonatos, nas amostras de CeO_2 , a partir dos resultados de infravermelho. Também relataram dois tipos de bicarbonato (ou carbonato de hidróxi) nas espécies de CeO_2 , com o nome, que se distinguem uns dos outros devido as diferentes regiões (para o CO_3) em torno de 1600 e 1396 cm^{-1} , respectivamente.

Em relação à vibração Me – O, observou-se a presença de uma banda de vibração entre 700 e 500 cm^{-1} , as quais não apresentaram maiores definições com a variação do tempo e com as condições de síntese. Essa banda de vibração foi atribuída aos modos vibracionais da óxido de cério (IV). O ponto de mínimo desta banda de vibração fica em torno de 580 cm^{-1} .

5.5 ESPECTROSCOPIA RAMAN DAS AMOSTRAS DE CeO_2

Os espectros Raman dos pós de CeO_2 , nas suas diferentes condições de sínteses, com ou sem PEG 200, na presença de NaOH ou NH_4OH , tratados a 150 $^\circ\text{C}$ nos tempos de 1, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos, são apresentados nas Figuras 39, 40, 41 e 42. Todos os sistemas apresentam, no espectros Raman, um pico principal em torno de 471 cm^{-1} , que pode ser atribuído a um único modo vibracional Raman, de primeira ordem, do Ce – O do óxido de cério (IV) na fase fluorita, que tem simetria F_{2g} e pode ser visto como um modo de forma simétrica, em torno dos átomos de oxigênio para cada metal (ARAÚJO et al, 2012; CABAÇO et al, 2007).

Os desvios para frequências maiores ou menores estão relacionadas, respectivamente, com menor ou maior cristalinidade do material (CABAÇO et al, 2007).

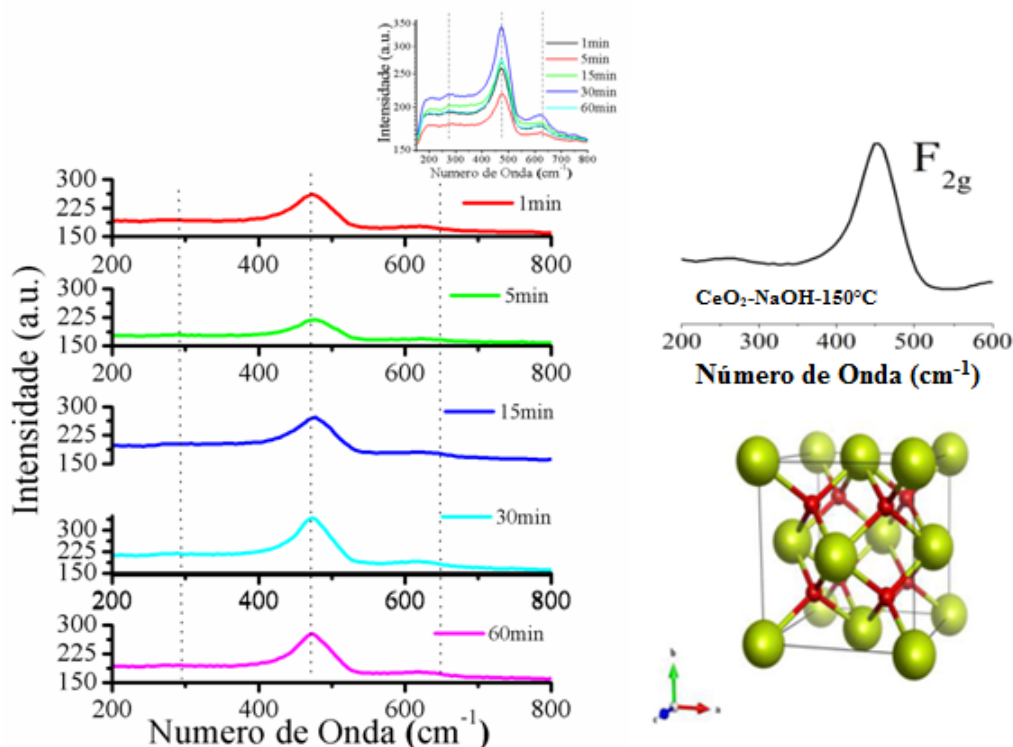


Figura 39 - Espectros Raman do CeO_2 para o sistema: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$.

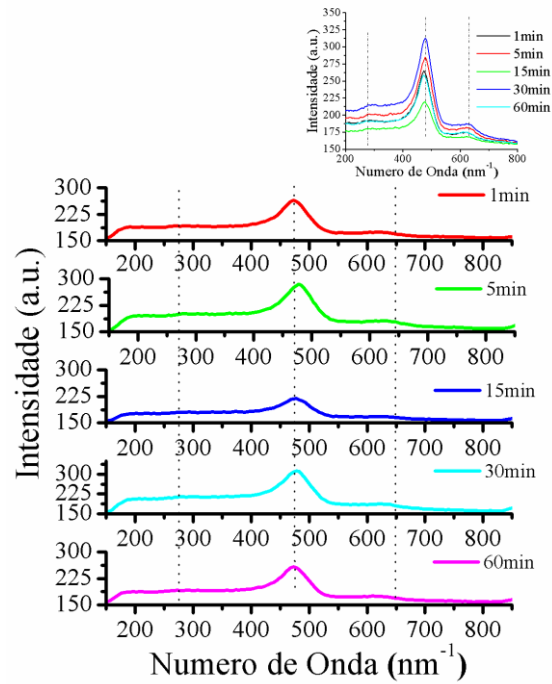


Figura 40 - Espectros Raman do CeO_2 para o sistema: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

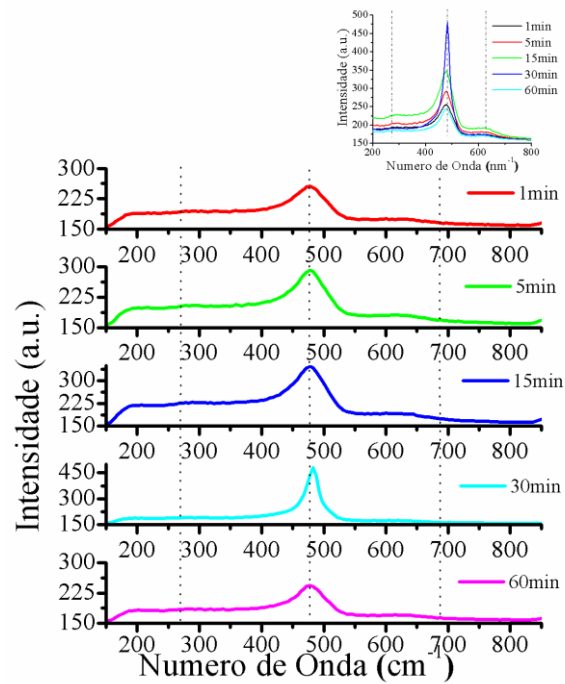


Figura 41 - Espectros Raman do CeO_2 para o sistema $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$.

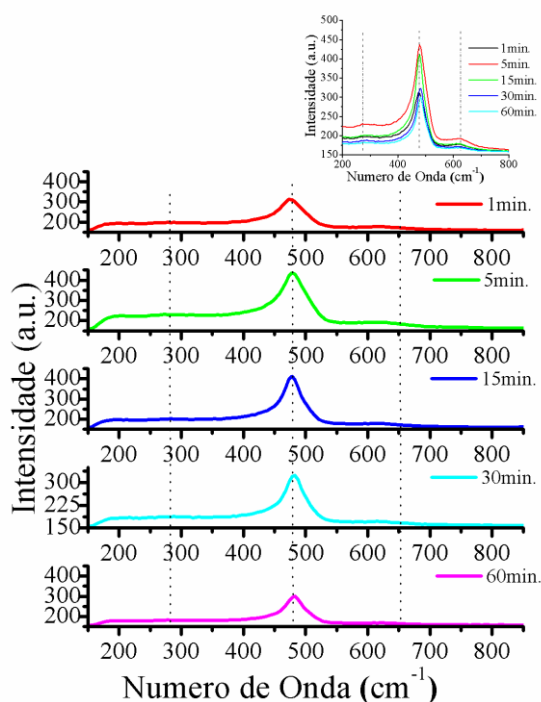


Figura 42 - Espectros Raman do CeO_2 para o sistema: $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

A Figura 39, para o sistema $\text{CeO}_2\text{ NaOH } 150^\circ\text{C}$, não mostrou uma significativa variação do espectro Raman do CeO_2 em função da evolução do tempo de exposição às micro-ondas, onde os espectros apresentaram um pico principal em torno de 471 cm^{-1} que pode ser atribuído ao modo vibracional do Ce – O, na fase fluorita, do óxido de cério (IV) (DEUS et al, 2013; SHENGYUE et al, 2001).

Observando a Figura 40, temos que, para o sistema $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$, verificou-se um deslocamento de pico que diminui de 475 cm^{-1} (nas amostras tratadas por 1min), para 469 cm^{-1} (para amostras tratadas por 60 min). Esse deslocamento em função do tempo de síntese foi devido a uma diminuição no tamanho do cristalito da amostra, conforme indicado pelos difratogramas de raio X apresentados.

Esses picos principais, nos dois primeiros sistemas (figuras 39 e 40), mostraram uma tendência em diminuir sua intensidade com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas, apresentando maior cristalinidade.

A Figura 41 mostrou uma evolução do espectro Raman do CeO_2 puro, para o sistema $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$, nos seus diferentes tempos de síntese e apresentou um pico principal em torno de 471 cm^{-1} , atribuído ao modo vibracional do Ce – O do óxido na fase cúbica. Na observação mais detalhada dessa figura, verificou-se que a frequência do pico principal, sofreu um aumento com a evolução do tempo de exposição das micro-ondas, iniciando em

470 cm^{-1} (nas amostras com menores tempos de síntese) até 475 cm^{-1} para amostras de maiores tempos de síntese. Esse deslocamento, observado com a evolução do tempo de síntese, juntamente com um leve estreitamento da banda, foi devido ao aumento no tamanho do cristalito da amostra, conforme indicado pelos resultados das análises de raio X.

A Figura 42 apresentou um comportamento semelhante ao sistema anterior, porém as frequências dos picos principais sofreram um aumento com a evolução do tempo de exposição das micro-ondas, iniciando em 472 cm^{-1} (nas amostras com menores tempos de síntese), até 478 cm^{-1} , para amostras com maiores tempos de síntese. Esse deslocamento, mais uma vez, foi atribuído ao aumento no tamanho do cristalito da amostra, conforme indicado por difratometria de raio X.

Outras regiões em torno das frequências de 270, 315, 630 cm^{-1} são referenciadas, sendo observadas para todos os sistemas e foram referenciadas aos modos vibracionais atribuídos à presença de vacâncias de oxigênio na rede do CeO_2 e a quebra de simetria (WEBER et al, 1993; SHENGYUE et al, 2001, ARAÚJO et al 2012).

5.5.1 Desordem a curto alcance

Ruschel et al. (2012) citam que variações nos espectros, como mudanças de faixa na desordem a curto alcance, perdas de intensidade e, às vezes assimetrias de banda, são típicas de uma diminuição da ordem de curto alcance. Por isso, tais mudanças, podem indicar, mas não necessariamente verificar, o acúmulo de defeitos na estrutura do material.

Todas as amostras de óxido de cério (IV) sintetizadas apresentaram comportamentos semelhantes, quanto à organização a curto alcance, referentes a banda absorvida de maior intensidade do espectro. Esses resultados indicaram possíveis distorções na estrutura da óxido de cério (IV). E os resultados de desordem a curto alcance, são apresentados na Figura 43:

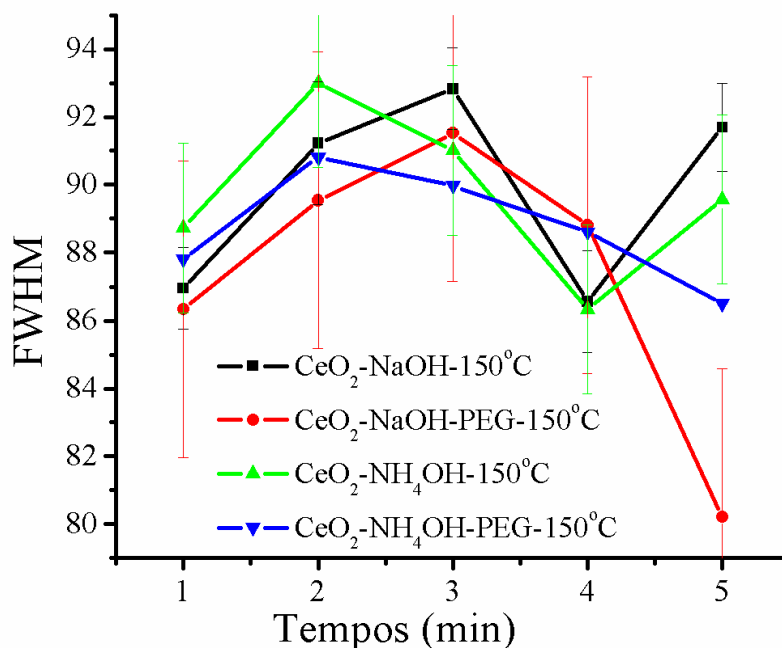


Figura 43 - Resultados de FWHM (Raman).

Comparando os resultados experimentais de desordem a curto alcance, para as rotas de sínteses apresentadas, com seus diferentes tempos de exposição às micro-ondas, observou-se as seguintes variações de FWHM (Raman) :

✓ CeO₂ NaOH 150°C: observou-se, entre todos os tempos de sínteses apresentados para esse sistema, uma maior organização para o tempo de exposição de 30 minutos, porém nos outros intervalos, houve uma tendência de desordem ao longo do tempo.

✓ CeO₂ NaOH PEG 150°C: Observou-se a maior coerência de ordem a curto alcance, em comparação com as demais rotas de síntese, onde o melhor resultado, ocorreu com tempo de exposição de 60 minutos.

✓ CeO₂ NH₄OH 150°C e CeO₂ NH₄OH PEG 150°C: Comportamentos semelhantes foram observados nos dois sistemas, onde, diferenciam-se, apenas, quanto aos menores resultados de FWHM, do sistema CeO₂ NH₄OH PEG 150°C, apresentado no tempo de exposição de 60 minutos.

5.6 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL

O estado de oxidação, localização dos íons de cério nos sítios da rede e o band gap (E_g) ótico das partículas de CeO_2 foram avaliados pelos espectros de absorção na região do ultravioleta visível, nas suas diferentes condições de sínteses, com ou sem PEG 200, na presença de NaOH ou NH_4OH , tratados a 150°C nos tempos de 1, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos, sendo apresentados nas Figuras 44, 45, 46 e 47, na Tabela 8 e nas Figuras 48 (a), (b) e 49 (a) e (b), respectivamente.

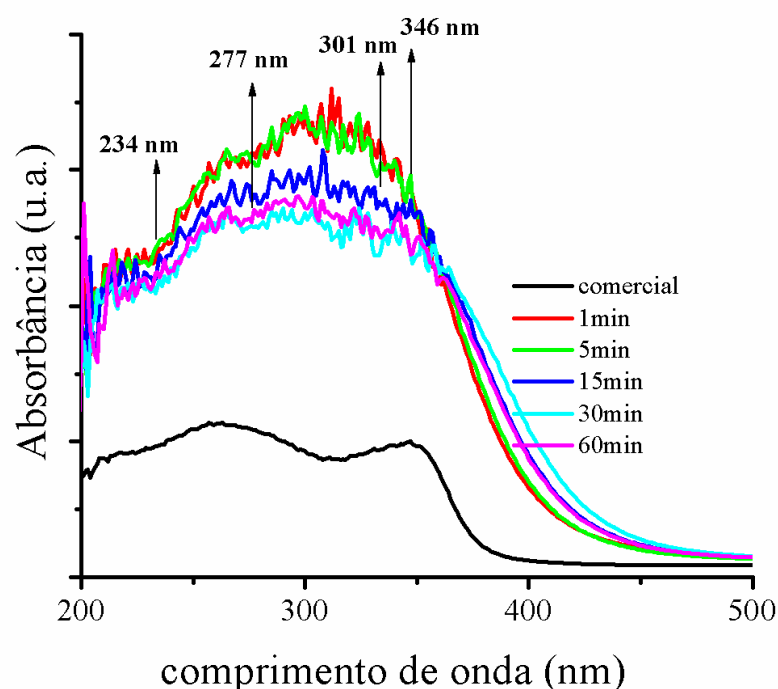


Figura 44 - Espectros na região do UV-visível, do sistema CeO_2 , na seguinte rota de síntese: CeO_2 -NaOH- 150°C .

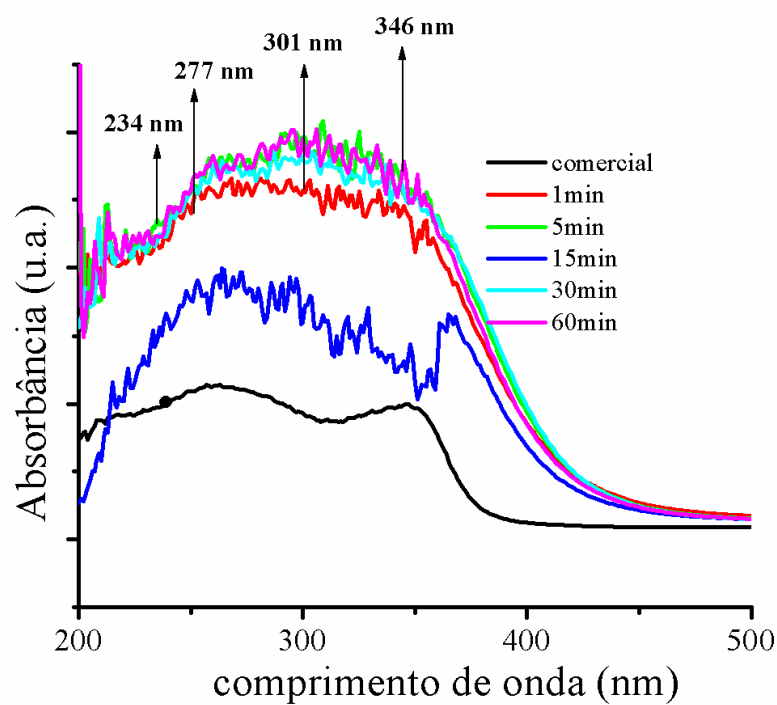


Figura 45 - Espectros na região do UV-visível, do sistema CeO_2 , na seguinte rota de síntese: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

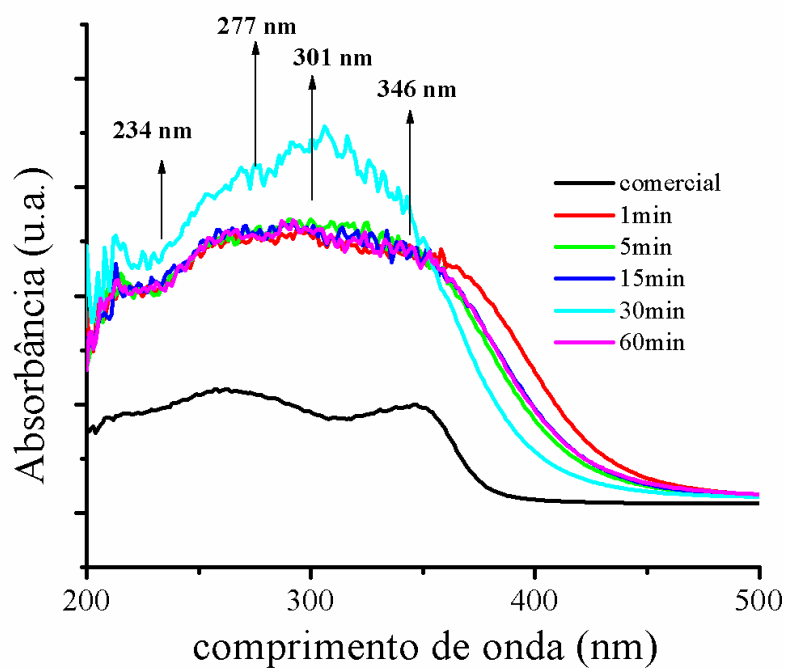


Figura 46 - Espectros na região do UV-visível, do sistema CeO_2 , na seguinte rota de síntese: $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$.

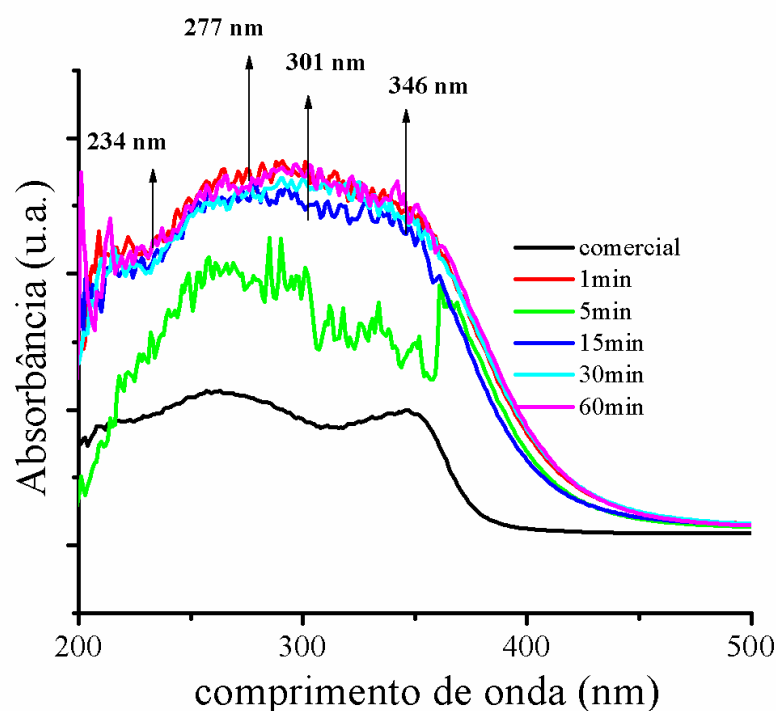


Figura 47 - Espectros na região do UV-visível, do sistema CeO₂, na seguinte rota de síntese: CeO₂-NH₄OH-PEG-150°C.

Rao et al. (2001) observaram três bandas de absorção nas regiões de 234, 277 e 301 nm que referem-se as transições de transferência de carga do tipo $Ce^{3+} \leftarrow O^{2-}$, envolvendo íons de Ce^{4+} com diferentes números de coordenação. A região de 301 nm, também foi atribuída a uma transição interbanda de CeO₂. Eles referem-se ainda a uma região em torno de 600 nm que são relativas à transferência de carga $Ce^{3+} \rightarrow Ce^{4+}$ e que normalmente é utilizada como indicador do grau de redução do óxido como um importante dispositivo de acúmulo ou liberação de oxigênio.

Os espectros de absorção das amostras de óxido de cério (IV), estudados na literatura (WANG, 2007), exibiram duas bandas de absorção em, aproximadamente, 277 e 346 nm na região do ultravioleta (UV), provenientes de transições eletrônicas, envolvendo os estados ($4f^1$) Ce^{3+} e ($4f^0$) Ce^{4+} presentes nas amostras. A banda de absorção em 277 nm também indica a presença de defeitos de Ce^{3+} nas amostras (ESCRIBANO et al, 2006; MISHRA et al, 2006). Todos os valores, de absorções, obtidos para os sistemas, envolvendo óxido de cério (IV) (CeO₂), foram próximos dos relatados na literatura, sendo apresentados na Tabela 8:

Tabela 8 - Bandas de absorção (nm) na região do UV-visível atribuídas ao sistema CeO₂.

Amostra	Posição da Banda (nm)	Atribuições
CeO ₂	234	Ce ³⁺ ← O ⁻² T.T.C.
	277	Ce ³⁺ ← O ⁻² T.T.C.
	301	Transição Interbanda
	346	Ce ⁴⁺ ← O ⁻² T.T.C.
	346	Transição Interbanda

T.T.C - Transição de transferência de cargas.

O band gap (E_g) ótico das partículas de CeO₂ foram avaliados pelos espectros de absorção na região do visível, nas suas diferentes condições de sínteses, com ou sem PEG 200, na presença de NaOH ou NH₄OH, tratados a 150°C nos tempos de 1, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos, sendo apresentados nas Figuras 47 (a), (b) e 48 (a) e (b), respectivamente. Os gráficos normalizados de $(\alpha h\nu)^2$ pela energia do fóton das partículas de CeO₂ são mostrados a seguir:

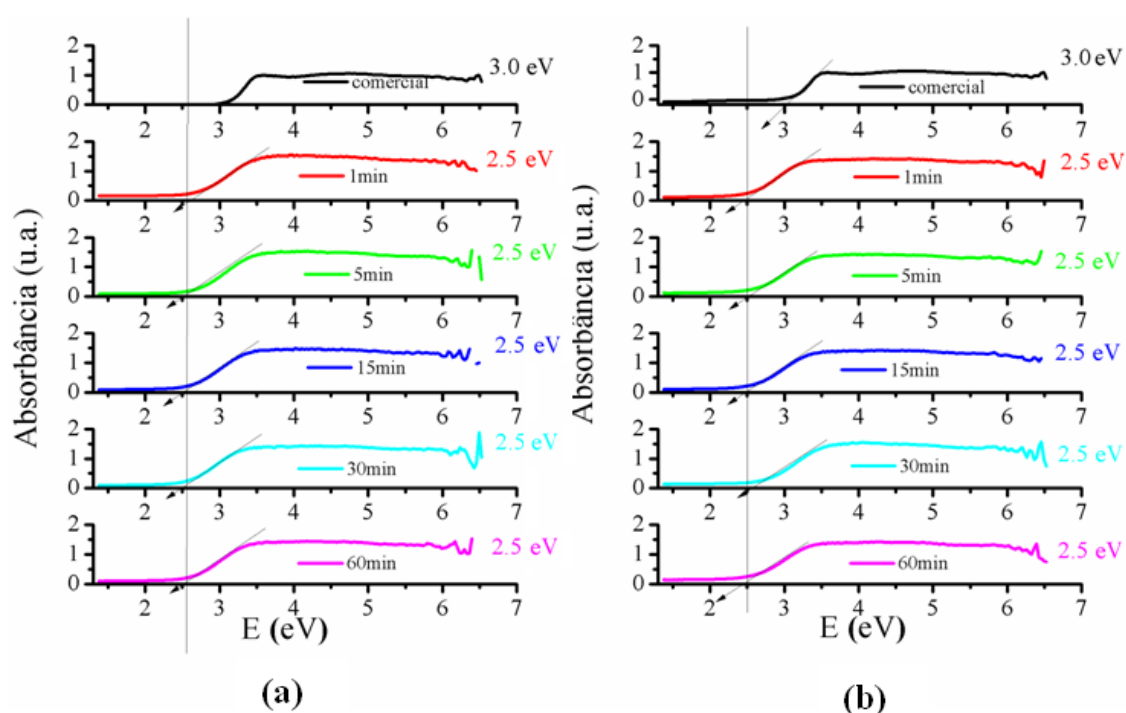


Figura 48 - Espectros na região do UV-visível (valor do gap), do sistema CeO₂, nas seguintes rotas de síntese: (a) CeO₂-NaOH-150°C; (b) CeO₂-NaOH-PEG-150°C.

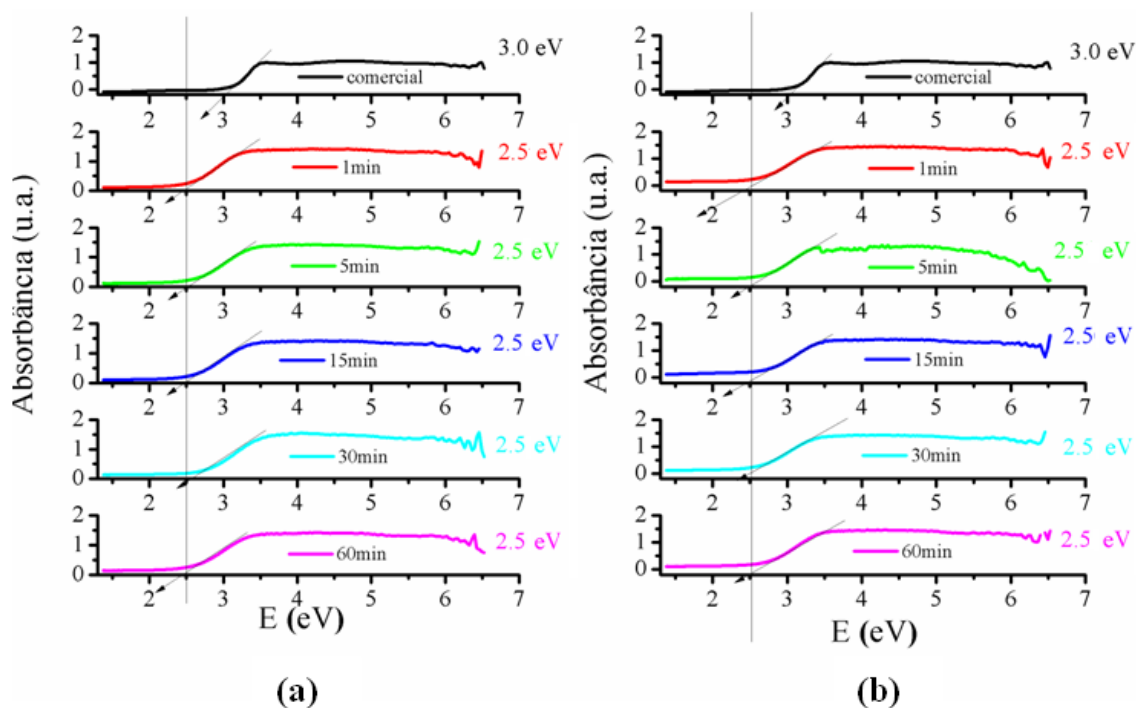


Figura 49 - Espectros na região do UV-visível (valor do gap), do sistema CeO_2 nas seguintes rotas de síntese: (a) $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$ e (b) $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

O valor do gap estimado para o CeO_2 comercial, apresentados nas Figuras 48 (a), (b) e 49 (a) e (b), foi de, aproximadamente, 3,0 eV, enquanto que as fluoritas sintetizadas apresentaram um pequeno deslocamento para menores energias, levando a um gap da ordem de 2,5 eV, que é atribuído ao tamanho das partículas, promovendo uma maior quantidade de defeitos estruturais e quebra na simetria (ARAÚJO et al, 2012).

5.7 Avaliação Morfológica das Nanopartículas

Muccillo et al. (2005), relataram a influência dos diferentes métodos de sínteses na obtenção das mais variadas morfologias (angular, lamelar, esferoidal, etc...) de partículas/aglomerados de CeO_2 .

Imagens de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-AR), para as amostras em estudo, são apresentadas nas figuras 50, 51 e 52 e 53 a seguir:

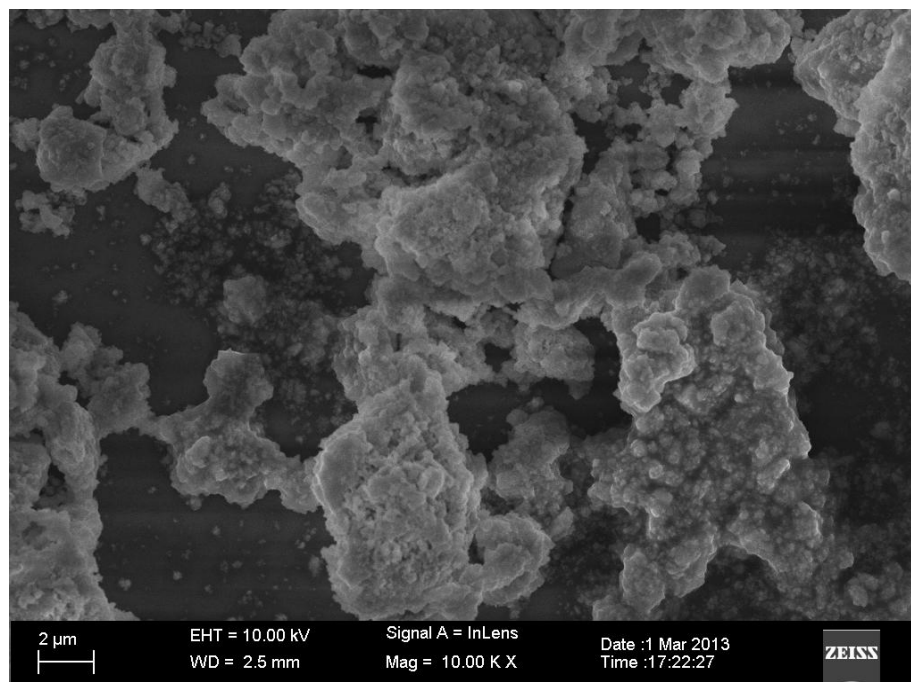


Figura 50 - Microscopia eletrônica de varredura do sistema CeO_2 na seguinte rota de síntese: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$.

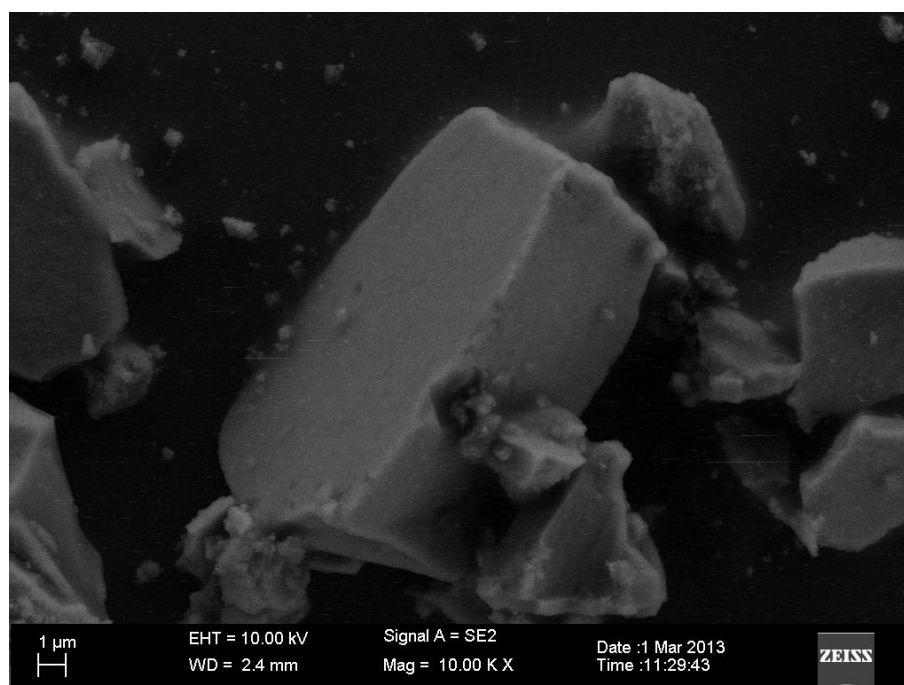


Figura 51 - Microscopia eletrônica de varredura do sistema CeO_2 na seguinte rota de síntese : $\text{CeO}_2\text{-NaOH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

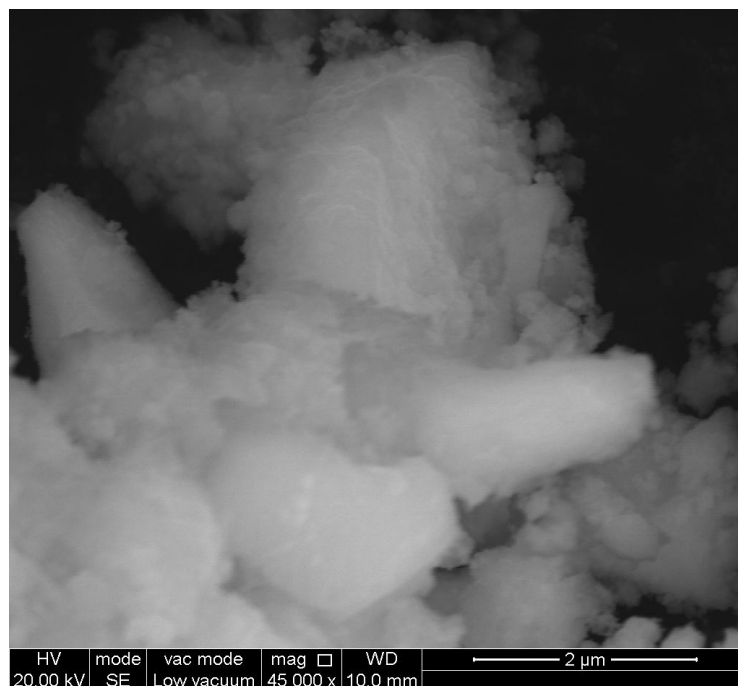


Figura 52 - Microscopia eletrônica de varredura do sistema CeO_2 nas seguinte rota de síntese:
 $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-150}^\circ\text{C}$.

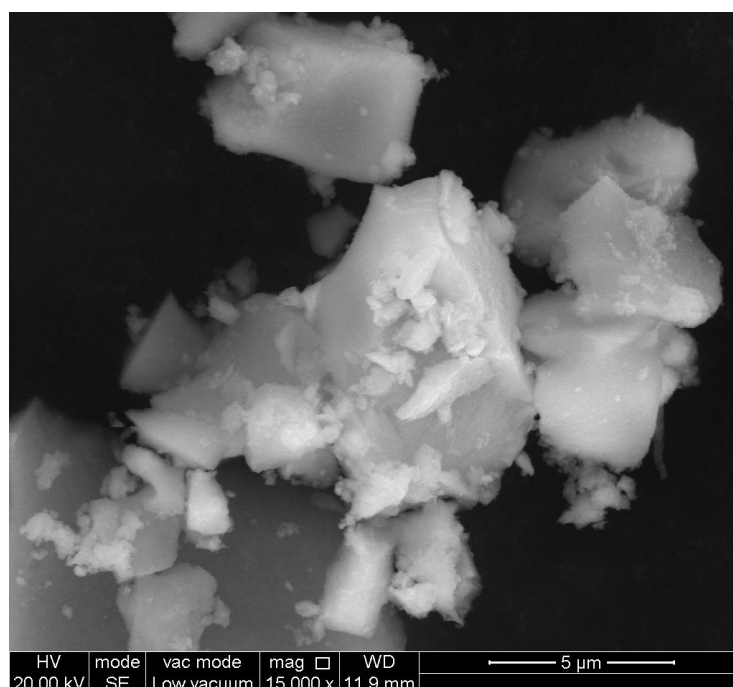


Figura 53 - Microscopia eletrônica de varredura do sistema CeO_2 na seguinte rota de síntese:
 $\text{CeO}_2\text{-NH}_4\text{OH-PEG-150}^\circ\text{C}$.

As micrografias, referente as Figuras 50, 51 e 52 e 53, revelaram vários tamanhos e formas irregulares de aglomerados (em escalas nanométricas e micrométricas), podendo ser atribuídos à influência das Forças de van der Waal (J. YOO, et al, 1999).

Para as sínteses, envolvendo o polietilenoglicol 200, observou-se a presença de morfologias semelhantes às estruturas tetragonais (Figuras 40 e 42). Esse fato nos oferece uma indicação da influência do template no crescimento direcionado do aglomerado de partículas.

A partir dos resultados de microscopia de transmissão eletrônica de alta resolução (MET-AR), apresentadas nas Figuras 54, 55 (a) e (b), 56 (a) e (b), 57 (a) e (b), 58 (a) e (b), para todas as amostras analisadas, foram observadas partículas esféricas e aglomeradas:

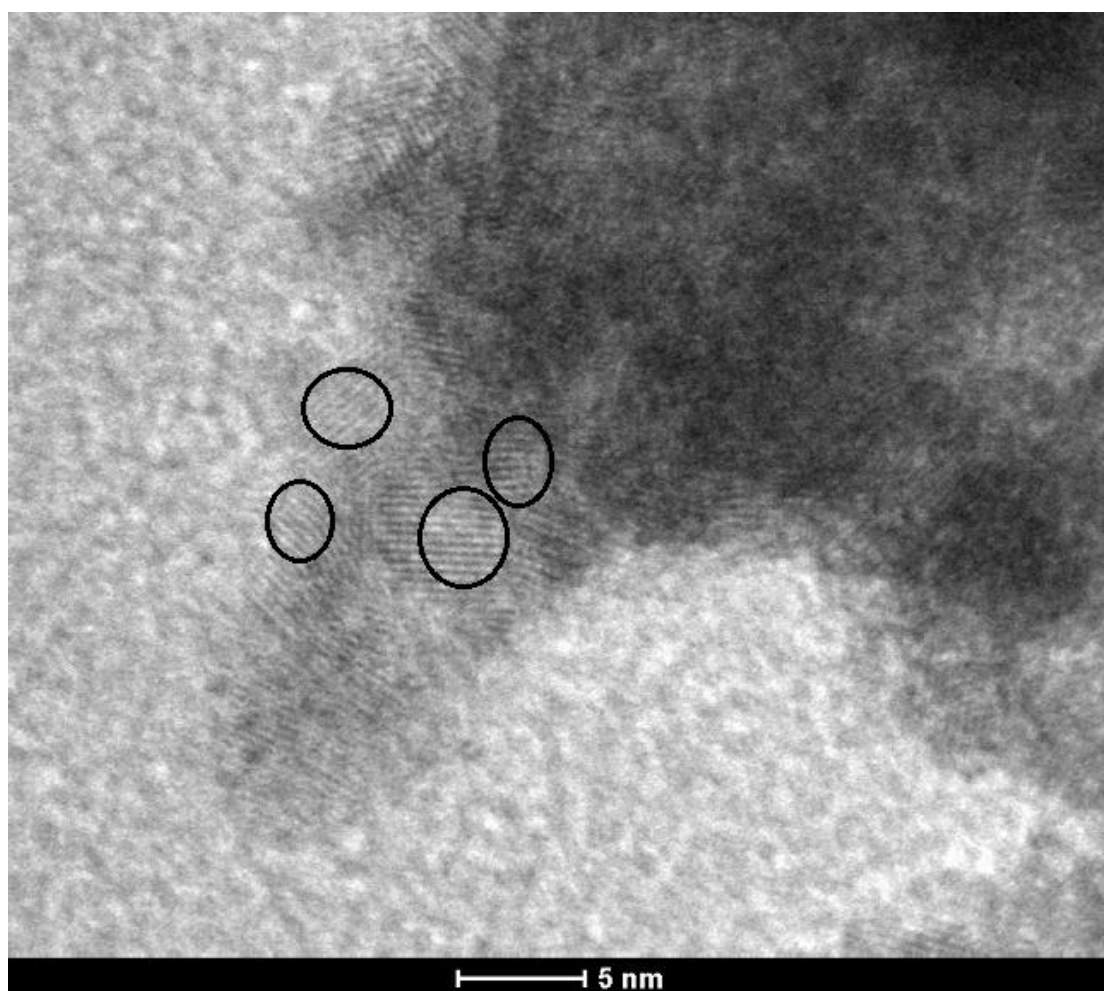
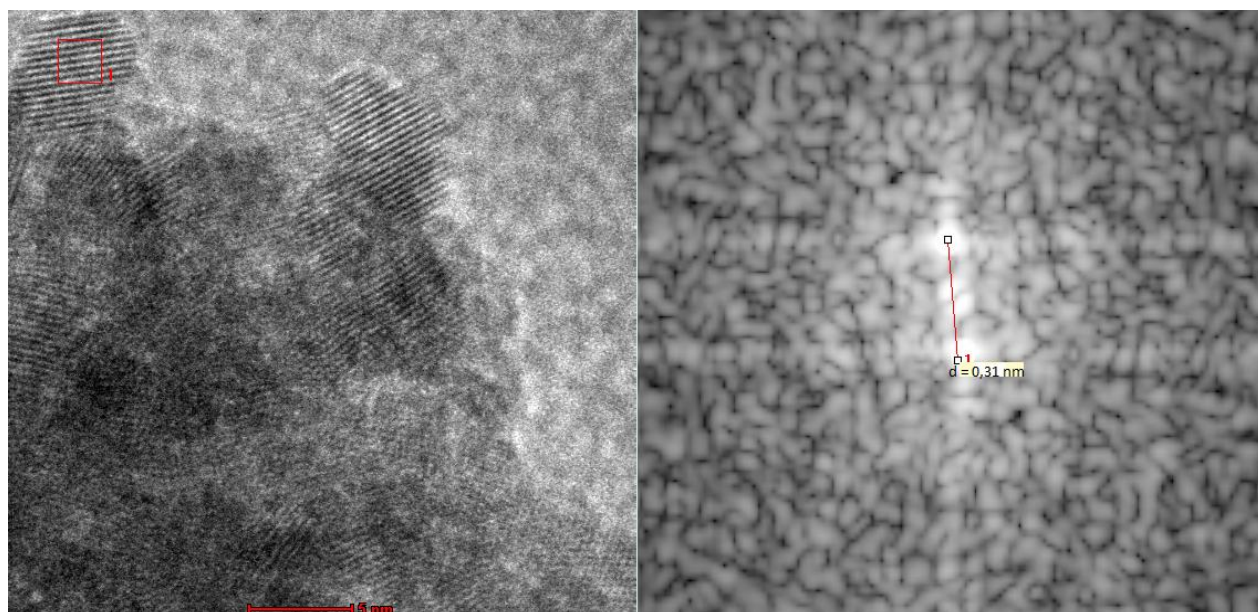


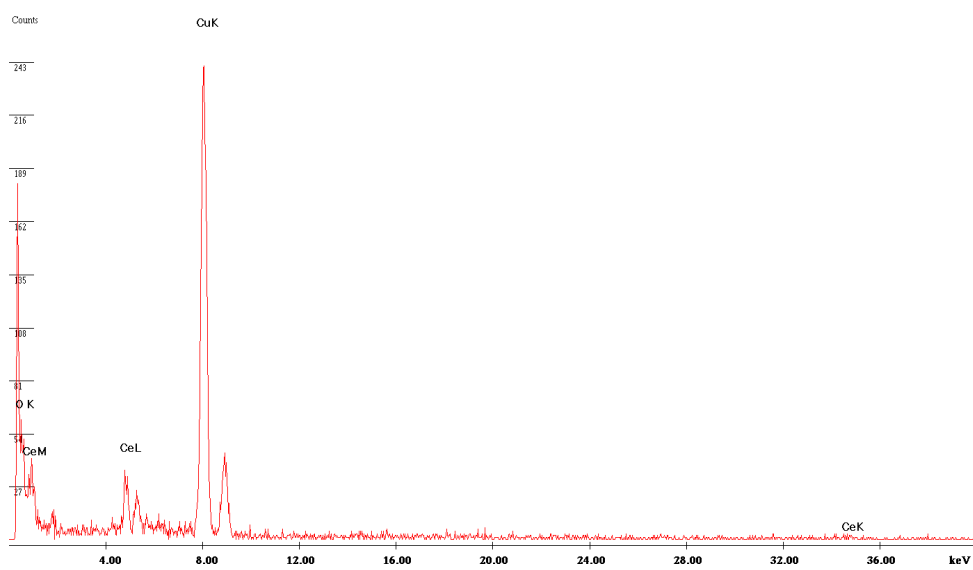
Figura 54 - Microscopias eletrônicas de varredura para os sistema de CeO_2 : (a) CeO_2 -NaOH- 150°C .



C:\Documents and Settings\supervisor\My Documents\Usuarios\ledal10\eds.spc

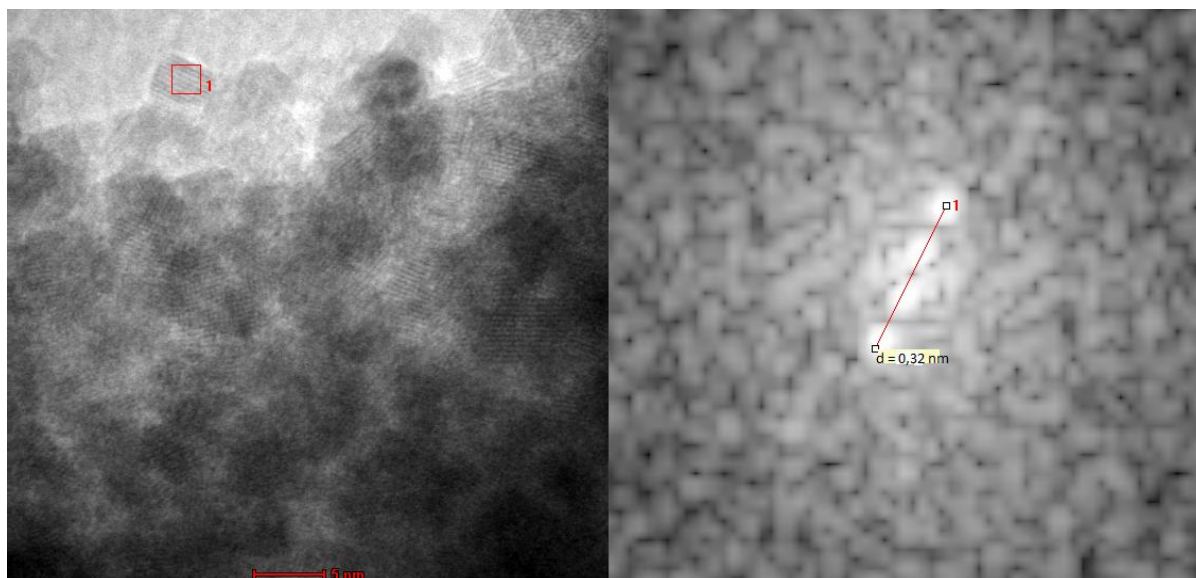
(a)

Label A: Chlorite (Nrm.%= 38.86, 20.96, 34.83, 1.14, 3.84, 0.20)



(b)

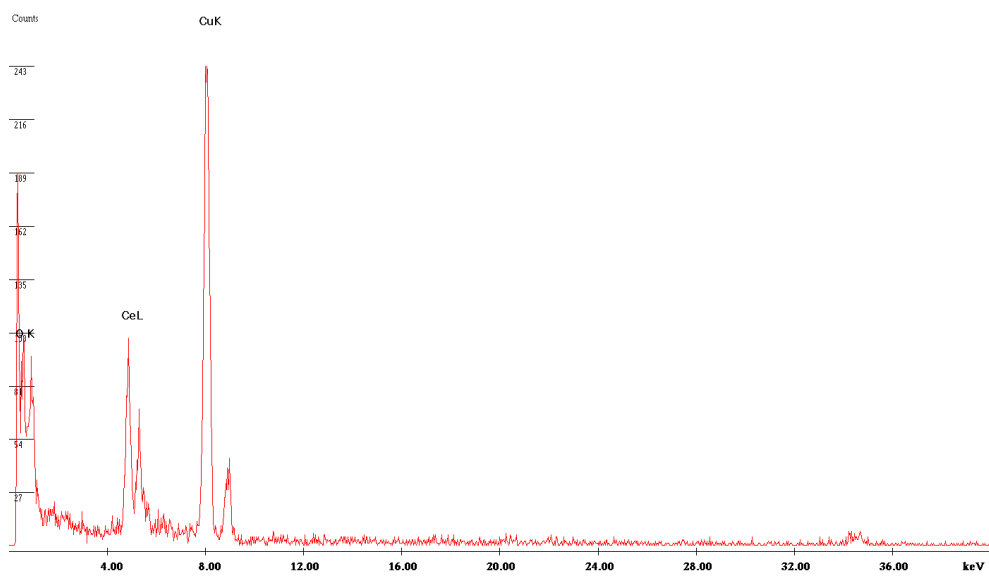
Figura 55- Microscopias eletrônicas de varredura com sua respectiva distância interplanare (a) e o resultado de EDS(b) para o CeO_2 na seguinte rota de síntese: $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$.



C:\Documents and Settings\supervisor\My Documents\Usuarios\leda16\EDS.spc

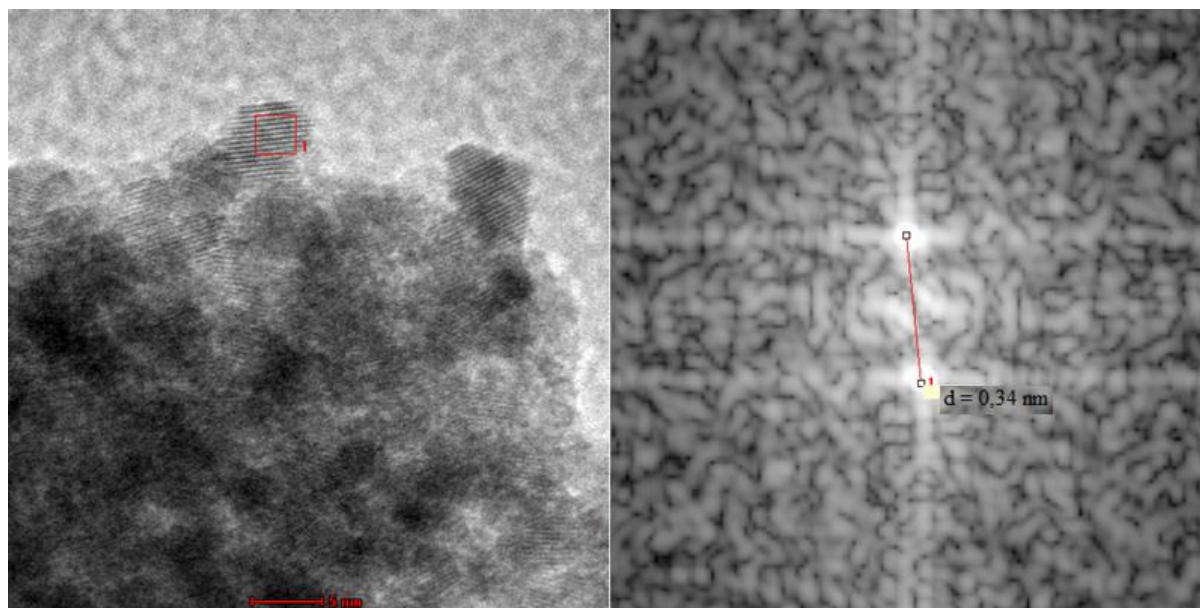
(a)

Label A: EDS



(b)

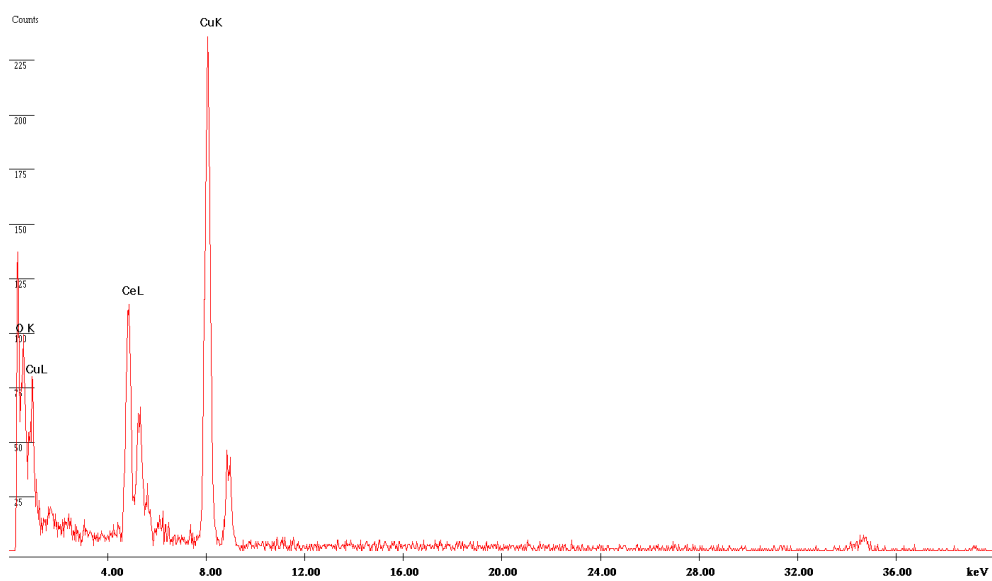
Figura 56 - Microscopias eletrônicas de varredura com sua respectiva distância interplanare (a) e resultado de EDS (b) para o CeO_2 com a seguinte rota de síntese: CeO_2 - NaOH -PEG- 150°C .



C:\Documents and Settings\supervisor\My Documents\Usuarios\ledal20\EDS.spc

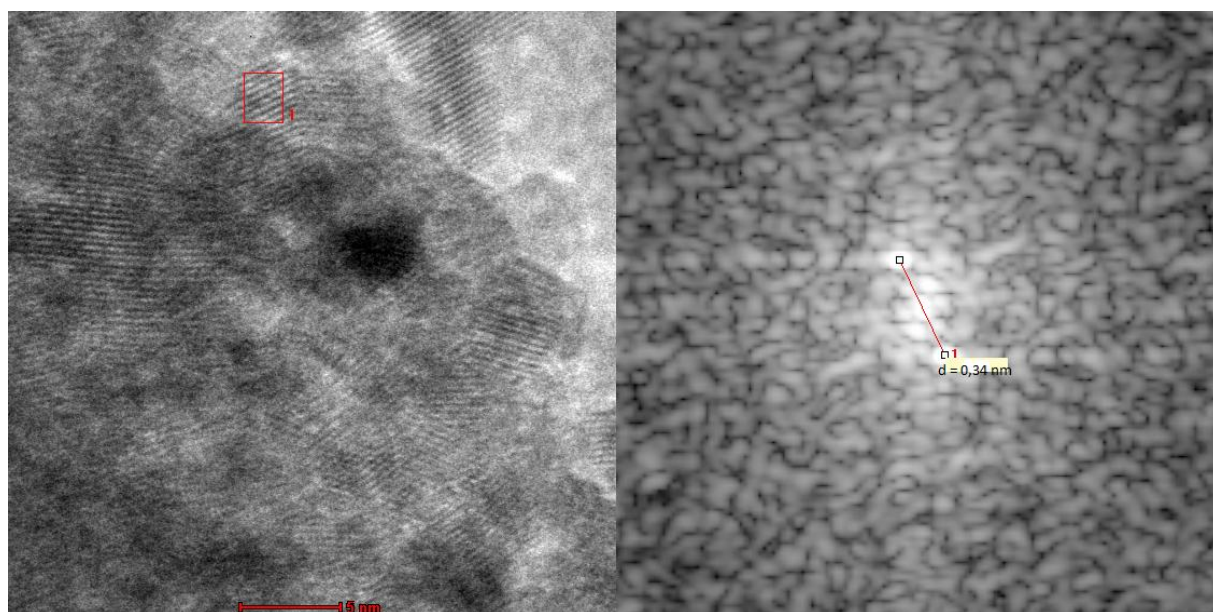
(a)

Label A: EDS



(b)

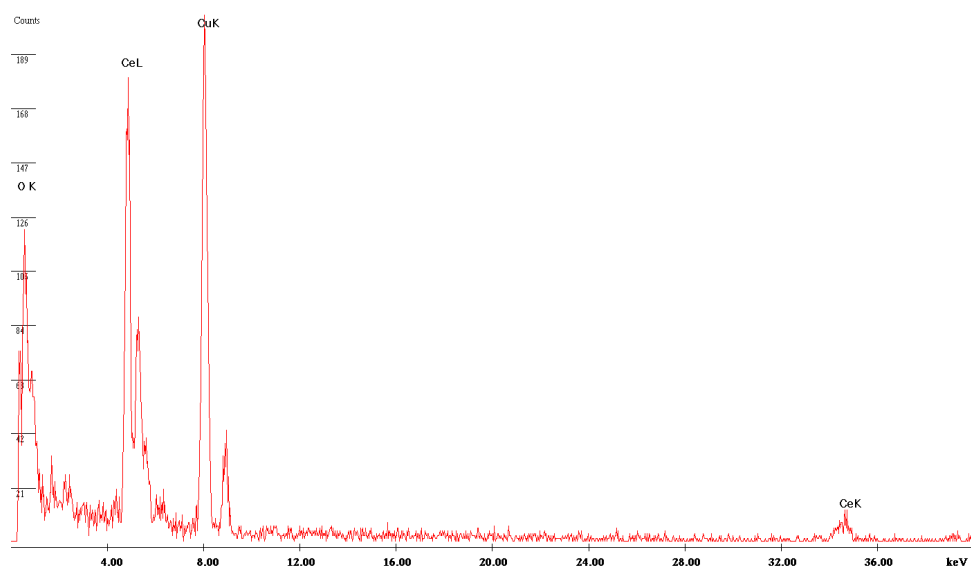
Figura 57 - Microscopias eletrônicas de varredura com sua respectiva distância interplanar (a) e resultado de EDS (b) para o CeO_2 com a seguinte rota de síntese : CeO_2 - NH_4OH - 150°C .



C:\Documents and Settings\supervisor\My Documents\st\Usarios\ledat15\EDS.spc

(a)

Label A: EDS



(b)

Figura 58 - Microscopias eletrônicas de varredura com sua respectiva distância interplanar (a) e resultado de EDS (b) para o CeO_2 com a seguinte rota de síntese : CeO_2 - NH_4OH -PEG- 150°C .

Os valores de tamanho médio de cristalito foram também confirmados por investigações de microscopia de transmissão eletrônica. A imagem panorâmica do MET (Fig. 54 b) mostram nanopartículas, de tamanhos uniformes e formas arredondadas, da ordem de 5 nm. (apesar da aglomeração apresentada anteriormente nas análises de MEV-AR).

Esses resultados confirmam que essas aglomerações são constituídas de pequenas partículas, com diâmetro que variam entre 3 e 7 nm, com distâncias interplanares da ordem de 0,31 nm (Figura 55), que, segundo a literatura são referentes ao o plano de menor energia (111) (DEUS et al 2013).

A partir das micrografias para os sistemas de CeO₂, Figuras 54, 55 (a) e (b), 56 (a) e (b), 57 (a) e (b), 58 (a) e (b), verificou-se que o tamanho do grão de CeO₂ não apresentou um aumento significativo com a evolução do tempo de exposição às micro-ondas e ,além disso, todos os sistemas apresentaram semelhantes distribuições dos tamanhos de grãos.

A claridade dos grãos, nas imagens estudadas , Figuras 57 (a) e 58(a), possuem aspectos esponjosos, característico de pequenas partículas, também confirmada através dos resultados de BET (Tabela 5), que mostraram altas áreas superficiais.

Nas análises de BET, as partículas que mais contribuíram, para o resultado de área superficial, foram as de menores dimensões. Assim, as análises de microscopia eletrônica de transmissão corroboram com os resultados de BET para confirmação dessas partículas como nanométricas.

As medições de EDS, em todas os sistemas (em diferentes pontos), deram os mesmos padrões, comprovando a homogeneidade das amostras. Estes resultados mostraram, através das Figuras 55 (b), 56 (b), 57 (b), 58 (b), que o óxido de cério sintetizado, a partir dos vários sistemas empregados nesse trabalho, é o CeO₂.

5.8 ATIVIDADE ANTI MICROBIANA DO SISTEMA CeO₂

5.8.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os testes de avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram realizados usando-se a técnica da macrodiluição. A presença de bactérias viáveis foi verificada, inicialmente, pelo teste colorimétrico da Resazurina (Sigma-Aldrich), aplicando-se 20 µL da solução aquosa a 0,01% como indicador colorimétrico de oxirredução para caracterizar a viabilidade celular.

A leitura realizada de forma visual foi observada pela mudança da cor azul (original da resazurina) para rosa, caracterizando a redução desse corante nas cavidades onde havia viabilidade bacteriana. Nos poços onde a cor permaneceu azul, não houve redução do corante, indicando inviabilidade bacteriana, podendo-se, desta forma, determinar a CIM, ou seja, a menor concentração de um produto capaz de inibir o crescimento microbiano.

As análises foram feitas em triplicata e mostraram que, semelhante aos grupos G5 e G6 (grupos com ação já conhecida), grupos com diferentes concentrações de óxido de cério (IV) (Tabela 2), apesar das interferências consideradas e observadas no experimento, como variações de tons roseos e azuis, promovidas pelo corante resazurina, causadas por diferentes agentes externos, também apresentaram atividade antimicrobiana frente à bactéria *S. mutans*, como mostrado nos resultados a seguir (Tabelas 9):

Tabela 9 - Teste colorimétrico de atividade antimicrobiana das diluições frente a *S. mutans*.

Diluições	(em µg/mL)	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
(1:1)	1,8	-	-	-	-	-	-	-	+
(1:2)	0,9	-	-	-	-	-	-		
(1:4)	0,45	-	-	-	-	-	-		
(1:8)	0,22	-	-	-	-	-	-		
(1:16)	0,11	+	-	-	-	-	-		
(1:32)	0,05	+	+	+	-	-	+		

(+) – crescimento bacteriano identificado com auxílio da resazurina pela coloração azul.

(-) – ausência de crescimento bacteriano identificado com auxílio da resazurina pela coloração rósea.

Nos testes realizados, para os grupos G1 a G4, contendo óxido de cério (IV) nanométrico (G7 e G8 são apenas os controles), referidos na Tabela 2, foram observados que a redução do corante resazurina, para a cor azul, cai progressivamente no sentido da direita para a esquerda, conforme a Figura 59, mostrando que a intensidade dessa cor observada, em cada teste realizado, é diretamente proporcional a concentração e a ação bactericida observadas de cada grupo. Um comportamento semelhante foi observado para os grupos, contendo óxido de cério (IV), que tiveram sua concentração e ação bactericida seguindo a mesma tendência.

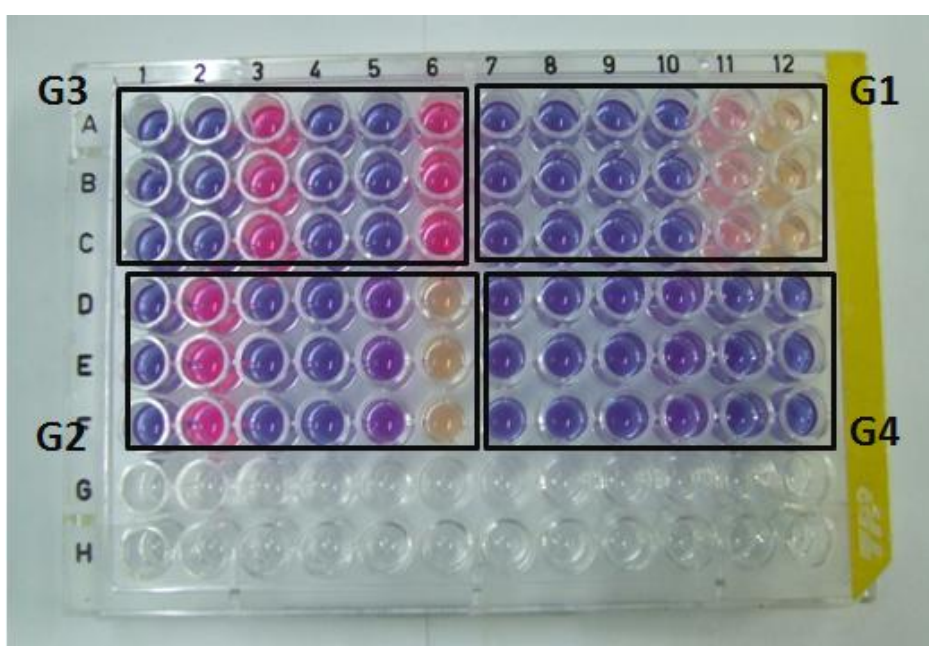


Figura 59 - Prova da Resazurina realizada para, apenas, os grupos contendo óxido de cério (IV) (G1, G2, G3 e G4).

Nos testes envolvendo óxido de cério (IV), Tabela 2 e Figura 59, a presença da coloração róseo no poço 3 do grupo G3, ou no poço 2 do grupo G2, não interferem na interpretação geral dos dados, confirmando portanto atividade antimicrobiana do nanomaterial. A coloração rósea, nos casos envolvendo óxido de cério (IV) (grupos 1 a 4), pode ter diferentes origens, justificando análises complementares como fluorescência e absorvância.

5.8.2 Fluorescência

O uso dos corantes combinados permitiram a determinação da concentração de bactérias vivas e mortas, e acrescentaram mais uma variável na compreensão do óxido de cério (IV), com suas diferentes concentrações (G1, G2, G3 e G4), conforme Tabela 2, como agente antimicrobiano frente à bactéria *S. mutans*. Esses resultados são mostrados na Figura 60.

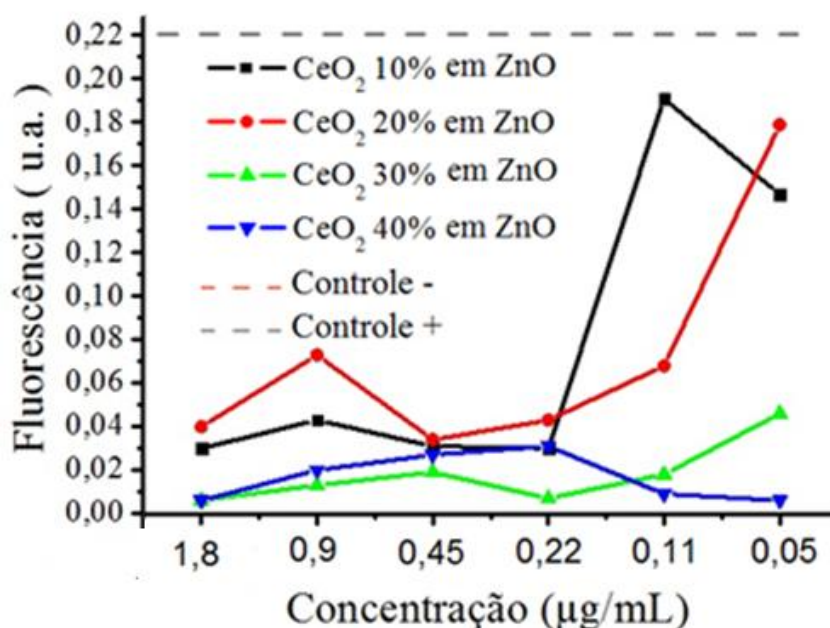


Figura 60 - Resultados de fluorescência dos grupos de óxido de zinco com diferentes concentrações de óxido de cério (IV), onde o controle positivo contém BHI + Inóculo bacteriano em 0,135 na escala de MacFarland e o controle negativo contém apenas BHI sem inóculo bacteriano (*S. mutans*).

Os valores próximos de zero (em vermelho) indicaram morte celular, demonstrando que essas concentrações para os grupos contendo óxido de cério (IV) (G3 e G4) possuem efetiva atividade antimicrobiana frente à bactéria *S. mutans*. Os resultados em cinza representaram os valores de concentração bacteriana aplicados no início dos testes (controles positivos), indicando que as bactérias não tiveram redução de população e que, para as demais amostras de óxido de cério (IV) (G1 e G2), valores acima desse patamar não foram observados e, comparando com o controle experimental (onde ocorreu aproximadamente 40% de aumento da população bacteriana), essas concentrações não foram suficientes para promover atividade bactericida, porém impediram o crescimento dessas bactérias, apresentando ação bacteriostática.

5.8.3 Absorbância das amostras na macrodiluição

Testes, em meio líquido, foram realizados e, para todos os grupos testados em BHI-caldo, conforme Tabela 2, as análises de absorbância foram realizadas e são apresentadas, na Figura 61, a seguir:

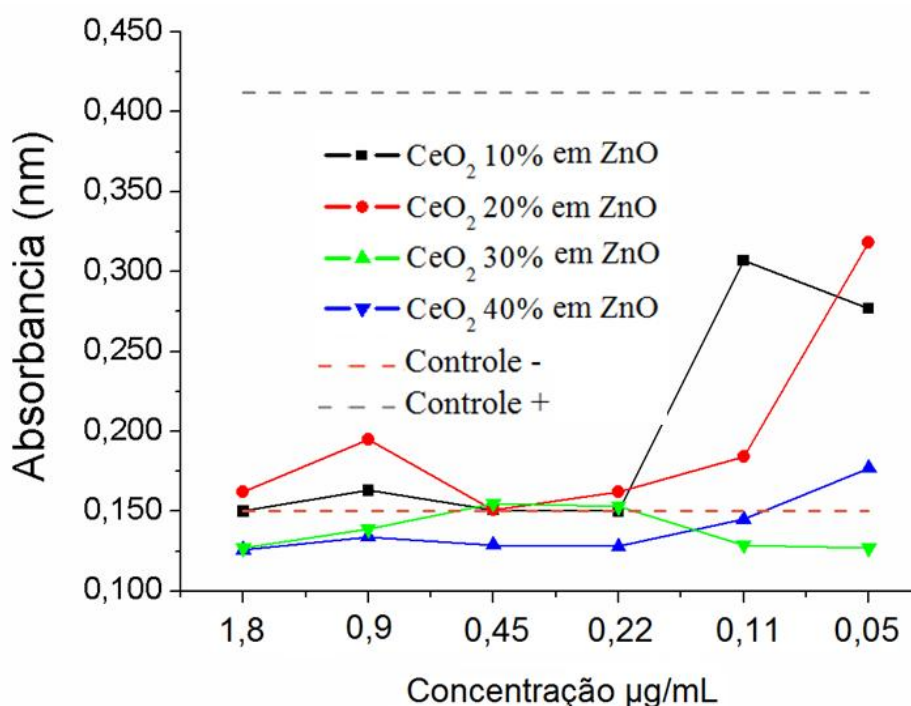


Figura 61 - Distribuição da absorbância nos grupos de óxido de zinco em diferentes concentrações de óxido de cério (IV), onde o controle positivo contém BHI + Inóculo bacteriano em 0,135 na escala de MacFarland e o controle negativo contém apenas BHI sem inóculo bacteriano.

Os valores de absorbância para os grupos analisados, conforme Tabela 2, em todos os tratamentos, são apresentados na Figura 61, evidenciando, para as maiores concentrações de óxido de cério (IV) (grupos 3 e 4), uma ação bactericida (promoveram a morte das bactérias) e para as demais, de menores concentrações (grupos 1 e 2), uma inibição quanto ao crescimento bacteriano (ação bacteriostática: impede o crescimento de bactérias), indicando a existência de um limite mínimo para a ação do óxido de cério (IV) na atividade bactericida ou bacteriostática frente a *S. mutans*.

A verificação da concentração bacteriana, por análise de absorbância, confirmou a morte celular e a expressiva redução de sua população na maioria dos poços e essa análise, de

um modo geral, tornou-se representativa frente a outros testes apresentados nesse trabalho (como a prova da Resazurina e Fluorescência).

5.8.4 Difusão em poços

As análises microbiológicas, pela técnica da difusão em poços, foram feitas em triplicatas, demonstrando atividade antimicrobiana atribuídas ao óxido de cério (IV) comercial e nanométrico (puro e a 10% em óxido de zinco odontológico), combinando seus efeitos com outros grupos, apresentados na Tabela 3, contendo eugenol, óxido de zinco (odontológico), o inoculo bacteriano e o BHI-caldo. A concentrações de óxido de cério (IV) utilizada representou a menor entre as estudadas, com atividade frente a *S. mutans* e os resultados desses testes (Tabela 10) permitiram a comprovação das ,já conhecidas , atividades antimicrobianas do eugenol e do óxido de zinco odontológico, comparando-as com as dos óxidos de cério (IV), verificando seus possíveis efeitos aditivos ou de interferência, como mostrado nos resultados apresentados na Tabela 10 e na figura 62.

Tabela 10 - Distribuição dos halos de inibição em mm conforme os grupos experimentais.

Halos (mm) / Grupos	Halo 1	Halo 2	Halo 3	Médias	Desvio Padrão
G1A	24,96	24,70	24,74	24,80	0,140
G2A	25,58	25,89	25,49	25,65	0,210
G3A	22,63	22,67	22,80	22,70	0,089
G4A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
G5A	21,58	21,49	21,72	21,60	0,116
G6A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

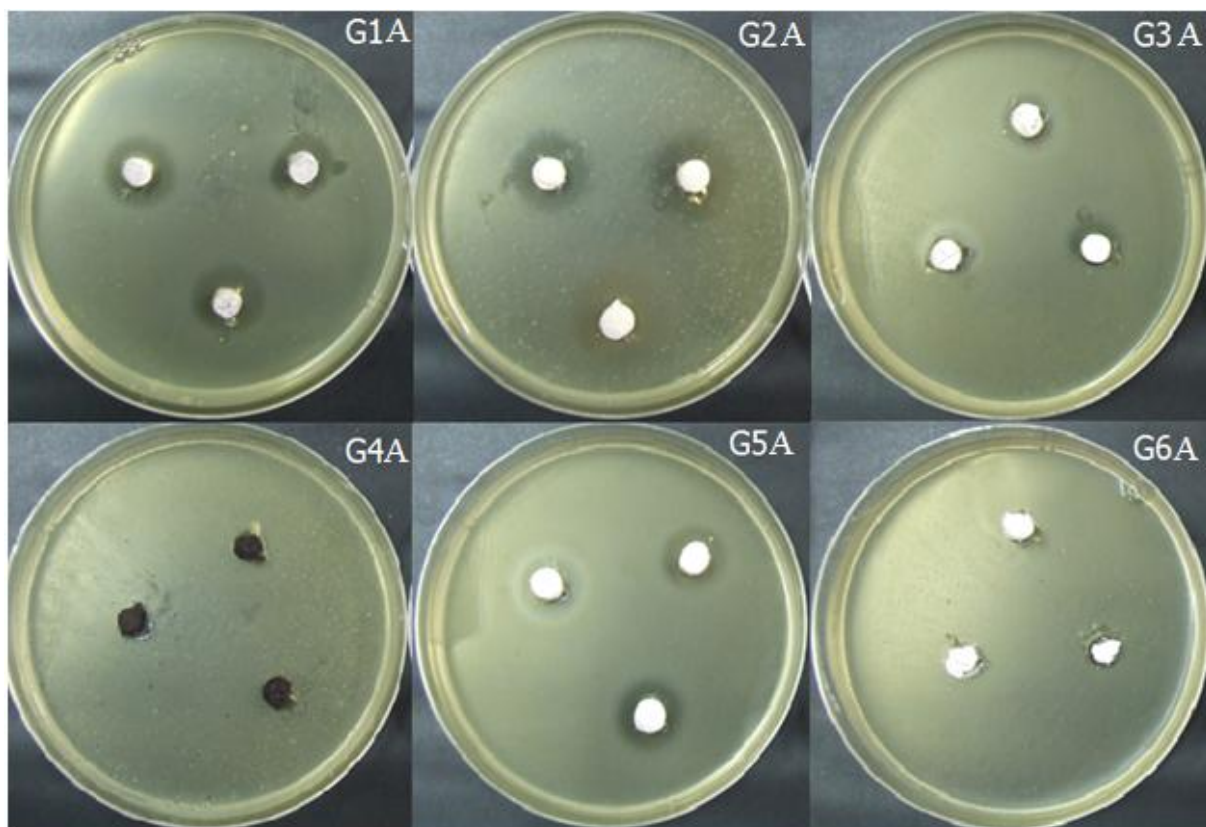


Figura 62 - Halo de inibição nos grupos testados.

Grupo 1A: CeO₂ Comercial + ZnO odontológico + Eugenol

Para esse grupo foi observada a formação de um halo de inibição com uma média de diâmetros superior (24,80 mm) a encontrada no grupo 3 (22,70 mm), grupo utilizado comercialmente.

Grupo 2A: CeO₂ Nanométrico 10% em ZnO odontológico + Eugenol

No segundo grupo, foi repetido o procedimento adotado para o primeiro (G1A), mostrando um melhor resultado para o cério nanométrico (25,65 mm), em comparação com demais grupos analisados.

Grupo 3A: ZnO odontológico + Eugenol

Apresentou resultado discreto (22,70 mm), quando comparado aos grupos, contendo óxido de cério (IV), nanoestruturado e comercial, testados.

Grupo 4A: CeO₂ Nanométrico + Eugenol

Esse grupo promoveu a formação de um composto escuro que não apresentou aparente efeito antibacteriano frente o *S. mutans*. Acreditamos que a ausência de atividade seja uma consequência da característica oxidativa do óxido de cério (IV) nanométrico (puro), modificando as propriedades antimicrobianas das moléculas do eugenol e que esse material resultante (G4A), esteja relacionado à formação de quinonas, oriundas da oxidação de compostos fenólicos (Eugenol), devido ação do óxido de cério (IV) nanométrico, neutralizando, portanto, o seu efeito bactericida. (Figura 63).

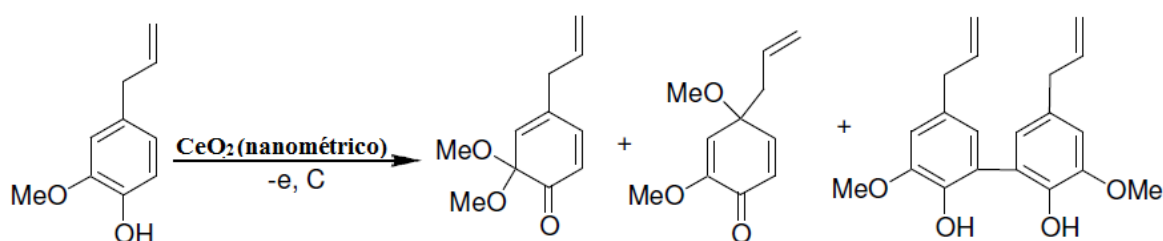


Figura 63 - Ilustração esquemática da oxidação do eugenol pela a ação de nanoestruturas de óxido de cério (IV) (adaptado de COSTA, 2000).

Grupo 5A: CeO₂ Comercial + Eugenol

O cério comercial apresentou atividade antimicrobiana, quando combinado com o eugenol, frente a *S. mutans*, sendo observado um comportamento diferente do ocorrido com as partículas de óxido de cério (IV) nanométrico (efeito, provavelmente, potencializada pelo tamanho de suas partículas).

Grupo 6A: ZnO odontológico + Óleo mineral

Este grupo não apresentou halo de inibição que indique a presença de atividade antibacteriana, demonstrando a necessidade da presença do eugenol associado ao óxido de zinco odontológico (mesmo esse possuindo atividade bactericida comprovada).

6 CONCLUSÕES

Os materiais sintetizados com estrutura fluorita apresentaram a fase característica, logo, o método hidrotermal de micro-ondas, mostrou-se satisfatório para a obtenção de nanoestruturas de CeO_2 , com uma significativa redução de energia/ tempo da síntese.

As distorções do referido óxido, na rede fluorita, apresentaram uma discreta atribuição ,quanto ao tempo de exposição às micro-ondas durante a síntese, promovendo uma maior desordem a curto alcance e uma maior organização a longo alcance.

A síntese, definida pelo sistema $\text{CeO}_2\text{-NaOH-150}^\circ\text{C}$, no intervalo de tempo de 5 minutos, apresentou baixo tempo, menor tamanho de partícula com maior área superficial. Isto indica que estes parâmetros de sínteses, frente a uma escolha para aplicação industrial, deve ser considerado o mais viável em relação a todos os outros avaliados neste estudo.

Na presença de direcionador PEG 200, estruturas morfológicas semelhantes a tetragonais foram obtidas, indicando sua influência direta na síntese dos sistemas de óxido de cério (IV) estudados.

Todos os resultados de UV-visível mostraram uma forte absorção nas regiões de 277 e 346 nm, provenientes das transições eletrônicas, envolvendo os dois estados de oxidação do cério ($4f \text{ Ce}^{3+}$ e $4f \text{ Ce}^{4+}$), como também às vacâncias de oxigênio, que alteram sua coordenação.

Uma diminuição nos valores de gap foi observada, para todos os sistemas de CeO_2 , em comparação com o valor do gap estimado para o CeO_2 comercial, levando a menores energias, promovendo um deslocamento, atribuído ao tamanho das partículas, que favorece tanto uma maior quantidade de defeitos estruturais como a quebra na simetria.

Nos espectros Raman, para todos os sistemas sintetizados, um pico principal em torno de 471 cm^{-1} , demonstrou um modo vibracional, característico para o óxido de cério (IV) na fase fluorita, referente a simetria F_{2g} .

Outras regiões do espectro Raman, referentes às frequências da ordem de 270, 315, 663 cm^{-1} , mostraram modos vibracionais, atribuídos, segundo a literatura, à presença de vacâncias de oxigênio na rede do CeO_2 e à quebra de simetria, confirmados a partir dos resultados das análises de UV-vis.

A correspondência de resultados, entre as diferentes provas empregadas nos testes biológicos, mostrou que as técnicas de fluorescência, absorvância e resazurina empregadas, não sofreram interferências dos reagentes em estudo, tal como eventualmente pode ocorrer com certos produtos de origem natural.

O óxido de cério (IV) nanométrico apresentou-se como um material de grande potencial para uso odontológico contra a bactéria *S. mutans*, responsável pelo processo cariogênico, devido ao seu grau de pureza e dimensões de partículas.

O compósito formado por ZnO odontológico e CeO_2 nanométrico nas proporções de 10, 20, 30 e 40%, apresentou propriedades antimicrobianas superiores quando comparado ao padrão utilizado (óxido de zinco odontológico + eugenol).

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Avaliar as propriedades antibacterianas das nanoestruturas de CeO₂, dopadas com metais (como cobre e zinco), em biofilmes de microrganismos *S. mutans*;

Investigar os processos oxidativos do óxido de cério, por RPE (Ressonância Paramagnética Eletrônica), avaliando sua influência nas propriedades antimicrobianas do material;

Pesquisar as propriedades antibacterianas do CeO₂ nanoestruturado, puro ou dopado, em células planctônicas e biofilmes constituídos por outras espécies bacterianas (Gram negativas e/ou Gram positivas) bem como espécies fúngicas da cavidade bucal;

Estudar a influência do tamanho da partícula e da morfologia das nanoestruturas de óxido de cério (IV), puro ou dopado, na ação antimicrobiana frente a *S. mutans* e a outras diferentes espécies de bactéria.

Avaliar a eficácia de nanoestruturas de CeO₂ na redução de compostos sulfurados voláteis relacionados com halitose e as aplicações de nanoestruturas CeO₂ quando incorporados em materiais restauradores definitivos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, A. ,**Química e tecnologia das terras raras**. Rio de Janeiro, editora eletrônica Fatima Engel 1994. cap. 3, p. 5-45.

ANDERSON, D. A.; SIMAK, S. I.; JOHANSSON, B.; ABRİKOSOV, I. A.; SKORODUMOVA, N. V. Redox properties of $\text{CeO}_2\text{-MO}_2$ (M = Ti, Zr, Hf, or Th) solid solutions from first principles calculations, **Physical Review**, v. 75, p. 035109, 2007.

ANDREESCU, D.; MATIJEVIĆ, E.; GOIA, D. V. Formation of uniform colloidal ceria in polyol. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects** , v. 291, p. 93–100, 2006.

ANWAR, M. S.; KUMAR, S.; AHMED, F.; ARSHI, N.; KIL, G. S.; PARK, D. W.; CHANG, J.; KOO, B. H. Hydrothermal synthesis and indication of room temperature ferromagnetism in CeO_2 nanowires. **Materials Letters**, v. 65, p. 3098–3101, 2011.

ARAÚJO, V. D.; AVANSI, W.; CARVALHO, H. B.; MOREIRA, M. L.; LONGO, E.; RIBEIRO, C.; BERNARDI, M. I. B. CeO_2 nanoparticles synthesized by a microwave-assisted hydrothermal method: evolution from nanospheres to nanorods. **CrystEngComm**, v. 14, p. 1150–1154, 2012.

BAI, W.; CHOY, K. L.; STELZER, N. H. J. SCHOONMAN, J. Thermophoresis-assisted vapour phase synthesis of CeO_2 and $\text{Ce}_x\text{Y}_{1-x}\text{O}_{2-\delta}$ nanoparticles. **Journal of Solid State Ionics**, v. 116, p. 225-228, 1999.

BILECKA, I.; NIEDERBERGER, M. Microwave chemistry for inorganic nanomaterials synthesis. **Nanoscale**, v. 2, p. 8, 2010.

BLUMEN, S. R.; CHENG, K.; RAMOS-NINO, M. E.; TAATJES, D. J.; WEISS, D. J.; LANDRY, C. C.; MOSSMAN, B. T. Unique uptake of acid-prepared mesoporous spheres by lung epithelial and mesothelioma cells. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 36, p. 333–342, 2007.

BOUCHARA, A.; SOLER-ILLIA, G.J.A.A.; CHANE-CHING, J.Y.; SANCHEZ, C.; Nanotectonic approach of the texturation of CeO_2 based nanomaterials. **Journal Chemical communications (Cambridge, England)**, v. 110, p. 1234-1235, 2002.

BUMAJDAD, A.; ZAKI, M. I.; EASTOE, J.; PASUPULETY, L. Microemulsion- based synthesis of CeO_2 powders with high surface area and high-temperature stabilities. **Langmuir**, v. 20, p. 11223-11233, 2004.

BUZEA, C.; PACHECO, I. I.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. **Biointerphases**, v. 2, p. 28-65, 2007.

BYRAPPA, K.; Hydrothermal Growth of Crystals, **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v. 21, p. 1–365, 1991.

CABAÇO, M. I.; MARQUES, M. I. B.; GASPAR, A. M.; MARQUES, M. A.; COSTA, M. M. The structure of concentrated aqueous solutions of chromium nitrate and cerium chloride studied by X-ray diffraction and Raman spectroscopy. **Journal of Molecular Liquids**, v. 136, p. 323–330, 2007.

COSTA, P. R. R. Safrol e Eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. **Química Nova**, v. 23, p. 3, 2000.

CHANG, Y. Y.; LAI, C. H.; HSU, J. T.; TANG, C. H.; LIAO, W. C.; HUANG, H. L. Antibacterial properties and human gingival fibroblast cell compatibility of TiO₂/Ag compound coatings and ZnO films on titanium-based material. **Clinical Oral Investigations**, v. 16, p. 95–100, 2012.

CHEN, H.; CHANG, H. Synthesis of nanocrystalline cerium oxide particles by the precipitation method. **Ceramics International**, v. 31, p. 795-802, 2005.

CHEN, L.; FLEMING, P.; MORRIS, V.; HOLMES, J. D.; MORRIS, M. A. Size-Related Lattice Parameter Changes and Surface Defects in Ceria Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, p. 12909–12919, 2010.

CHENG, B. E.; SAMULSKI, E. T. Hydrothermal synthesis of one-dimensional ZnO nanostructures with different aspect ratios. **Chemical Communications**, v. 12, p. 986-987, 2004.

CHIANG, Y.; LAVIK, E. B.; KOSACKI, I.; TULLER, H. L.; YING, J. Y. Nonstoichiometry and Electrical Conductivity of Nanocrystalline CeO_{2-x}. **Journal of Electroceramics**, v. 1, p. 7-14, 1997.

COTTON, F. A.; WILKINSON, G. **Química Inorgánica Avanzada**. Ed. LIMUSA S. A., México 1978, cap.31, p 1087-1105.

DAN, M; WU, P; GRULKE, E. A; GRAHAM, U. M; UNRINE, J. M; YOKEL, R. A. Ceria-engineered nanomaterial distribution in, and clearance from, blood: size matters. **Nanomedicine**, v. 7, p. 95, 2012.

DANG, Y.; ZHANG, Y.; FAN, L.; CHEN, H.; ROCO, M. C. Trends in worldwide nanotechnology patent applications: 1991 to 2008. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 12, p. 687, 2010.

DEUS, R. C.; CILENSE, M.; FOSCHINI, C. R.; RAMIREZ, M. A.; LONGO, E.; SIMÕES, A. Z. Influence of mineralizer agents on the growth of crystalline CeO₂ nanospheres by the microwave-hydrothermal method. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 550, p. 245–251, 2013.

DIKMEN, S.; SHUK, P.; GREENBLATT, M; GOCMEZ, H. Hydrothermal synthesis and properties of Ce_{1-x}Gd_xO_{2-δ} solid solutions. **Solid State Science**, v. 4, p. 585-590, 2002.

DUDEK, M.; RAPACZ, K. A.; MROCZKOWSKA, M.; MOSIALEK, M.; MORDARSKI, G. Co-doped ceria-based solid solution in the $\text{CeO}_2\text{-M}_2\text{O}_3\text{-CaO}$, M= Sm, Gd system. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 4387–4394, 2010.

DURÁN, P.; CAPEL, F.; GUTIERREZ, D.; TARTAJ, J.; MOURE, C. Cerium (IV) oxide synthesis and sinterable powders prepared by the polymeric organic complex solution method. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 22, p. 1711-1721, 2002.

EDELMANN, F. T., Lanthanides and actinides: Annual survey of their organometallic chemistry covering the year 2010. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 256, p. 2641– 2740, 2012.

ESCRIBANO, V. S.; LOPEZ, E. F.; PANIZZA, M.; RESINI C.; UNKNOWN, G; AMORES, J. M.; BUSCA, G. Characterization of cubic ceria-zirconia powders by X-ray diffraction and vibrational and electronic spectroscopy. **Solid State Sciences**, v. 5, p. 1369–1376, 2003.

FARIAS, R. F. **Química de coordenação: Fundamentos e atualidades**. Campinas, SP: Ed. Átomo, 2009. Cap. 6, p.167-177.

FELDMANN, C., Polyol mediated synthesis of nanoscale functional materials. **Advanced Functional Materials**, v. 13, p. 101-106, 2003.

FENG, X.; SAYLE, D. C.; WANG, Z. L.; PARAS, M. S.; SANTORA, B.; SUTORIK, A. C.; SAYLE, T. X. T.; YANG, Y.; DING, Y.; WANG, X. D.; HER, Y. S. , Converting Ceria Polyhedral Nanoparticles into Single-Crystal Nanospheres. **Science**, v. 312, p. 1504-1508, 2006.

FINOS, G.; COLLINS, S.; BLANCO, G.; DEL RIO, E.; CIES, J. M.; BERNAL, S.; BONIVARDI, A.; Infrared spectroscopic study of carbon dioxide adsorption on the surface of cerium–gallium mixed oxides. **Catalysis Today**, v. 180, p. 9– 18, 2012.

FLYTZANI, S. M; SAKBODIN, M ; WANG, Z. Regenerative Adsorption and Removal of H_2S from Hot Fuel Gas Streams by Rare Earth Oxides. **Science**, v. 312, p. 1508-1510. 2006.

FU, Q.; WEBER, A.; Flytzani-Stephanopoulos. Nanostructured Au– CeO_2 catalysts for low-temperature water–gas shift M. **Catalysis Letters**, v. 77, p. 1-3, 2001.

FU, Y.P.; LIN, C. H.; HSU, C. S. Preparation of ultrafine CeO_2 powders by microwave-induced combustion and precipitation. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 391, p. 110–114, 2005.

GAISER, B. K.; FERNANDES, T. F.; JEPSON, M. A.; LEAD, J. R; TYLER, C. R; BAALOUSHA, M; BISWAS, A; BRITTON, G. J.; COLE, P. A; JOHNSTON, B. D; JUNAM, Y; ROSENKRANZ, P; SCOWN, T. M; STONE, V. Interspecies comparisons on the uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, p. 144-54, 2012.

GHOSHAL, T.; FLEMING, P. G.; HOLMES, J. D.; MORRIS, M.A.; The stability of “Ce₂O₃” nanodots in ambient conditions: a study using block copolymer templated structures. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, p. 22949–22957, 2012.

GODINHO, M.; RIBEIRO, C.; LONGO, E. AND LEITE, E. R. , Influence of microwave heating on the growth of gadolinium-doped cerium oxide. **American Chemical Society**, v. 8, p. 384-386, 2008.

HASSAN, M. S.; AMNA, T.; AL-DEYAB, S. S.; KIM, H.C.; OH, T. H.; KHIL, M. S.; Toxicity of Ce₂O₃/TiO₂ composite nanofibers against *S. aureus* and *S. typhimurium*: A novel electrospun material for disinfection of food pathogens. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 415, p. 268– 273, 2012.

HIRANO, M; INAGAKI, M.; Preparation of monodispersed cerium(IV) oxide particles by thermal hydrolysis: influence of the presence of urea and Gd doping on their morphology and growth . **Journal of Materials Chemistry**, v. 10, p. 473–7, 2000.

HIRANO, M.; FUKUDA, Y.; IWATA, H.; HOTTA, Y.; INAGAKI, M., Preparation and spherical agglomeration of crystalline cerium (IV) oxide nanoparticles by thermal hydrolysis. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 83, p. 1287-1289, 2000.

HORAK, D.; BABIC, M.; MACKOVA, H.; BENES, M. J. Preparation and properties of magnetic nano- and microsized particles for biological and environmental separations. **Journal Separation Science**, v. 30, p. 1751–1772, 2007.

HOU, Q. Y; WANG , J. T . Influence of CeO₂ on the microstructure and wear resistance of iron-based alloy coating studied by Rietveld refinement method. **Surface & Coatings Technology** , v. 204, p. 2677–2682, 2010.

ZHOU, H. P.; ZHANG, Y. W.; MAI, H. X.; SUN, X.; LIU, Q.; SONG, W. G.; YAN, C. H.; Spontaneous Organization of Uniform CeO₂ Nanoflowers by 3D Oriented Attachment in Hot Surfactant Solutions Monitored with an In Situ Electrical Conductance Technique. **Chemistry-A European Journal**, v. 14, p. 3380 – 3390, 2008.

HUCZKO, A. Template-based synthesis of nanomaterials. **Applied Physics A Materials Science & Processing**, v. 70, p. 365-376, 2000.

IJJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, p. 56-58, 1991.

IMANAKA, N; MASUI, T; HIRAI, H; ADACHI, G. Amorphous Cerium–Titanium Solid Solution Phosphate as a Novel Family of Band Gap Tunable Sunscreen Materials. **Journal of Materials Chemistry** , v. 15, p. 2289-2291, 2003.

JAN, E.; KOTOV, N.A. Successful differentiation of mouse neural stem cells on layer-by-layer assembled single-walled carbon nanotube composite. **Nano Letters**, v. 7, p. 1123–1128, 2007.

TAN, J. P. Y.; TAN, H. R.; BOOTHROYD, C.; FOO, Y. L.; HE, C. B.; LIN, M.; Three-Dimensional Structure of CeO₂ Nanocrystals. **The Journal of Physical Chemistry C.**, v. 115, p. 3544–3551, 2011.

KARAKOTI, A.S.; MONTEIRO-RIVIERE, N.A.; AGGARWAL, R.; DAVIS, J.P.; NARAYAN, R.J.; SELF, W.T.; MCGINNIS, J.; SEAL, S. Nanoceria as antioxidant: synthesis and biomedical applications. **Biological Materials Science**, v. 3, p. 33-37, 2008.

KAREL MAŠEK*, JAN BERAN, VLADIMIR MATOLIN, RHEED study of the growth of cerium oxide on Cu(1 1 1). **Applied Surface Science**. v. 259, p. 34– 38, 2012.

RUSCHEL, K.; NASDALA, L.; KRONZ, A.; HANCHAR, J. M.; TÖBBENS, D. M.; ŠKODA, R.; FINGER, F.; MÖLLE, A. A Raman spectroscopic study on the structural disorder of monazite–(Ce) . **Miner Petrol**, v.105, p. 41–55, 2012.

KEYSON, D.; VOLANTI, D.P.; CAVALCANTE , L.S.; SIMÕES, A.Z.; VARELA J.A.; LONGO, E.; CuO urchin-nanostructures synthesized from a domestic hydrothermal microwave method. **Materials Research Bulletin**, v. 43, p. 771–775, 2008.

KIM, C. K.; KIM, T.; CHOI, I. Y.; SOH, M.; KIM, D.; KIM, Y. J.; JANG, H.; YANG, H. S.; KIM, J. Y.; PARK, H. K.; PARK, S. P.; PARK, S.; YU, T.; YOON, B.W.; LEE, S. H.; HYEON, T. Ceria Nanoparticles that can Protect against Ischemic Stroke. **Angewandte Chemie**, v. 51, p. 11039 –11043,2012.

KOLB, E. D.; LAUDISE, R. A., **J.Cryst. Growth**, v. 33,p. 145, 1976.

KOMARNENI, S., Nanophase materials by hydrothermal, microwave-hydrothermal and microwave-solvothermal methods, **Current Science**, v. 85, p. 1730-1734, 2003.

LAHA, S. C.; RYOO, R. Synthesis of thermally stable mesoporous cerium oxide with nanocrystalline frameworks using mesoporous silica templates. **Chemical Communications**, v.17, p. 2138-2139, 2003.

CHEN, L.; FLEMING, P.; MORRIS, V.; HOLMES; J. D.; MORRIS, M. A. Size-Related Lattice Parameter Changes and Surface Defects in Ceria Nanocrystals, **The Journal of Physical Chemistry**, v. 114, p. 12909–12919, 2010.

LAVASANIFAR, A.; ALIABADI H.M.“Polymeric micelles for drug delivery”. **Expert Opinion in Drug Delivery**, v. 3, p. 139-62, 2006.

LEE, J. D. ,**Química Inorgânica: um novo texto conciso**. Ed. Edgar Blucher, 1980.cap. 7, p. 395-405.

LI, G. R.; QU, D. L.; YU, X. L.; TONG, Y. X. Microstructural Evolution of CeO₂ from Porous Structures to Clusters of Nanosheet Arrays Assisted by Gas Bubbles via Electrodeposition, **Langmuir**, v. 24, p. 4254-4259, 2008.

LI, H.; WANG, G.; ZHANG , F.; CAI ,Y.; WANG, Y.; DJERDJ, I. Surfactant-assisted synthesis of CeO₂ nanoparticles and their application in wastewater treatment , **Royal Society of Chemistry Advances** , v. 2, p. 12413-12423, 2012.

LIRA, C. M.; KREBS F. C.; Hybrid solar cells based on MEH-PPV and thin film semiconductor oxides (TiO_2 , Nb_2O_5 , ZnO , CeO_2 and $\text{CeO}_2\text{-TiO}_2$): Performance improvement during long-time irradiation. **Solar Energy Materials & Solar Cells**, v. 90, p. 2076-2086, 2006.

LYONS, D. M.; RYAN, K. M.; MORRIS, M.A. Preparation of ordered mesoporous ceria with enhanced thermal stability. **Journal of Materials Chemistry**, v. 12, p. 1207-1212, 2002.

MA, J.; ZHANG, T. S.; KONG, L. B.; HING, P.; CHAN, S. H. $\text{Ce}_{0.8}\text{Gd}_{0.2}\text{O}_{2-\delta}$ ceramics derived from commercial submicron-sized CeO_2 and G_2O_3 powders for use as electrolytes in solid oxide fuel cells. **Journal of Power Sources**, v. 132, p. 71-76, 2004.

MAI, H. X.; SUN, L. D.; ZHANG, Y. W.; SI, R.; FENG, W.; ZHANG, H. P.; LIU, H. C.; YAN, C. H. Shape-selective synthesis and oxygen storage behavior of ceria nanopolyhedra, nanorods, and nanocubes. **The Journal of Physical Chemistry. B**, v.109, p. 24380-24385, 2005.

MALAC, M.; Microscopy of Nanostructures, **Micron**, v. 38, p. 333, 2007.

MANIASSO, N.; Ambientes Micelares em Química Analítica. **Química Nova**, v. 24, p. 87-93, 2001.

MASUI, T.; FUJIWARA, K.; MACHIDA, K. I.; ADACHI, G. Y.; SAKATA, T.; MORI, H. "Characterization of cerium(IV) oxide ultrafine particles prepared using reversed micelles," **Chemistry of Materials**, v. 9, n. 10, p. 2197-2204, 1997.

MISHRA, B. G.; RAO, G. R. Promoting effect of ceria on the physicochemical and catalytic properties of $\text{CeO}_2\text{-ZnO}$ composite oxide catalysts. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 243, p. 204-213, 2006.

MOELLER, T.; **The Chemistry of the Lanthanides**, Pergamon Texts in Comprehensive Inorganic Chemistry; Pergamon Press: New York, 1975, cap.,26, p.12-33,

MOGENSEN M.; SAMMES N. M.;TOMPSETT G. A. Physical, chemical and electrochemical properties of pure and doped ceria. **Solid State Ion**. v. 129, p. 63-69, 2000.

MUCCILLO, E. N. S.; PORFÍRIO, T. C.; TADOKORO, S. K.; REY, J. F. Q.; ROCHA, R. A.; STEIL, M. C.; MUCCILLO, R. Physical properties of cerium oxide prepared by solution technique and the electrical conductivity dependence on the oxygen partial pressure of sintered ceramics, **Cerâmica**,v. 51, p. 157-162, 2005.

NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compound**. Part B. 5. ed. Wiley, NY, 1997.

NEMA, N.; SINGH, N.; PANDEY, A. The supramicellar solutions of polymeric surfactant (peg 400) for the determination of poorly soluble antifungal drug. **Chemistry**, v. 19, p. 93-101, 2010.

NIKOLAOU, K. Emissions reduction of high and low polluting new technology vehicles equipped with a CeO₂ catalytic system. **Science of the Total Environment**, v. 235, p. 71-76, 1999.

NYQUIST, R. A.; KAGEL, R. O. **Infrared Spectra Inorganic Compounds**. San Diego: Academic Press, 1971.

OHLWEILER, O. A. **Química Inorgânica**. São Paulo: Ed. Edgar Blucher/ Ed. Universidade de São Paulo, 1971. cap.19, p.705-722.

OLIVEIRA, M. J. C.; QUIRINO, M. R.; NEIVA, L. S.; GAMA, L.; OLIVEIRA, J. B. Síntese de óxido de cério (CeO₂) com alta área superficial por meio do método hidrotérmico assistido por micro-ondas. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, p. 170-174, 2011.

OZAWA, M. Role of cerium–zirconium mixed oxides as catalysts for car pollution: A short review. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 886, p. 275–277, 1998.

PALENIK, G. J.; HU, S. Z. Assignment of oxidation states in metal complexes Cerium (III) or cerium (IV) and other questions. **Inorganica Chimica Acta**, v. 362, p. 4740–4743, 2009.

PARK, E. J. C.; WAN-SEOB, A.; JEONG, J. Induction of inflammatory responses in mice treated with cerium oxide nanoparticles by intratracheal instillation. **Journal of Health Science**, v. 56, n. 4, p. 387-396, 2010.

PARK, E. J.; CHOI, J.; PARK, Y. K.; PARK, K. Oxidative stress induced by cerium oxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. **Toxicology**, v. 245, p. 90–100, 2008.

PARK, J.; BAUER, S.; VON DER MARK, K.; SCHMUKI, P. Nanosize and vitality: TiO₂ nanotube diameter directs cell fate. **Nano Letters**, v. 7, p. 1686–1691, 2007.

PELLETIER, D. A.; SURESH, A. K.; HOLTON, G. A.; MCKEOWN, C. K.; WANG, W. G. U. B.; MORTENSEN, N. P.; ALLISON, D. P.; JOY, D. C.; ALLISON, M. R.; BROWN, S. D.; PHELPS, T. J.; DOKTYCZ, M. J. Effects of engineered cerium oxide nanoparticles on bacterial growth and viability. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, p. 7981-7989, 2010.

PHOKAA, S.; LAOKULA, P.; SWATSITANGA, E.; PROMARAKB, V.; SERAPHINC, S.; MAENSIRIA, S. Synthesis, structural and optical properties of CeO₂ nanoparticles synthesized by a simple polyvinyl pyrrolidone (PVP) solution route. **Materials Chemistry and Physics**, v. 115, p. 423-428, 2009.

PREDOANA, L., MALIC, B.; KOSEC, M.; CARATA, M.; CALDARARU, M.; ZAHARESCU, M. Characterization of LaCoO₃ powders obtained by water-based sol–gel method with citric acid. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 10, p. 1016, 2007.

PUROHIT, R. D.; SHARMA, B. P.; PILLAI, K. T.; TYAGI, A. K. Powder characteristics and sinterability of ceria powders prepared through different routes. **Materials Research Bulletin**, v. 32, p. 143-146, 2006.

QI, R. J.; ZHU, Y. J.; HUANG, Y. H. Sonochemical synthesis of single-crystalline CeOHCO_3 rods and their thermal conversion to CeO_2 rods **Nanotechnology**, v. 16, p. 2502-2506, 2005.

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

RAO, G. R.; SAHU, H. R.; XRD, A. UV-vis diffuse reflectance analysis of CeO_2 - ZrO_2 solid solutions synthesized by combustion method. **Proceedings-Indian Academy of Sciences, Chemical Science**, v. 113, p. 651-658, 2001.

SAIKAT, M.; MÜLLER, A. H. E. Facile route to the synthesis of porous α - Fe_2O_3 nanorods. **Materials Chemistry and Physics**, v. 111, p. 438-443, 2008.

SANTOS, C. L.; ALBUQUERQUE, A. J. R.; SAMPAIO, F. C.; KEYSON, D. Nanomaterials with Antimicrobial Properties: Applications in Health Sciences. In: **Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education**. Microbiology Book Series, n. 4, 2013. (in presser).

SCZANCOSKI, J. C.; CAVALCANTE, L. S.; JOYA, M. R.; ESPINOSA, J. W.; PIZANI, P. S.; VARELA, J. A.; LONGO, E. Growth process and photoluminescence properties of SrWO_4 powders. **Colloid Interface Science**, v. 330, p. 227, 2009.

SHENGYUE, W.; WEI, W.; JIAN, Z.; YITAI, Q. Study of the Raman spectrum of CeO_2 nanometer thin films. **Materials Chemistry and Physics**, v. 68, p. 246–248, 2001.

SHRIVER, F. D.; ATKINS, P. **Química Inorgânica**. BookMan, 2008. cap. 22, p. 594-595.

SHUK, P.; GREENBLATT, M. Hydrothermal synthesis and properties of mixed conductors based on $\text{Ce}_{1-x}\text{Pr}_x\text{O}_{2-\delta}$ solid solutions. **Solid State Ion**, v. 116, p. 217-223, 1999.

SIERRA, J. F. H.; RUIZ, F.; PENA, D. C. C.; GUTIÉRREZ, F. M.; MARTÍNEZ, A. E.; GUILLÉN, A. J. P.; PÉREZ, H. T.; CASTAÑÓN G. M. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 4, p. 237–240, 2008.

SILVA, G.A. Nanotechnology approaches for the regeneration and neuroprotection of the central nervous system. **Surgical Neurology**, v. 63, p. 301–306, 2005.

SKORODUMOVA, N. V.; AHUJA, R.; SIMAK, S. I.; ABRIKOSOV, I. A.; JOHANSSON, B.; LUNDQVIST, B. I. Electronic, bonding, and optical properties of CeO_2 and Ce_2O_3 from first principles. **Physical Review**, v. 64, p. 115108, 2001.

SOTIRIOU, G. A.; PRATSINIS S. E. Antibacterial activity of nanosilver ions and particles. **Environmental Science & Technology**, v. 44, p. 5649–5654, 2010.

SREEJA, V.; JOY, P.A. Microwave–hydrothermal synthesis of γ - Fe_2O_3 nanoparticles and their magnetic properties, **Materials Research Bulletin**, v. 42, p. 1570, 2007.

SREEREMYA, T. S.; THULASI, K. M.; KRISHNAN, A.; AND GHOSH, S.; A novel aqueous route to fabricate ultrasmall monodisperse lipophilic cerium oxide nanoparticles. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, 318–326, 2012.

SUN, C.; LI, H.; ZHANG, H.; WANG, Z.; CHEN, L. Controlled synthesis of CeO₂ nanorods by a solvothermal method. **Nanotechnology**, v. 16, p. 1454–1463, 2005.

SURESH, A. K.; PELLETIER, D. A.; DOKTYCZ, M. J. Relating nanomaterial properties and microbial toxicity. **Nanoscale**, v. 5, p. 463–474, 2013.

SWAN, E. E. L.; POPAT, K. C.; GRIMES, C. A.; DESAI, T. A. Fabrication and evaluation of nanoporous alumina membranes for osteoblast culture. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 72, p. 288–295, 2005.

SYED, S.; ZUBAIR A.; FRIERI, M. Immune response to nanomaterials: implications for medicine and literature review. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 13; p. 50–57, 2013.

TARTE, P.; RULMONT, A.; LIÉGEOIS-DUYCKAERTS, M.; CAHAY, R.; WINAND, J. M. Vibrational spectroscopy and solid state chemistry. **Solid State Ionics**, v. 42, p. 177, 1990.

TERRIBILE, D.; TROVARELLI, A.; LLORCA, J.; DE LEITENBURG, C.; DOLCETTI, G. The synthesis and characterization of mesoporous high-surface area ceria prepared using a hybrid organic/inorganic route. **Journal of Catalysis**, v. 178, p. 299–308, 1998.

THANGADURAI, V.; P. KOPP. Chemical synthesis of Ca-doped CeO₂ Intermediate temperature oxide ion electrolytes. **Journal of Power Sources**, v. 168, p. 178–183, 2007.

TORRENS, R. S.; SAMMES, N. M.; TOMPSETT, G. A. Characterisation of (CeO₂)_{0.8}(GdO_{1.5})_{0.2} synthesised using various techniques. **Solid State Ionics**, v. 111, p. 9–15, 1998.

TSAI, M. S.; XIAO, X. Z. Phase development of nanocrystalline cerium oxide via cerium sulfate. **Journal of Crystal Growth**. v. 289, p. 351–356, 2006.

TSUZUKI, T.; ROBINSON, J. S.; MCCORMICK, P. G. J. **Journal of the Australian Ceramic Society**, v. 38, p.15, 2002.

TSUZUKI, T.; MCCORMICK, P. G. J., Mechanochemical synthesis of nanoparticles. **Journal of the Australian Ceramic Society**, v. 39, p. 5143–5146, 2004.

UEKAWA, N.; UETA, M.; WU, Y. J.; KAKEGAWA, K. Synthesis of CeO₂ spherical fine particles by homogeneous precipitation method with polyethylene glycol. **Chemistry Letters**, v. 8, p. 854–855, 2002.

VANTOMME, A.; YUAN, Z. Y.; DU, G.; SU, B. L. Surfactant-assisted large-scale preparation of crystalline CeO₂ nanorods. **Langmuir**, v. 21, p. 1132–1135, 2005.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, p. 51–64, 2010.

WANG Y, MORI T, LI J AND IKEGAMI T. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 85, p. 3105, 2002.

WANG, D.; KANG, Y.; DOAN-NGUYEN, V.; CHEN, J.; K NGAS, R.; WIEDER, N.; BAKHMUTSKY, K.; GORTE, R.; MURRAY C. B. Synthesis and oxygen storage capacity of two-dimensional ceria nanocrystals. **Angewandte Chemie**. v. 50, p. 4378–4381, 2011.

WANG, W. W.; ZHU, Y. J.; RUAN, M. L. J. Microwave-assisted synthesis and magnetic property of magnetite and hematite nanoparticles. **Nanoparticle Research**, v. 9, p. 419–426, 2007.

WANG, Z.; QUAN, Z.; LIN, J. Remarkable changes in the optical properties of CeO₂ nanocrystals induced by lanthanide ions doping. **Inorganic Chemistry**, v. 46, p. 5237-5242, 2007.

WEBER, W. H.; HASS, K. C.; MCBRIDE, J. R. Raman study of CeO₂: second-order scattering, lattice dynamics, and particle-size effects. **Physical Review B**, v. 48, p. 178, 1993.

XIA, B.; LENGGORO, I. W.; OKUYAMA, K. Synthesis of CeO₂ nanoparticles by salt-assisted ultrasonic aerosol decomposition. **Journal of Materials Chemistry**, v. 11, p. 2925-2927, 2001.

YAN, L.; YU, R.; CHEN, J.; XING, X. Template-free hydrothermal synthesis of ceo₂ nano-octahedrons and nanorods: investigation of the morphology evolution. **Crystal Growth & Design**, v. 8, p. 1475-1476, 2008.

YANG, H.; KAO, W. J. Dendrimers for pharmaceutical and biomedical applications. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 17, p. 3-19, 2006.

YAO, K. X.; YIN, X. M.; WANG, T. H.; ZENG, H. C. Synthesis, Self-Assembly, Disassembly, and Reassembly of Two Types of Cu₂O Nanocrystals Unifaceted with {001} or {110} Planes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, p. 6131–6144, 2010.

YASHIMA, M.; SASAKI, S.; YAMAGUCHI, Y.; KAKIHANA, M.; YOSHIMURA, M.; MORI, T. Internal distortion in ZrO₂-CeO₂ solid solutions: neutron and high-resolution synchrotron x-ray diffraction study. **Applied Physics Letters**, v. 72, p. 182, 1998.

YOKEL, R. A.; FLORENCE, R. L.; UNRINE, J. M. Biodistribution and oxidative stress effects of a systemically-introduced commercial ceria engineered nanomaterial. **Nanotoxicology**, v. 3, p. 234-248, 2009.

YOO, J. The Effects of Microstructure on Ba_{1-x}Sr_xTiO₃ **Pyroelectric materials for pyroelectric and bolometer infrared sensors**, Ph.D. Thesis, University of Auckland, 1999.

YOSHIMURA, M.; BYRAPPA, K. Hydrothermal processing of materials: past, present and future. **Journal of Materials Science**, v. 43, p. 2085 - 2103, 2008.

YOUSEFI, T.; KHANCHI, A.; AHMADI, S. J.; ROFOUEI, M. K.; YAVARI, R.; DAVARKHAH, R.; MYANJI, B. Cerium (iii) molybdate nanoparticles: synthesis,

characterization and radionuclides adsorption studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 216, p. 266 – 271, 2012.

YUAN, J.; JIANG, L.; TIANMIN, H.; JINXIA W.; WENHUI, S. The effect of Pr co-dopant on the performance of solid oxide fuel cells with Sm-doped ceria electrolyte. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 389, p. 317-322, 2005.

ZHANG, D.; FU, H.; SHI, L.; PAN, C.; LI, Q.; CHU, Y.; YU, W. Synthesis of CeO₂ nanorods via ultrasonication assisted by polyethylene glycol. **Inorganic Chemistry**, v. 46, p. 2446-2451, 2007.

ZHANG, L.; HUANG, H. Structural transformation of ZnO nanostructures, **Applied Physics Letters**, v. 90, p. 23115, 2007.

ZHANG, Y. W.; SI, R.; LIAO, C. S.; YAN, C. H.; XIAO, C. X.; KOU, Y. Facile alcoholthermal synthesis, size-dependent ultraviolet absorption, and enhanced CO conversion activity of ceria nanocrystals. **Journal of Physical Chemistry**, v. 107, p. 10159-10167, 2003.

ZHU, L.; CHANG, D. W.; DAI, L.; HONG, Y. DNA damage induced by multiwalled carbon nanotubes in mouse embryonic stem cells. **Nano Letters**, v. 7, p. 3592 - 3597, 2007.