

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA

Ana Paula Ribeiro Povinelli

**Otimização da síntese das zeólitas NaA e NaX utilizando
radiação de micro-ondas para aplicação como agentes
hemostáticos coagulantes.**

São José do Rio Preto

2017

Ana Paula Ribeiro Povinelli

Otimização da síntese das zeólitas NaA e NaX utilizando radiação de micro-ondas para aplicação como agentes hemostáticos coagulantes.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CNPq – Proc. 135582/2015-6

Orientador: Prof. Dr. Jose Geraldo Nery

São José do Rio Preto

2017

Povinelli, Ana Paula Ribeiro.

Otimização da síntese das zeólitas NaA e NaX utilizando radiação de micro-ondas para aplicação como agentes hemostáticos coagulantes / Ana Paula Ribeiro Povinelli. -- São José do Rio Preto, 2017

76 f. : il., tabs.

Orientador: José Geraldo Nery

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Biologia molecular. 2. Biofísica. 3. Zeólitos. 4. Microondas.
5. Sangue - Coagulação. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas.
II. Título.

CDU – 577.3

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Ana Paula Ribeiro Povinelli

Otimização da síntese das zeólitas NaA e NaX utilizando radiação de micro-ondas para aplicação como agentes hemostáticos coagulantes.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CNPq – Proc. 135582/2015-6

Orientador: Prof. Dr. Jose Geraldo Nery

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Jorge Chahine

UNESP – São José do Rio Preto

Prof^ª. Dr^ª. Ariano de Giovanni Rodrigues

UFSCar – São Carlos

Prof. Dr. Iêda Aparecida Pastre Fertoni

UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto

18 de Julho de 2017

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. José Geraldo Nery por ter me dado a oportunidade de realizar este projeto, pelas discussões realizadas e pelos conhecimentos transmitidos.

À minha família, em especial meus pais Solange R. Povinelli e Paulo Povinelli e meus avós Ruth P. da Silva e Aderson R. da Silva por todo apoio e compreensão que tiveram durante este período. Aos meus tios Sandra, Aderson e Josiara por estarem sempre ao meu lado.

Agradeço ao meu namorado, Gabriel Zazeri, por me acompanhar ao longo de toda a minha formação e ter enriquecido esta pesquisa com suas discussões científicas, por ter estado ao meu lado em todos os momentos, me apoiando e amadurecendo junto comigo. Também deixo meus agradecimentos a Márcia Rodrigues pelas conversas, descontrações e conselhos.

Aos meus companheiros de trabalho Dr. Alex Silva de Paula, Dr. Danilo Antonio da Silva, Dr. Adriano de Vasconcellos, Me. Juliana Bergamasco, Me. Davi Rubinho Ratero, Me. Roberto Antonio Luizon, Me. Alex Henrique Miller, Me. Janine Contro, Bela. Suhellen Tánus de Almeida, Vinicius Litrenta, Kenneth Miasaki, Guilherme Guarnieri, Erick Cancelli, Luis Crespi pelas trocas de conhecimentos, pela ajuda que recebi durante este projeto e pelos bons momentos que tivemos juntos.

Agradeço aos docentes do departamento de física pela contribuição que tiveram desde o início da minha graduação. Gostaria de deixar meus agradecimentos também à Prof. Dra. Marcia Cabrera por ter permitido a utilização das facilidades do laboratório de pesquisa em peptídeos (LEPe). Também agradeço aos servidores do departamento de física (Ilva, Valéria, Paulinho, Barbosa e Marcelino) por toda a ajuda que recebi.

Por fim agradeço ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

Resumo

A substituição da fonte de calor convencional por fontes de radiação de micro-ondas vem sendo bastante explorada na área de síntese de sólidos inorgânicos devido ao seu eficaz mecanismo de entrega de energia que proporciona rapidez no processo de síntese além de gerar materiais com maior pureza de fase. Neste contexto, o presente trabalho visou a otimização das sínteses das zeólitas NaA e NaX utilizando radiação de micro-ondas e a caracterização utilizando as técnicas de DRX (Difração de Raios-X), MEV (Microscopia eletrônica de varredura) e EDS (Energy-dispersive X-Ray Spectroscopy). As zeólitas foram sintetizadas e caracterizadas visando a posterior aplicação como agentes hemostáticos coagulantes. Os experimentos mostraram que a zeólita NaA obtida utilizando radiação de micro-ondas durante 30 minutos possui as mesmas características da zeólita NaA sintetizada utilizando aquecimento convencional por 48 horas, indicando que com a utilização da radiação foi possível alcançar uma redução de 98,96% no tempo de síntese. A aplicação de aquecimento de micro-ondas na síntese da zeólita NaX também provou decréscimo no tempo de síntese quando comparado ao aquecimento convencional, entretanto os dados de microscopia eletrônica revelaram que a zeólita sintetizada pelo aquecimento de micro-ondas estavam aglomeradas. A fim de tornar o coloide mais estável, foi feita a estabilização estérica dessas zeólitas através da esterificação dos grupos silanóis presentes na superfície das mesmas utilizando 1-propanol e 1-butanol. Os dados MEV mostraram que a modificação foi eficiente e que a dispersão foi estabilizada após o tratamento. Em relação ao potencial das zeólitas como agentes hemostáticos coagulantes, os dados de tromboelastografia mostraram que as zeólitas NaA e NaX provocaram diminuição no tempo necessário para a formação e crescimento do coágulo porém, dentre todas as zeólitas avaliadas, a zeólita NaX sintetizada por aquecimento convencional se destacou como agente hemostático apresentando uma redução de 6 minutos no tempo de formação do coágulo.

Palavras-chave: Zeólitas, Micro-ondas, Coagulação

Abstract

Conventional heat source has been substituted by microwave heat source in many chemical reactions including inorganic solids syntheses, since the microwave heat source can accelerate the energy delivery. Because of that, it is possible to obtain syntheses in a shorter time and materials obtained have a higher purity phases. Zeolites were synthesized and characterized aiming to zeolites hemostatic agents application. In this context, this work aimed to synthesize NaA and NaX zeolites employing microwave radiation and to characterize materials obtained using XRD (X-Ray Diffraction), SEM(Scanning Electron Microscopy) and EDS (Energy-dispersive X-Ray Spectroscopy) techniques. NaA zeolite obtained by microwave radiation after 30 minutes showed the same characteristics of NaA zeolite obtained by conventional heat after 48 hours. In other words, the substitution of the heat source reduced 98,96% the synthesis time. Related to NaX zeolite, microwave radiation also reduced the synthesis time, however SEM and EDS data showed some differences between NaX obtained by conventional and NaX obtained by microwave heating. It was also observed by SEM that the colloidal system of NaX obtained by microwave radiation has agglomerated. In order to stabilize sterically the colloid, NaX surface was functionalized by silanols groups esterification using 1-propanol and 1-butanol alcohols. SEM data showed that steric stabilization was successful. Regarding the potential of the zeolites as hemostatic coagulating agents, thromboelastography data showed that NaA and NaX zeolites caused decrease in time required for clot formation and growth. However, among all the zeolites evaluated, NaX zeolite synthesized by conventional heating had better results as a hemostatic agent showing a reduction of 6 minutes in clot formation time.

Keywords: Zeolites, Microwaves, Coagulation

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura das zeólitas NaX(FAU) e NaA (LTA) - IZA.	17
Figura 2: Formação das unidades secundárias de construção através das unidades primárias, que por sua vez são construídas pelos tetraedros que se organizam ao redor dos cátions hidratados.....	20
Figura 3: Unidades secundárias de construção das zeólitas.	20
Figura 4: Unidades poliédricas de construção das zeólitas.	21
Figura 5: Modelo do processo de nucleação das zeólitas A, Sodalita e Faujasita a partir de unidades poliédricas de construção.	22
Figura 6: Aquecimento convencional à esquerda e aquecimento com micro-ondas a direita.....	23
Figura 7: Orientação dos dipolos presentes na amostra provenientes da interação com as ondas eletromagnéticas.....	25
Figura 8: A esquerda: Energia potencial de um sistema onde partículas de um colóide estão sujeitas a forças eletrostáticas de repulsão e forças de Van der Waals atrativas. A direita: Curva 1 representa um sistema onde a componente eletrostática é elevada enquanto que a curva 3 representa um sistema onde a componente de Van der Waals é maior.....	29
Figura 9: Estabilização eletrostática e estabilização estérica das partículas de um sistema coloidal.	30
Figura 10: Superfícies das zeólitas antes e após esterificação dos grupos silanois.....	31
Figura 11: Modelo de um tromboelastógrafo.....	33
Figura 12: Oscilação da sonda do tromboelastógrafo.	34
Figura 13: Representação gráfica do tromboelastograma.	35

Figura 14: Esquema da cascata de coagulação (via extrínseca, via intrínseca e via comum).....	38
Figura 15: Fluxograma das amostras de NaX sintetizadas utilizando micro-ondas com diferentes condições de síntese.....	43
Figura 16: DRX das amostras de NaA que foram sintetizadas utilizando aquecimento convencional a 100 °C por 48 horas (AP_67) e utilizando micro-ondas a 100 °C com diferentes tempos de exposição a radiação.....	47
Figura 17: Imagens de MEV da zeólita NaA sintetizada por aquecimento convencional a 100 °C (AP_67) com magnitudes: (A) 3.000X, (B) 25.000X. Imagens de MEV da zeólita NaA sintetizada por aquecimento de micro-ondas a 100 °C em 30min (AP_88) com magnitudes: (C) 3.000X, (D) 25.000X.	48
Figura 18: EDS das zeólitas NaA sintetizadas utilizando o aquecimento convencional a 100 °C (AP_67) e utilizando radiação de micro-ondas a 100°C (AP_88).....	49
Figura 19: Potencial zeta das zeólitas NaA sintetizadas com aquecimento convencional por 48 horas (AP_67) e com aquecimento de micro-ondas por 30 minutos (AP_88)....	50
Figura 20: Comparação do padrão de DRX das amostras de NaX sintetizadas por aquecimento convencional a 60 °C (AP_01) e sintetizadas por aquecimento de micro-ondas a 60 °C (AP_98 e AP_92).	52
Figura 21: DRX das amostras de NaX sintetizadas a 60°C. Todas as amostras passaram pelo processo de envelhecimento de 24h e posteriormente foram expostas a radiação de micro-ondas por diferentes tempos.....	53
Figura 22: DRX das amostras de NaX sintetizadas, sem envelhecimento, a 90°C utilizando radiação de micro-ondas por diferentes tempos.	53
Figura 23: DRX das amostras de Nax com e sem envelhecimento sintetizadas utilizando radiação de micro-ondas por 2 horas a 90 °C.	54

Figura 24: Micrografias da zeólita NaX sintetizada utilizando aquecimento convencional (AP_01) com magnitudes: (A) 8.000X com inset do EDS, (B) 60.000X, (C) 240.000X, (D) 500.000X.....	55
Figura 25: Distribuição de tamanhos da zeólita NaX sintetizada aquecimento convencional por 48horas a 60 °C (AP_01).	56
Figura 26: Micrografias da zeólita NaX sintetizada utilizando micro-ondas (AP_70) com magnitudes: (A) 8.000X com inset do EDS, (B) 60.000X, (C) 240.000X, (D) 500.000X.	57
Figura 27: Potencial zeta da zeólita NaX sintetizada por aquecimento convencional a 60 °C por 48h (em preto) e potencial zeta das zeólita NaX sintetizada com 24 horas de envelhecimento e aquecimento de micro-ondas por 2 horas a 90°C.	58
Figura 28: DRX das amostras de NaX sintetizadas com diferentes tempos de envelhecimento e utilizando radiação de micro-ondas (M.O.) por 2 horas a 90°C.....	59
Figura 29: Imagens de MEV da zeólita NaX sintetizada por micro-ondas a 90 °C (AP_70) com magnitudes: (A) 8000X e (D) de 60000X. Imagens de MEV da zeólita após a esterificação com propanol (AP_70P) com magnitudes: (B) 8000X, (E) 60000X. Imagens de MEV da zeólita após a esterificação com propanol (AP_70B) com magnitudes: (B) 8000X, (E) 60000X. Nestas micrografias as zeólitas foram dispersas em água.....	61
Figura 30: Distribuição de tamanhos da zeólita NaX sintetizada utilizando aquecimento de micro-ondas após a reação de esterificação dos grupos silanois (AP_70_1-propanol).	62
Figura 31: EDS da zeólita NaX sintetizada sob radiação de micro-ondas após a esterificação com 1-propanol e 1-butanol(AP_70P e AP_70B).....	63

Figura 32: Imagens de MEV (A) da zeólita NaX sintetizada por micro-ondas a 90 °C (AP_70) (B) da zeólita após a esterificação com propanol (AP_70P) e (C) da zeólita após a esterificação com propanol (AP_70B). Nestas micrografias as zeólitas foram dispersas em 1-heptanol e a magnitude foi de 8.000X.	64
Figura 33: Potencial zeta da zeólita NaX sintetizada por aquecimento convencional a 60 °C por 48h (AP_70, em preto e potencial zeta das zeólita NaX após a esterificação com propanol (AP_70P, em vermelho) e com butanol (AP_70B, em verde).	65
Figura 34: Espectro de infravermelho das amostras de NaX antes (AP_70) e após a esterificação com os alcoóis (AP_70P e AP_70B).	66
Figura 35: Tromboelastogramas de amostras de sangue: com adição da zeólitas NaX sintetizadas por aquecimento convencional (AP_01) (curva em preto); com adição de NaX sintetizada por aquecimento de micro-ondas após a esterificação com propanol (AP_70P) (curva em verde); com adição de NaX sintetizada por micro-ondas (AP_70) (curva em rosa); com adição de NaA sintetizada por micro-ondas (AP_88) (curva em marrom) e amostra controle sem adição de material zeolítico (curva em azul).	67

Lista de Tabelas

Tabela 1: Sínteses utilizando micro-ondas das zeólitas NaX e NaA reportadas na literatura.....	27
Tabela 2: Exemplos de alguns agentes hemostáticos juntamente com seus princípios ativos, mecanismos de ação, forma farmacêutica e laboratório responsável.	40
Tabela 3: Sínteses da zeólita NaX realizadas sob radiação de micro-ondas a 90°C por 2 horas com diferentes tempos de envelhecimento.	44
Tabela 4: Dados de TEG	68

Abreviaturas e Siglas

AP_x: Amostras sintetizadas por Ana Povinelli.

DLVO: teoria dos autores Boris Derjaguin e Lev Landau, Evert Verwey e Theodoor Overbeek que descreve o comportamento de coloides liofóbicos.

DRX – Difração de Raios-X.

EDS / EDX : Energy-dispersive X-Ray Spectroscopy (Espectroscopia de Raios-X por dispersão em energia).

MEV- Microscopia eletrônica de varredura.

TEG- Análise de Tromboelastografia.

Sumário

1. Introdução.....	16
1.1. Zeólitas.....	16
1.2. Sínteses hidrotermais de zeólitas.....	18
1.2.1. Aquecimento convencional e aquecimento por micro-ondas.....	22
1.3. Modificação da superfície das zeólitas.....	27
1.4. Zeólitas como agentes hemostáticos coagulantes.....	31
1.5. Hemostasia.....	35
1.5.1 Cascata de coagulação.....	36
1.6. Agentes hemostáticos.....	38
2. Objetivos.....	41
3. Procedimentos Experimentais.....	41
3.1. Sínteses utilizando aquecimento convencional.....	41
3.1.1. Síntese da zeólita NaA.....	41
3.1.2. Síntese da zeólita NaX.....	41
3.2. Sínteses utilizando radiação de micro-ondas.....	42
3.2.1. Síntese da zeólita NaA.....	42
3.2.2. Síntese da zeólita NaX.....	43
3.3. Esterificação dos grupos silanóis da zeólita NaX sintetizada sob radiação micro-ondas.....	44
3.4. Caracterização das zeólitas.....	45
3.5. Tromboelastografia.....	46

4. Resultados e Discussões.....	46
4.1. Caracterização das zeólitas NaA sintetizadas pelo aquecimento convencional e sintetizadas pelo aquecimento de micro-ondas.....	46
4.2. Caracterização das zeólitas NaX sintetizadas pelo aquecimento convencional e sintetizadas pelo aquecimento de micro-ondas.....	51
4.2.1 Modificação da superfície da zeólita NaX sintetizada sob radiação de micro-ondas (AP_70).	59
4.3. Tromboelastografia.....	67
5. Conclusões	70
Referências	73

1. Introdução

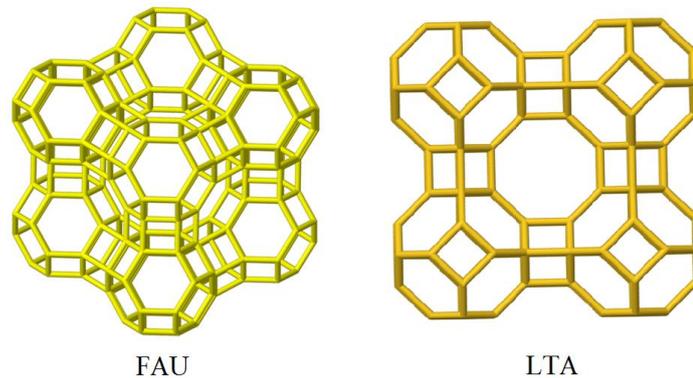
1.1. Zeólitas

O termo zeólita que vem do grego, zein (ferver) + lithos (pedra), e significa “pedra em ebulição” foi o nome dado pelo mineralogista sueco Axel von Cronstedt (1756) a um mineral que liberava água, visivelmente, quando aquecido^{1; 2}. A partir daí, muitos outros minerais similares a estes foram descobertos e a palavra zeólita passou a descrever uma família de minerais.

Historicamente, as zeólitas são definidas como aluminosilicatos que possuem estrutura tridimensional com ligações tetraédricas entre Silício-Oxigênio-Alumínio. Esta definição foi ampliada para incluir todos materiais caracterizados como materiais cristalinos de estrutura tetraédrica que contenha quatro Oxigênios circundado por cátions que podem ser Al, Si, P, Be, Zn, Mg, Co, B, etc. Esta estrutura contém canais e cavidades (Figura 1) nos quais podem ser encontrados moléculas de água, que podem ser liberadas reversivelmente, e cátions que são usualmente substituídos pelo método de troca iônica. Esses canais também podem ter regiões microporosas e serem grandes o suficiente para acomodar determinadas moléculas, que podem ou não serem orgânicas^{1; 2}.

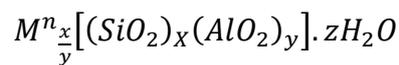
Os tetraedros TO_4 nas zeólitas possuem ângulos T-O-T no intervalo de 125° a 180° , sendo essa a razão da existência de tantas estruturas diferentes. São estimadas, computacionalmente, cerca de 6 milhões de diferentes estruturas possíveis.^{2; 3} Dentre todas essas possíveis estruturas, duas delas foram estudadas neste trabalho, são elas: a zeólita NaX, com estrutura do tipo FAU e NaA com estrutura do tipo LTA (Figura 1).

Figura 1: Estrutura das zeólitas NaX(FAU) e NaA (LTA) - IZA.



Fonte: Adaptado do banco de dados de estruturas de zeólitas (IZA)⁴.

A fórmula geral de uma zeólita à base de aluminossilicato pode ser escrita como:



Onde,

M = cátion de compensação, que pode ser alcalino ou alcalino terroso.

n = número de valência do cátion de compensação.

x = número de silício por fórmula unitária.

y = número de alumínio por fórmula unitária.

z = número de moléculas de água no sistema de cavidades .

A presença dos átomos de alumínio, com coordenação tetraédrica, na rede induz a uma carga líquida negativa que pode ser variada, mudando a relação de Si/Al. Essa carga negativa é neutralizada pela presença dos cátions metálicos ou orgânicos. Os cátions trocáveis estão geralmente localizados nos canais e cavidades, podendo ser trocados pelo tratamento de troca iônica com uma solução salina em condições físico-químicas apropriadas.

Além da sua carga negativa, as zeólitas possuem alta estabilidade térmica, grande área superficial interna, tipicamente em torno de 300-700 m².g⁻¹, e a presença de

uma alta concentração de sítios ativos catalíticos ácidos ou básicos. As propriedades físico-químicas das zeólitas estão diretamente relacionadas à sua estrutura e por esta razão, a caracterização e a descrição estrutural dos materiais zeolíticos são muito importantes.

As propriedades físico-químicas das zeólitas permitem vasta aplicação desses materiais em áreas distintas. As zeólitas possuem propriedades catalíticas em reações de hidrocrackeamento e hidroisomerização⁵, também podem ser utilizados como suporte para imobilização de enzimas⁶ e sua versatilidade se estende a aplicações na área médica podendo atuar como agentes hemostáticos coagulantes⁷ e agentes de contraste para exames de ressonância magnética nuclear⁸. Recentemente, o uso de zeólitas também vem sendo explorado como sensores químicos e semicondutores^{9; 10}.

Por conta de sua versatilidade nas aplicações industriais, muitos grupos de pesquisa vem direcionando seus esforços a fim de otimizar a síntese hidrotermal desses materiais utilizando radiação de micro-ondas para que seja possível obter materiais com maior pureza de fase em um tempo menor que aquele das sínteses convencionais.

1.2. Sínteses hidrotermais de zeólitas.

As zeólitas naturais apresentam propriedades importantes e amplamente utilizadas na área industrial como: adsorção, catálise e filtração. No entanto, esses materiais, quando encontrados na natureza, possuem impurezas e suas reservas são escassas o que motivou os pesquisadores do século XX a sintetizar os materiais zeolíticos.^{11; 12}

As sínteses hidrotermais de zeólitas tiveram início nos anos 40 com Richard Barrer e Robert Milton, que sintetizaram pela primeira vez as zeólitas A, B e C. Junto a

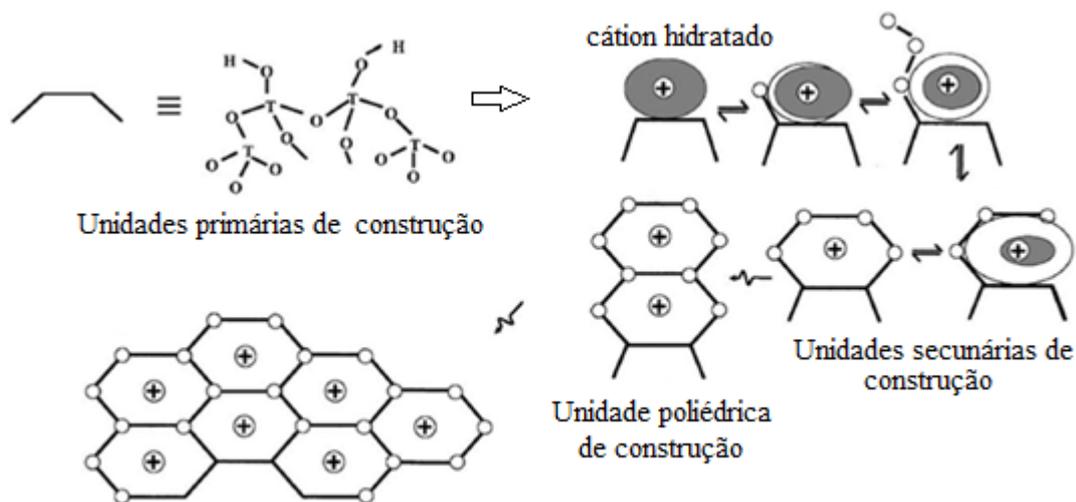
zeólita B os autores encontraram uma impureza que foi denominada X e anos mais tarde, em 1950, o que acreditava-se ser uma impureza X nada mais era que um cristal isoestrutural a zeólita natural faujasita, que posteriormente foi sintetizada sem concorrência de fase e denominada de zeólita X.¹² Em 1953, Milton e colaboradores já tinham sintetizado hidrotermicamente 20 zeólitas sendo que 14 delas não eram isoestruturais a nenhum mineral conhecido, como é o caso da zeólita A.¹³ Na década seguinte houveram muitos avanços na área de síntese de zeólitas incluindo o uso de componentes orgânicos como agentes direcionadores de estrutura (structure direct agents - SDAs), o uso desses direcionadores possibilitou a síntese de estruturas com mesoporos (20 -200 Å), que por sua vez permitem a passagem de moléculas maiores, ampliando a propriedade catalítica para outras moléculas.

Uma típica síntese hidrotermal de zeólitas requer uma fonte de silício, uma fonte de alumínio, um meio alcalino e uma fonte de energia para que o sistema se organize formando novos cristais. Como revisado por Cundy e Cox¹⁴, existem muitos modelos para explicar a organização, a nucleação e o crescimento das zeólitas a partir de uma solução de reagentes amorfos que contém sílica e alumínio e que são misturados juntos de uma fonte de cátion, geralmente em um pH básico. Um dos modelos amplamente utilizado para descrever o processo de obtenção de zeólitas é o descrito por Flanigen e colaboradores¹⁵ e Chang e colaboradores¹⁶.

No modelo descrito pelos autores citados acima, a mistura contendo os reagentes é aquecida em uma autoclave para que ocorra a formação das unidades primárias de construção que são átomos de silício e alumínio ligados a oxigênios de maneira a formar tetraedros (TO₄) como mostrado na Figura 2. Ainda sob aquecimento, essas unidades primárias de construção, ao receber energia, se organizam em volta de cátions

ou até mesmo em torno de moléculas orgânicas (SDAs) formando as unidades secundárias de construção.

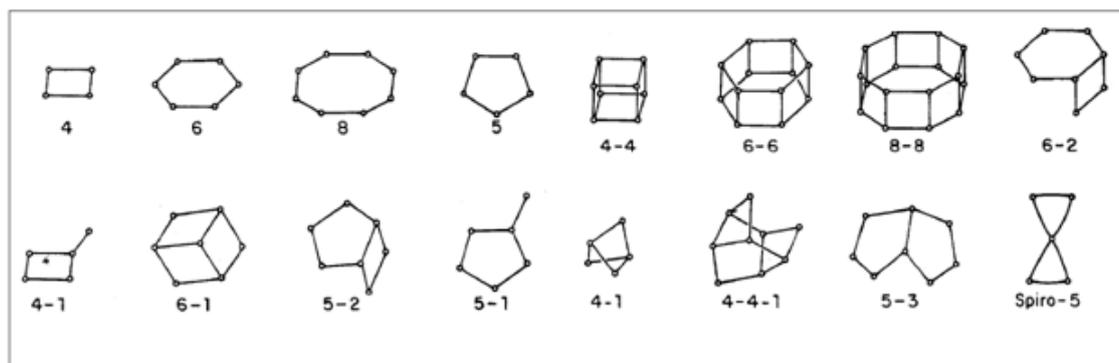
Figura 2: Formação das unidades secundárias de construção através das unidades primárias, que por sua vez são construídas pelos tetraedros que se organizam ao redor dos cátions hidratados.



Fonte: Adaptado de Cundy e Cox, 2005¹⁴.

Ao todo foram propostas por Meier² 16 unidades secundárias de construção que possuem de 4 a 16 átomos, como mostrado na Figura 3 .

Figura 3: Unidades secundárias de construção das zeólitas.

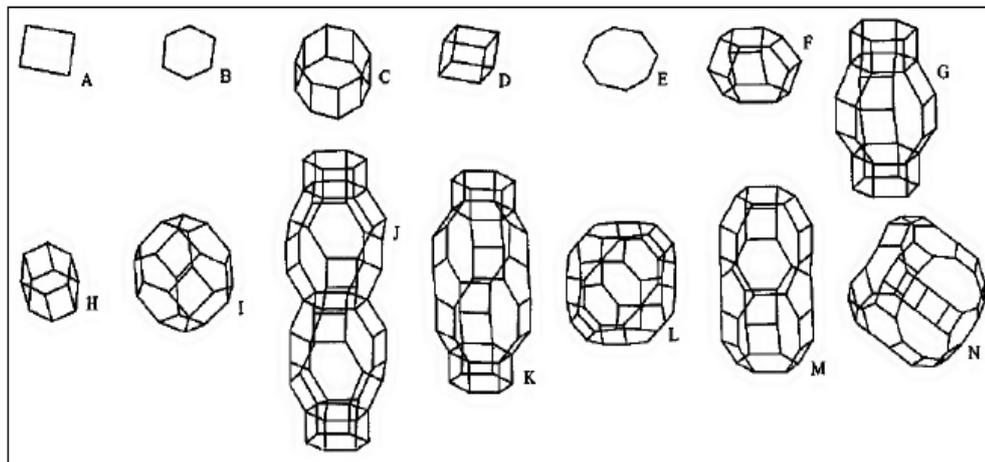


Fonte: Smart e Moore, 2012.¹⁷

As unidades secundárias de construção por sua vez juntam-se para formar as unidades poliédricas de construção que, como mostra a Figura 4, são estruturas mais

complexas que já apresentam canais e cavidades formados pelo modo como as unidades primárias e secundárias se organizam.

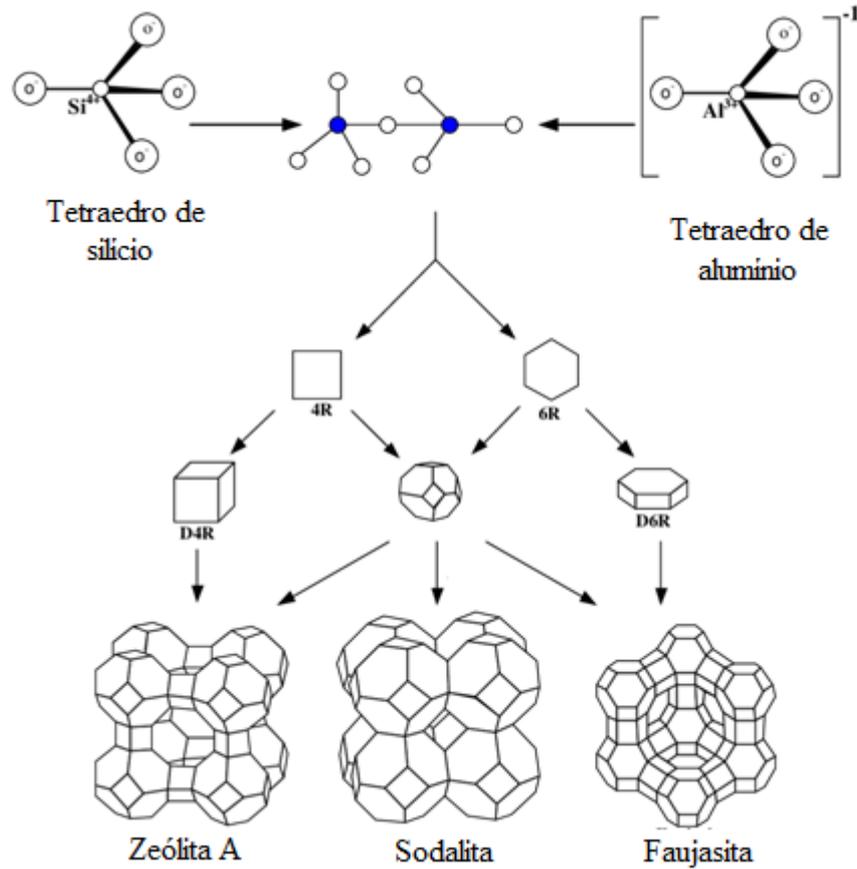
Figura 4: Unidades poliédricas de construção das zeólitas.



Fonte: Smart e Moore, 2012.¹⁷

Em resumo, os primeiros núcleos de zeólitas são formados a partir das unidades poliédricas de construção. Como mostra a Figura 5, a zeólita NaX (Faujasita) é formada a partir das estruturas I e H mostradas na Figura 4, enquanto que a zeólita NaA (zeólita A) são formadas a partir das estruturas I e D.

Figura 5: Modelo do processo de nucleação das zeólitas A, Sodalita e Faujasita a partir de unidades poliédricas de construção.



Fonte: Masoudian, Sadighi e Abbasi, 2013.¹⁸

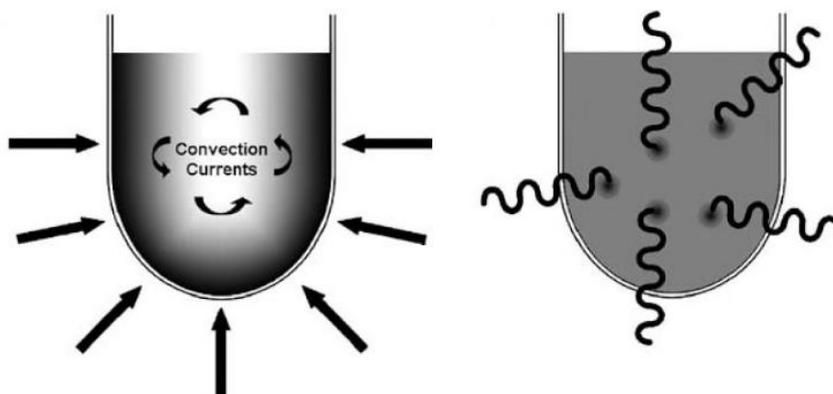
Como mencionado anteriormente, para que aconteça a organização das moléculas de modo a formar as estruturas descritas é necessário que o sistema receba energia e isso pode ser feito de maneira convencional, utilizando estufas ou de maneira a utilizar radiação de micro-ondas.

1.2.1. Aquecimento convencional e aquecimento por micro-ondas

As sínteses de materiais cristalinos são tradicionalmente realizadas utilizando fontes de aquecimento convencional, onde uma fonte de calor externa (forno) aquece o mistura reacional através da condução de calor, todavia esta forma de transferência é

lenta e dependente da condutividade térmica do reator onde o gel de síntese está inserido. Isso provoca, na maioria das vezes, um gradiente de temperatura antes que se atinja o equilíbrio térmico, o que resulta em uma temperatura do reator superior à do gel durante o processo de aquecimento(Figura 6). Este gradiente de temperatura e a lentidão no processo de transferência de energia resulta em produtos com distribuições de tamanho e fases heterogêneas, o que torna desinteressante do ponto de vista de aplicação.

Figura 6: Aquecimento convencional à esquerda e aquecimento com micro-ondas a direita.



Fonte: Adaptado de Kappe, Dallinger e Murphree, 2008¹⁹.

Uma alternativa para contornar esses aspectos negativos gerados no processo de síntese de materiais cristalinos é a substituição da fonte de aquecimento convencional pela fonte de radiação de ondas eletromagnéticas na faixa de micro-ondas. O processo de absorção das ondas eletromagnéticas, diferentemente do aquecimento convencional, gera um grande número de pontos quentes na amostra (Figura 6). Como consequência, as micro-ondas promovem um aquecimento mais rápido, bem como a formação homogênea de núcleos de cristais. Devido aos fenômenos mencionados, obtém-se ao final do processo de síntese utilizando radiação micro-ondas, partículas com distribuição de tamanhos mais uniformes²⁰.

A radiação de micro-ondas é composta de ondas eletromagnéticas que possuem comprimentos de onda na faixa de 1m a 1mm (0.3 a 300GHz) sendo que a frequência de 2,45GHz é a mais utilizada, tanto em fornos domésticos como àqueles destinados à sínteses. Por possuírem faixa de comprimentos de onda fora do espectro de absorbância do reator de Pyrex utilizado nos experimentos deste trabalho, que é de 300-340nm²¹, essa radiação não é absorvida pelo reator e por conta disto tem-se uma entrega total de energia para a mistura reacional.

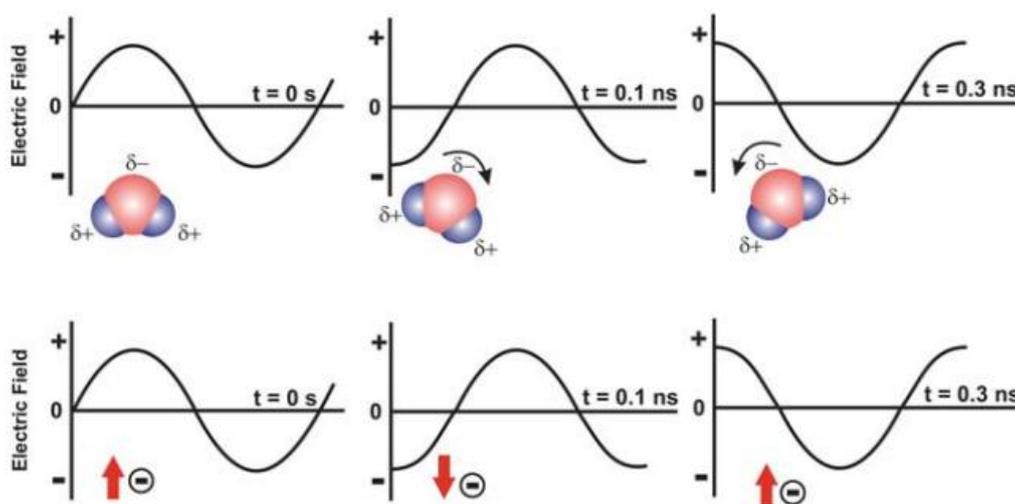
Utilizando a Equação 1, onde h é a constante de Plank ($6,626 \cdot 10^{-34} \text{ m}^2 \text{ kg/s}$) e ν é a frequência da micro-onda (2,45GHz), calcula-se que a energia de um fóton dessa radiação é de $1,62 \cdot 10^{-24} \text{ J}$. Essa energia é 10^4 vezes menor que a energia de uma ligação de hidrogênio ($3 \cdot 10^{-20} \text{ J}$) e 10^5 vezes menor que uma ligação do tipo Si–O ($7 \cdot 10^{-19} \text{ J}$), portanto a energia da radiação utilizada não provoca ruptura das ligações covalentes presentes nos tetraedros da amostra e os efeitos gerados se restringem a efeitos térmicos que incluem movimento de íons e rotações de dipolos.

$$E = h\nu \quad \text{Equação 1}$$

Quando a radiação na faixa de micro-ondas entra em contato com o gel de síntese, os dipolos elétricos presentes na amostra se alinham com a componente elétrica da onda eletromagnética, que oscila no espaço e no tempo, transformando energia potencial elétrica em energia cinética de rotação e como consequência promovendo o aumento da energia interna do sistema (Figura 7) ²⁰. Outro efeito que atua concomitantemente à rotação dos dipolos elétricos para aquecer a amostra é o movimento dos íons gerados pela transformação da energia potencial elétrica da onda em energia cinética de translação que também contribui para o aumento da energia interna do sistema. Como consequência de um aquecimento mais eficiente, as sínteses

são mais rápidas e os produtos obtidos são mais uniformes que aqueles obtidos quando utiliza-se aquecimento convencional.

Figura 7: Orientação dos dipolos presentes na amostra provenientes da interação com as ondas eletromagnéticas.



Fonte: Bilecka e Niederberger, 2010²².

Por conta das vantagens do uso do aquecimento de micro-ondas em relação ao uso do aquecimento convencional, a síntese de sólidos inorgânicos utilizando radiação de micro-ondas se tornou um novo objeto de pesquisa da área de síntese de materiais. A primeira patente de zeólita sintetizada utilizando radiação de micro-ondas foi depositada em 1988 e desde então, houve um aumento no uso de micro-ondas em sínteses inorgânicas. Até o presente momento, foi reportado na literatura a síntese utilizando aquecimento por micro-ondas das zeólitas A^{23; 24; 25}, X^{20; 26}, Y²⁷, Beta²⁷ e ZSM5²⁸.

A Tabela 1 reúne as sínteses de NaX e NaA reportadas na literatura, essas estruturas são as mesmas estudadas neste trabalho e foram sintetizadas com métodos semelhantes. Ansari e colaboradores²⁶ obtiveram a zeólita NaX depois de 3 horas sob radiação de micro-ondas a 90°C. A mesma zeólita foi obtida pelos autores após 1 hora

de exposição a radiação a 110°C, porém esses resultados foram obtidos após 24 horas de envelhecimento do gel totalizando um tempo de 27 e 25 horas. Os resultados obtidos pelos autores, mostram que a utilização de micro-ondas reduziu em aproximadamente 50% o tempo de uma síntese convencional que é de 48 horas. Romero e colaboradores²⁰ também estudaram a síntese da zeólita NaX e obtiveram o material zeolítico após 15 h a 70°C sem envelhecer o gel, ou seja, uma redução de 68% no tempo da síntese.

Nos estudos reportados da zeólita NaA também foi observado reduções apreciáveis nos tempos de síntese. Uma síntese convencional da zeólita NaA leva 48 horas, enquanto que nos estudos reportados por Slangen, Jansen e Van Bekkum²⁵ e Chandrasekhar e Pramada²³, o material foi obtido após 5 e 2 minutos de síntese, respectivamente, porém as amostras foram envelhecidas por 20 horas antes de serem expostas a radiação de micro-ondas, portanto o tempo total de síntese foi de 20 horas e 5 minutos e 20 horas e 2 minutos, uma redução de aproximadamente 58%. Chandrasekhar e Pramada também estudaram a síntese da zeólita NaA sem tempo de envelhecimento e obtiveram a zeólita após 2 horas de síntese a 85°C, ou seja uma redução de 95 % no tempo da síntese.

Tabela 1: Sínteses utilizando micro-ondas das zeólitas NaX e NaA reportadas na literatura.

	Autor	Tempo de envelhecimento a 25 °C	Síntese		Reagentes
			Tempo	Temperatura	
NaX	Romero, M. D., et al.,2004 ²⁰	----	15h	70 °C	Aluminato e silicato de sódio, hidróxido de sódio e de potássio
		----	32h	50°C	
	Ansari, M., et al., 2014 ²⁶	24h	3h	90°C	Aluminato e silicato de sódio, hidróxido de sódio
		24h	1h	110°C	
NaA	Slangen, P.; Jansen, J.; Van Bekkum, H,1997 ²⁵	20h	5min	100°C	Aluminato de sódio e sílica fumed
	Sathupunya, M.; Gulari, E.; Wongkasemjit, S.,2003 ²⁴	20h	140min	110°C	Alumatrano e silatrano
	Chandrasekhar, S.; Pramada, P., 2008 ²³	20 h	2min	85°C	Metakaolin e hidróxido de sódio
		----	2h	85°C	

1.3. Modificação da superfície das zeólitas.

Para a caracterização das zeólitas, muitas vezes é necessário fazer a dispersão do material em água ou em outro dispersante, como é o caso de experimentos de microscopia eletrônica de varredura(MEV) e medidas de potencial zeta. Durante a caracterização por meio de MEV da zeólita NaX sintetizada neste trabalho, notou-se a formação de aglomerados que não permitiam a completa caracterização do material. Por conta disso, surgiu o interesse de estudar maneiras de estabilizar o sistema coloidal em estudo .

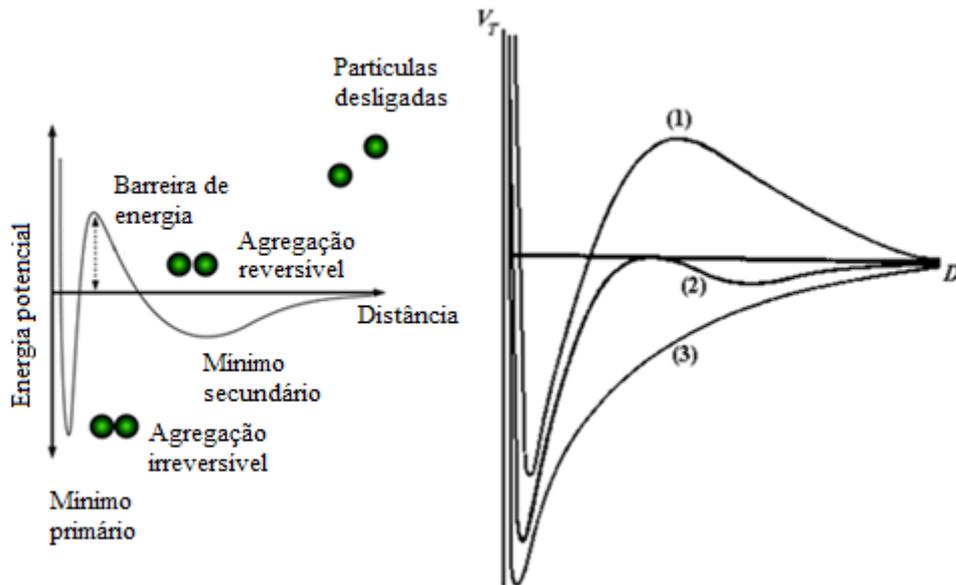
Quando partículas com dimensões nanométricas estão dispersas em um meio líquido, tem-se a formação de um sistema coloidal, portanto o sistema pode ser modelado através das interações descritas pela teoria desenvolvida por Boris Derjaguin e Lev Landau, Evert Verwey e Theodoor Overbeek, conhecida como teoria DLVO. No

caso de coloides formados por zeólitas, é necessário a adição de potenciais que incluam efeitos da interação das zeólitas com o dispersante, como por exemplo ligações de hidrogênio, potencial esse que a teoria DLVO não abrange.^{29; 30}.

Os potenciais utilizados pelas teorias que modelam sistemas coloidais, descrevem sob quais condições um sistema coloidal está estável (suas partículas estão dispersas) e sob quais condições suas partículas aglomeram. De maneira simplificada, as partículas de um sistema coloidal estão sujeitas a um balanço de forças de Van der Waals (atrativas) e forças eletrostáticas (repulsivas) que resulta em um potencial como o mostrado na Figura 8. Neste modelo, quanto maior é a componente eletrostática (repulsiva) maior será a barreira de energia e portanto a configuração mais estável para o sistema é manter as partículas separadas (situação representada pela curva 1 do gráfico a direita da Figura 8).

A medida que a componente eletrostática repulsiva diminui, a barreira de energia diminui e as partículas do coloide ficam mais suscetíveis a aglomerar e conseqüentemente levar o sistema para o menor nível de energia (situação representada pela curva 3 do gráfico a direita da Figura 8).

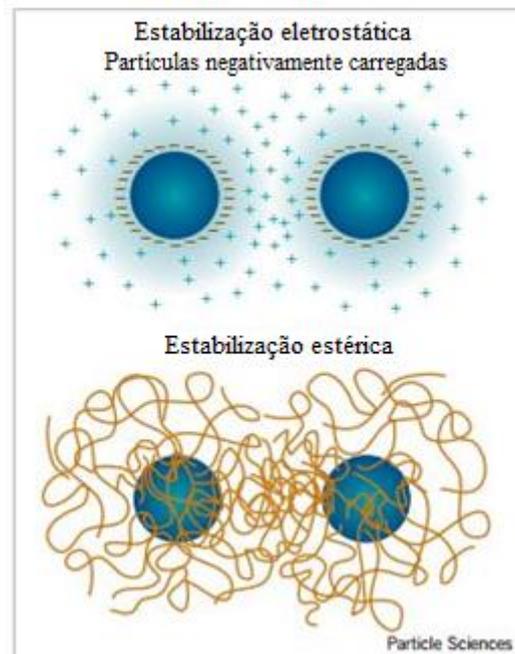
Figura 8: A esquerda: Energia potencial de um sistema onde partículas de um colóide estão sujeitas a forças eletrostáticas de repulsão e forças de Van der Waals atrativas. A direita: Curva 1 representa um sistema onde a componente eletrostática é elevada enquanto que a curva 3 representa um sistema onde a componente de Van der Waals é maior



Fonte: Adaptado de <http://www.particlesciences.com>³¹.

A estabilidade de um sistema coloidal pode ser controlada por meio da modificação da concentração dos eletrólitos no meio, fazendo com que a repulsão entre as partículas do colóide aumente e seja energeticamente favorável o distanciamento destas. Outra maneira de estabilizar um colóide é fazer com que as partículas sejam impedidas estericamente de ficarem próximas umas das outras, neste caso, a concentração de eletrólitos não influencia na estabilidade do colóide. As diferentes formas de estabilização são mostrada na Figura 9.

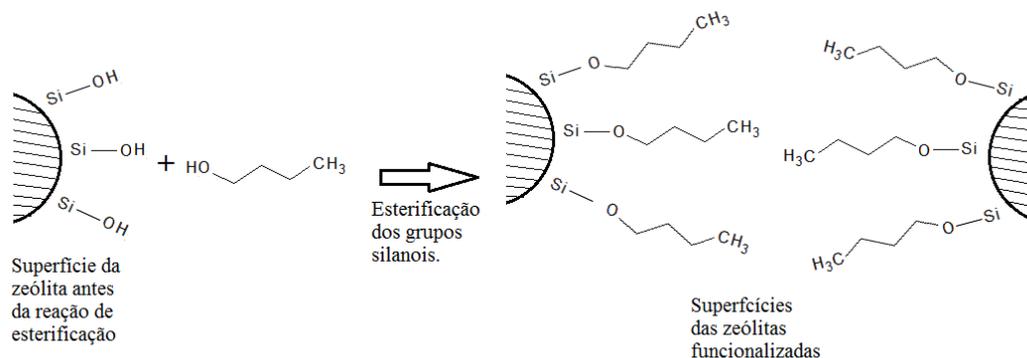
Figura 9: Estabilização eletrostática e estabilização estérica das partículas de um sistema coloidal.



Fonte: Adaptado de <http://www.particlesciences.com> ³¹.

Uma das formas de estabilizar estericamente as zeólitas é adicionando hidrocarbonetos em sua superfície, como mostrado na Figura 10. O método de adição desses grupos químicos à superfície de materiais inorgânicos foi desenvolvido por Iler Ralph, K^{32; 33} para estabilizar partículas de sílica e posteriormente foi utilizado por Larlus e colaboradores³⁴ para estabilizar o coloide formado por nanozeólitas Beta.

Figura 10: Superfícies das zeólitas antes e após esterificação dos grupos silanois.



1.4. Zeólitas como agentes hemostáticos coagulantes

Como já mencionado, as zeólitas têm sido tradicionalmente utilizadas como catalisadores, agente de adsorção e trocadores iônicos³⁵. Todavia a partir de 1980, o potencial e eficácia do uso de materiais zeolíticos como eficiente agente hemostático ficaram evidenciados quando a empresa norte-americana Z-Médica depositou a primeira patente descrevendo a invenção ou desenvolvimento de agentes hemostáticos a base de zeólitas. Trata-se então do agente hemostático chamado comercialmente de Quikclot, produto esse elaborado a partir da zeólita faujasita (FAU). Em 2002, a Food and Drug Administration (FDA), aprovou o uso desse agente hemostático, e o mesmo foi usado para cuidados de sangramento em vítimas de guerra. O Quikclot foi amplamente aceito e usado pelas forças de combate norte-americanas durante a guerra do Iraque (2003-2010) e Afeganistão (2001- 2013)^{36; 37; 38}.

O mecanismo proposto para a ação do agente hemostático a base de materiais zeolíticos ocorre por meio do aumento da adsorção das moléculas de águas presentes no sangue. No momento do contato entre a zeólita e o sangue, a área superficial da zeólita desidratada adsorve as moléculas de água, concentrando assim fatores de coagulação e plaquetas do sangue e conseqüentemente acelerando a coagulação^{35; 36}. A superfície de

carga negativa das zeólitas fornece um ambiente químico favorável que age como um ativador de contato do padrão intrínseco da cascata de coagulação ativando proteínas e fatores, que iniciam uma série de mecanismos em cadeia responsáveis pela associação da enzima trombina e a polimerização da fibrina.^{39; 40} Estes resultados, bastantes positivos em relação ao uso de zeólitas como agentes hemostáticos, relevam a importância dessa classe de minerais e incentiva a busca por novos materiais zeolíticos que possam ser mais efetivos no controle de sangramentos e hemorragias de alto risco, incentivando uma intensa atividade de pesquisa nessa área em vários laboratórios acadêmicos e industriais.^{36; 40; 41; 42}

Este fenômeno que ocorre com os materiais zeolíticos e o plasma sanguíneo, já foi observado com outros materiais inorgânicos. De acordo com a literatura, a exposição do plasma sanguíneo a certos materiais como vidro, caolin e outros materiais com a superfície carregada negativamente tem a capacidade de iniciar reações de ativação de contato que desencadeiam a via intrínseca de coagulação, a via de formação de cinina, e a via de fibrinólise⁴³. Ativação da coagulação sanguínea por contato é comumente denominado “*glass effect*”. É o processo pelo qual as superfícies polares carregadas negativamente de certos materiais ativam a via intrínseca da cascata de coagulação do sangue.

A ativação de fatores de coagulação XII, XI, precalicreína e quininogênio de alto peso molecular é iniciado pela exposição do sangue a uma superfície polar externa, e esta por sua vez ativam os numerosos mecanismos de *feedback* responsáveis pela associação da enzima trombina e a polimerização da fibrina^{39; 44}. O mesmo princípio do “*glass effect*” pode ser aplicado aos materiais zeolíticos em sua interação com o plasma sanguíneo.

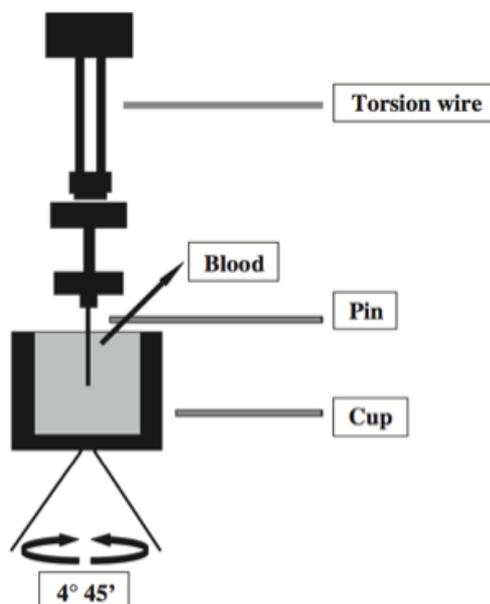
A medida do potencial de agentes hemostáticos coagulantes é avaliado por meio

da tromboelastografia (TEG), que é um método experimental *in vitro* que permite a avaliação global do processo de iniciação, formação, estabilização e quebra do coágulo.

São avaliadas as propriedades elásticas do coágulo que fornece uma avaliação global da função hemostática. As alterações que ocorrem durante a coagulação são registradas, fornecendo uma representação gráfica do processo de polimerização da fibrina e também da força do coágulo.⁴⁵

Como mostra a Figura 11, o tromboelastógrafo contém um cup onde o sangue é colocado e este cup é mantido sob oscilação. Além disso, o tromboelastógrafo possui um pin que é posicionado dentro do cup, em contato com o sangue. Como mostrado na Figura 11, o cup faz a ligação entre o que acontece na amostra e o fio de torção, que registra as mudanças ocorridas no sangue.

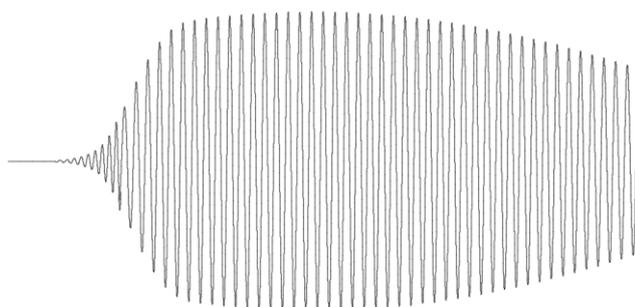
Figura 11: Modelo de um tromboelastógrafo.



Quando o sangue, ainda fluídico, é colocado no cup não existem forças de adesão entre o sangue e o pin, que como consequência se mantém parado. Com o passar do tempo o processo de formação do coágulo se inicia e a partir desse momento

acontece a adesão do sangue ao pin e como o cup está rotacionando o pin é “levado” a fazer o mesmo movimento já que está aderido ao coágulo em formação. Como no início o coágulo ainda é “fraco” e a aderência ainda é baixa, o sinal é registrado com uma amplitude pequena, como mostra a Figura 12.

Figura 12: Oscilação da sonda do tromboelastógrafo.



Na medida em que o coágulo se forma (processo de formação) a aderência aumenta e como consequência há um movimento maior do pin que é registrado pelo equipamento como uma oscilação de amplitude maior. O coágulo passa pela fase de estabilização na qual permanece aderido à sonda que não sofre mudanças significativas na amplitude de oscilação. Posteriormente, o processo de quebra do coágulo se inicia, como consequência as forças de aderência diminuem e portanto a amplitude de oscilação também.

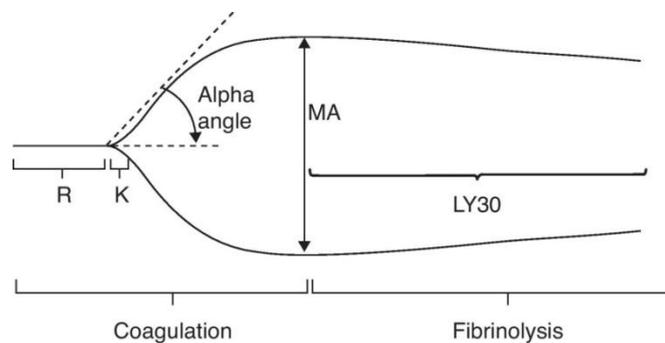
A Figura 13 apresenta o resultado padrão de um tromboelastograma que é gerado a partir das oscilações (Figura 12) registradas pelo equipamento durante o processo de coagulação.

O TEG fornece os seguintes parâmetros:

1) tempo de reação: caracterizado como R, é o tempo de formação de um coágulo reconhecível que é medido a partir do início do experimento e finalizado quando a amplitude de rotação da sonda atinge 2mm ;

- 2) tempo de coagulação: caracterizado como K, este parâmetro equivale ao tempo que inicia a partir de R e se prolonga até a amplitude de rotação da sonda atingir 20 mm. Este parâmetro mostra a formação de um coágulo relativamente firme e estável ;
- 3) ângulo α (alfa): inclinação entre R e K, é diretamente proporcional a taxa de geração de trombina e a conversão de fibrinogênio em fibrina;
- 4) MA, maior amplitude ou amplitude máxima, é diretamente proporcional a propriedade elástica da fibrina e adesão plaquetária;

Figura 13: Representação gráfica do tromboelastograma.



1.5. Hemostasia

Hemorragias incontroladas são uma das principais causas de mortes de pacientes e podem ocorrer em uma variedade de situações clínicas incluindo traumas, hemorragias pós-operatórias, aneurisma da aorta, hemorragias gastrointestinais, hemorragias obstétricas, entre outros tipos^{41; 46}. Após uma lesão traumática, a cessação do sangramento ou hemostasia, se estabelece por meio de uma série de eventos bioquímicos responsáveis pela prevenção da perda de sangue através de vedação local da lesão no sistema vascular^{47; 48}.

A hemostasia é um mecanismo fisiológico complexo, resultado de um conjunto de processos bioquímicos e enzimáticos bem regulados que mantêm o sangue dentro do vaso lesionado, impedindo também a sua coagulação nos vasos sanguíneos normais, e

ainda não restringindo o fluxo natural⁴⁹.

Basicamente, o processo hemostático é dividido em duas principais fases: primária e secundária. A hemostasia primária é iniciada imediatamente após a ruptura do endotélio e é caracterizada pela vasoconstrição, a adesão de plaquetas e formação do tampão plaquetário. Na hemostasia secundária ocorre a ativação da cascata da coagulação envolvendo várias proteínas do plasma, íons cálcio e plaquetas sanguíneas que levam à conversão do fibrinogênio em fibrina. Cada passo da cascata é iniciado e completado por meio de uma série de reações de ativação dos fatores de coagulação. Nos passos finais, a trombina converte o fibrinogênio do plasma em fibrina insolúvel que reforça a agregação plaquetária. Em seguida, ocorre a reticulação de monômeros de fibrina, e conseqüentemente a produção de um coágulo estável. Subseqüentemente a cura da lesão, as plaquetas agregadas e o coágulo de fibrina são retirados e removidos⁵⁰;
51.

1.5.1 Cascata de coagulação

A coagulação sanguínea é uma série complexa de interações nas quais o sangue perde suas características de fluido, sendo convertido em massa semi-sólida, formando um coágulo irreversível, pela interação do tecido lesado, plaquetas e fibrina⁴⁹.

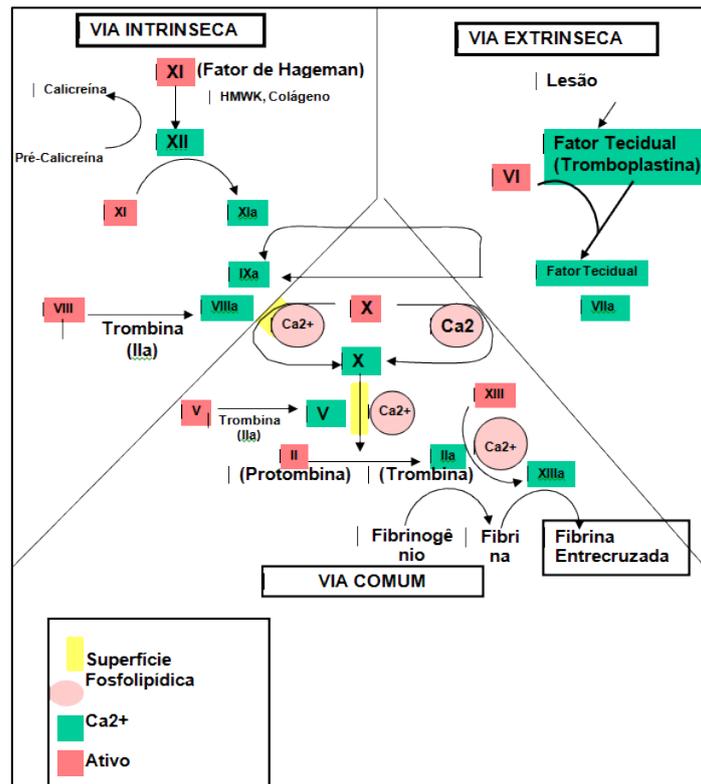
Já o modelo de cascata de coagulação consiste em uma sucessão de passos em que as enzimas clivam os substratos zimogênio (também conhecidos como pró-enzimas) para gerar as próximas enzimas utilizadas na cascata. O modelo é dividido em duas vias: extrínseca (via do fator tissular) e a via de ativação intrínseca (via da ativação de contato)⁴⁸. A Figura 14 ilustra resumidamente o esquema de cascata de coagulação com todas essas vias.

O sistema extrínseco é localizado fora do sangue e ocorre quando a ativação do fator VII, pelo fator tecidual, produz a ativação do fator X. O tecido traumatizado libera

um complexo de vários fatores, denominado fator tecidual. O fator III, o cálcio e o fator VII formam um complexo que age enzimaticamente na presença de fosfolipídios para converter o fator X para fator X ativado (FXa). O sistema intrínseco é localizado dentro do sangue e é iniciado através da ativação por contato (“glass effect”) dos fatores XII, XI, da pré-caliceína e do cininogênio de alto peso molecular (CAPM) em superfícies carregadas negativamente (polares)^{39; 48}. A caliceína e o cininogênio de alto peso (CAPM) podem modular a ativação do fator XII. A caliceína então acelera a conversão do fator XII para fator XII ativado (FXIIa). O FXIIa atua enzimaticamente sobre o fator XI para ativá-lo, subsequentemente o FXIa atua sobre o fator IX ativando-o. Por sua vez, o FIXa ao atuar com o FVIIIa, fosfolipídios plaquetários (FP3), ativa o fato X⁴⁹.

Estas duas vias convergem, formando o caminho comum, o que resulta na ativação do Fator X convertendo-o em fator X ativado (FXa), formando uma pequena quantidade de trombina. A trombina, por sua vez, atua na conversão do fibrinogênio (fator I) em monômeros de fibrina, que são interligados pelo fator XIII ativado (FXIIIa), formando polímeros insolúveis de fibrina. A transformação ou “estabilização” da fibrina solúvel em um coágulo de fibrina insolúvel é catalisada pelo fator XIII, na presença de cálcio, onde o fator XIII normalmente circula no plasma sob a forma de pró-enzima inativa e é convertido em sua forma ativa pela trombina^{49; 52; 53}.

Figura 14: Esquema da cascata de coagulação (via extrínseca, via intrínseca e via comum).



Fonte: Galvez e Cortes, 2012⁵⁴

1.6. Agentes hemostáticos.

No caso de ferimentos graves, no entanto, a hemostasia é ineficiente e descontrolada. Devido à importância do controle do sangramento em batalhas e intercorrências de choque em civis, pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de estudar a eficácia de agentes hemostáticos que podem ser aplicados diretamente sobre a lesão, cessando o sangramento em poucos minutos.

Segundo Pusateri e colaboradores⁵⁵ um agente hemostático ideal deve ter a capacidade de parar o sangramento tanto arterial quanto venoso em até 2 minutos depois da aplicação na lesão; deve estar pronto para o uso sem necessidade de preparação prévia ou pessoal especializado; ser de fácil aplicação; deve ser leve e durável; estável e funcional em temperatura ambiente por pelo menos 2 anos; seguro, sem riscos de causar dano a qualquer tecido que seja aplicado; e finalmente, deve ser barato.

Desta maneira, agentes hemostáticos e adesivos teciduais têm surgidos como métodos alternativos para o controle de hemorragias. O mecanismo de ação dos agentes hemostáticos pode ser mecânico ou causar a ativação da cascata de coagulação, enquanto que o adesivo tecidual age por juntar e fechar as bordas da ferida, vedando-a e impedindo o sangramento⁵⁶.

Carvalho e colaboradores⁵⁶ classificou os agentes hemostáticos e adesivos teciduais em 3 classes: hemostáticos tópicos, adesivos teciduais e vedantes e novos produtos. Dentre os hemostáticos tópicos podemos citar: colágeno, celulose, gelatina, trombina, hidrogel de etilenoglicol. Na classe de adesivos teciduais e vedantes: a gelatina com resorcinol e formaldeído, albumina com glutaraldeído, trombina com matriz de gelatina, fibrina e cianoacrilato. E entre os novos produtos: alguns polissacarídeos (quitosana), zeólitas e esmectita^{37; 41; 42}.

Na Tabela 2 estão listados alguns exemplos de agentes hemostáticos utilizados na rotina médica e campos de batalhas. Observa-se a existência de um grande número de preparações com composições e formulações variadas, mecanismos de ação diversos, todavia, todos indicados para combater hemorragias de múltiplas naturezas, porém, a maioria destas formulações ainda não são registradas pela Anvisa, e por isso não comercializada no Brasil.

Tabela 2: Exemplos de alguns agentes hemostáticos juntamente com seus princípios ativos, mecanismos de ação, forma farmacêutica e laboratório responsável.

Medicamento	Princípio ativo	Mecanismo de ação	Forma Farmacêutica	Laboratório
QuikClot	Zeólitas	Adsorção de água do sangue; concentração e ativação dos fatores de coagulação; ativação de alguns fatores da coagulação	Pó	Z-Médica
Combate Gauze	Caolin	Ativação da via intrínseca da coagulação	Rolo de gaze	Z-Médica
Floseal	Gelatina e Trombina	Matriz para formação de coágulo; trombina efeito hemostático	Kit com pó liofilizado	Baxter
Lyostypt	Colágeno	Adesão dos trombócitos; ativação do FXII da coagulação	Compresas	B Braun
Gelfoam*	Gelatina Absorvível	Matriz física para iniciação da coagulação	Esponja cirúrgica	Pfizer
HemCon	Quitossana	Barreira física mucoadesivo no local da lesão	Pastilhas	HemCon Inc. ,
Trauma DEX	Microesferas polissacarídeos	Diminuição do líquido tecidual local; aumento da concentração de fatores de coagulação	Fluido	Mcdafor
Celox*	Extrato Seco de Vitis vinífera Linne	Formação de coágulos; indução de ligação entre glóbulos vermelhos	Cápsulas	SAM Médica

*Agentes hemostáticos comercializados no Brasil

Fonte: Laurenti, J.B. ,2016†

† Compilação cedida por: Laurenti, J. B. **SÍNTESE DE AGENTES HEMOSTÁTICOS COAGULANTES BASEADOS EM NOVOS MATERIAIS ZEOLÍTICOS**. 2016. Exame de qualificação (Doutorado em Microbiologia)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2016.

2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi a otimização da síntese das zeólitas NaA e NaX utilizando aquecimento de micro-ondas visando a redução do tempo de síntese do material. Também foi objetivo deste trabalho avaliar o potencial dos materiais sintetizados como agentes hemostáticos coagulantes.

3. Procedimentos Experimentais

3.1. Sínteses utilizando aquecimento convencional

3.1.1. Síntese da zeólita NaA

Para a síntese da zeólita NaA um gel foi preparado com a seguinte composição molar: $1\text{Al}_2\text{O}_3$: 2SiO_2 : $2\text{Na}_2\text{O}$: $50\text{H}_2\text{O}$. Dissolveu-se 2,45g de aluminato de sódio (Riedel-de Haën) em 5,81g de água e depois da completa dissolução a solução foi levada a um banho térmico de 65°C sob agitação magnética. Uma segunda solução foi preparada dissolvendo 6,43g de silicato de sódio (Sigma-Aldrich) em 3g de água, esta também foi levada a um banho térmico a 65°C por 10 minutos. A segunda solução foi adicionada gota a gota a primeira solução que foi mantida no banho térmico e sob agitação magnética. Ao término da adição, o gel foi retirado do banho térmico e mantido sob agitação por 30 minutos a temperatura ambiente. Por fim a mistura reacional foi levada a uma autoclave Parr e mantida a 100°C por 48 horas sem agitação.

3.1.2. Síntese da zeólita NaX

Para a síntese da zeólita NaX utilizando aquecimento convencional, um gel foi preparado de acordo com o método descrito por Ansari e colaboradores²⁶ com a seguinte composição molar: $1\text{Al}_2\text{O}_3$: 4SiO_2 : $5,5\text{Na}_2\text{O}$: $190\text{H}_2\text{O}$. Dissolveu-se 5,35g de hidróxido de sódio em 50g de água e posteriormente adicionou-se 2,42g de aluminado

de sódio sob agitação magnética. Após a dissolução, adicionou-se 3,43g de sílica fumed e a mistura reacional foi transferida para um banho térmico a 60°C sob média agitação por 48 horas

3.2. Sínteses utilizando radiação de micro-ondas

3.2.1. Síntese da zeólita NaA

Para a síntese da zeólita NaA utilizando radiação de micro-ondas um gel foi preparado com a seguinte composição molar: $1\text{Al}_2\text{O}_3: 2\text{SiO}_2: 2\text{Na}_2\text{O}: 50\text{H}_2\text{O}$. Dissolveu-se 1,83g de aluminato de sódio (Riedel-de Haën) em 3,5g de água e depois da completa dissolução a solução foi levada a um banho térmico de 65°C sob agitação magnética. Uma segunda solução foi preparada dissolvendo 4,25g de silicato de sódio (Sigma-Aldrich) em 2,4g de água, esta também foi levada a um banho térmico a 65°C por 10 minutos. A segunda solução foi adicionada gota a gota a primeira solução que foi mantida no banho térmico e sob agitação magnética. Ao término da adição, o gel foi retirado do banho térmico e mantido sob agitação por 30 minutos a temperatura ambiente. Por fim, a mistura reacional foi transferida para um reator de pirex que foi levado ao forno micro-ondas CEM-Discover e mantido a 100 °C. O forno opera com micro-ondas de frequência de 2,45GHz, a potência máxima foi de 300W, a pressão máxima de 190psi e o fluxo de ar manteve-se ligado.

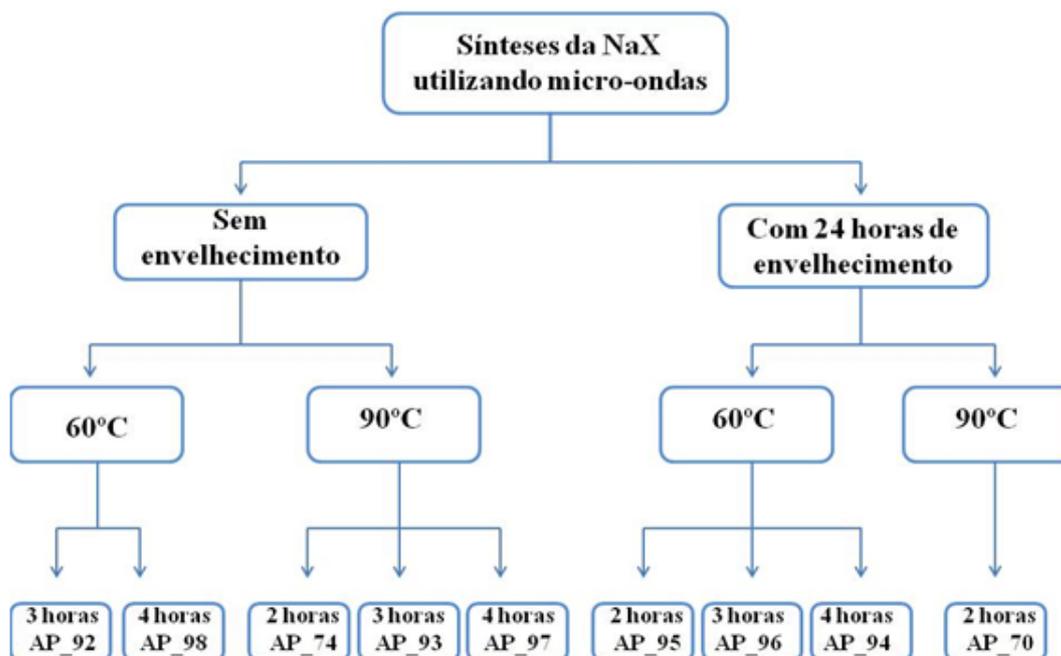
A fim de estudar o efeito do tempo de exposição a radiação de micro-ondas, foram realizadas sínteses com tempo de exposição de 1, 2 e 3 horas, mantendo a temperatura de 100 °C.

3.2.2. Síntese da zeólita NaX

Para a síntese da zeólita NaX utilizando radiação de micro-ondas, o gel foi preparado de acordo com o método descrito por Ansari e colaboradores²⁶ com a seguinte composição molar: $1\text{Al}_2\text{O}_3$: 4SiO_2 : $5,5\text{Na}_2\text{O}$: $190\text{H}_2\text{O}$. Dissolveu-se 0,76g de hidróxido de sódio em 7,15g de água e posteriormente adicionou-se 0,35g de aluminado de sódio sob agitação magnética. Após a dissolução, adicionou-se 0,49g de sílica fumed. Para amostras sem envelhecimento, o gel foi transferido para o reator de pirex e levado ao forno micro-ondas nas temperaturas de 60 °C e 90 °C como mostra o fluxograma da

Figura 15. Para amostras com 24 horas de envelhecimento, após a adição da sílica o gel foi mantido sob agitação magnética a temperatura ambiente por 24 horas e posteriormente levado ao forno micro-ondas que operou com temperaturas de 60 °C e 90 °C.

Figura 15: Fluxograma das amostras de NaX sintetizadas utilizando micro-ondas com diferentes condições de síntese.



Ainda a fim de estudar o efeito do tempo de envelhecimento do gel, foram realizadas sínteses com temperatura de 90°C com diferentes tempos de envelhecimento como mostra a Tabela 3.

Tabela 3: Sínteses da zeólita NaX realizadas sob radiação de micro-ondas a 90°C por 2 horas com diferentes tempos de envelhecimento.

Amostra	Tempo de envelhecimento
AP_70	24 horas
AP_112	20 horas
AP_113	16 horas
AP_114	12 horas
AP_115	8 horas
AP_116	4 horas
AP_118	1 hora
AP_74	Sem envelhecimento

Para todas as sínteses da NaX descritas acima, o forno micro-ondas operou com potência máxima de 300W, pressão máxima de 190psi, alta agitação e fluxo de ar ligado.

3.3. Esterificação dos grupos silanóis da zeólita NaX sintetizada sob radiação micro-ondas.

Para a esterificação dos grupos silanóis, 150mg de zeólita NaX foram dispersos em 13mL de 1-propanol (99%). A dispersão foi mantida sob agitação magnética por 10 minutos e posteriormente foi levada a uma autoclave que foi mantida a 180°C por 2

horas. O produto foi recuperado por centrifugação e seco a temperatura ambiente, o produto foi denominado de AP_70P. O mesmo procedimento foi adotado para a esterificação utilizando 1-butanol e o produto foi denominado AP_70B.

3.4. Caracterização das zeólitas

Os padrões de DRX das partículas sintetizadas foram coletados no Lacet-Laboratory for Clean Energy Technology – IBILCE/UNESP, utilizando um difratômetro Rigaku Miniflex II X-Ray Diffractometer com uma fonte de ânodo rotativo com uma placa plana na geometria de Bragg-Brentano, operando com radiação Cu-K α (comprimento de onda = 1,5418 Å) à 50 kV e 100 mA, e equipado com um monocromador de grafite. Os padrões de difração em pó foram registrados na faixa de $2\theta = 5^\circ - 80^\circ$ com um passo de digitalização de $0,02^\circ$ e uma taxa de 10 s/step.

Os experimentos de MEV e EDS foram realizados no laboratório de caracterização estrutural do departamento de engenharia de materiais (LCE-DEMa/UFSCar). As amostras foram dispersas em água e 1-heptanol utilizando o processo de sonicação por 15 minutos. Posteriormente foram depositadas gotas da dispersão sobre o suporte, a amostra foi seca e posteriormente coberta com uma camada fina de ouro. As imagens foram coletadas utilizando um instrumento FEI Magellan 400 L, operando com feixe de elétrons regulável para tensões de 5 a 25 kV.

As medidas de infravermelho das amostras de NaX foram coletadas no Lacet-Laboratory for Clean Energy Technology – IBILCE/UNESP, utilizando um espectrômetro da marca IRTracer-100 (Shimadzu), a preparação das amostras foi feita pelo método de pastilhas de KBr. As amostras foram medidas na faixa espectral de 400 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} , com resolução espectral de 4 cm^{-1} , e uma média de 16 scans para cada amostra.

As medidas de potencial zeta foram realizadas no laboratório de estudos em peptídeos (LEPe- IBILCE/UNESP). Para a realização das medidas, 2mg de zeólita foram dispersos em 60mL de solução de nitrato de cálcio a 2,7mM. O pH da solução foi ajustado com ácido nítrico (125mM) e hidróxido de sódio (125mM).

3.5. Tromboelastografia

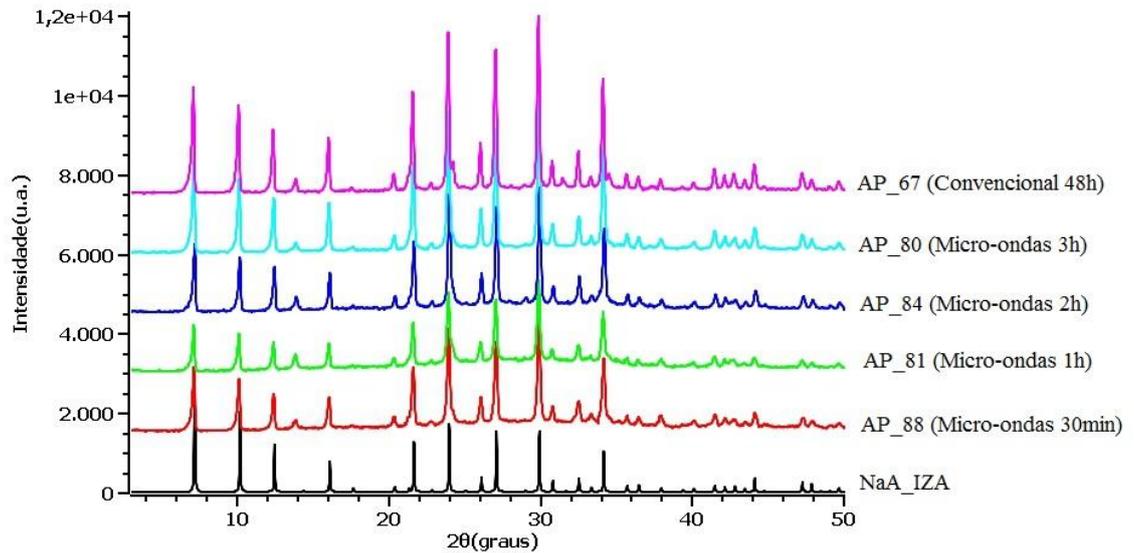
As análises de tromboelastografia (TEG) foram realizadas no Lacet-Laboratory for Clean Energy Technology – IBILCE/UNESP, utilizando um tromboelastógrafo Haemonetics TEG 500. As medidas dos parâmetros do TEG foram realizadas utilizando sangue de voluntário fisicamente saudável e estabilizado com citrato de sódio (4%). Ao sangue citratado foi adicionado 20 uL de solução de cloreto de cálcio e 0,5 mg das zeólitas sintetizadas.

4. Resultados e Discussões

4.1. Caracterização das zeólitas NaA sintetizadas pelo aquecimento convencional e sintetizadas pelo aquecimento de micro-ondas.

A difração de raios-X apresentada na Figura 16 mostra que a zeólita NaA foi obtida pelo aquecimento convencional depois de 48 horas de síntese a 100°C (AP_67) enquanto que a mesma estrutura foi obtida por aquecimento de micro-ondas em apenas 30 minutos de síntese mantendo a temperatura de 100°C (AP_88).

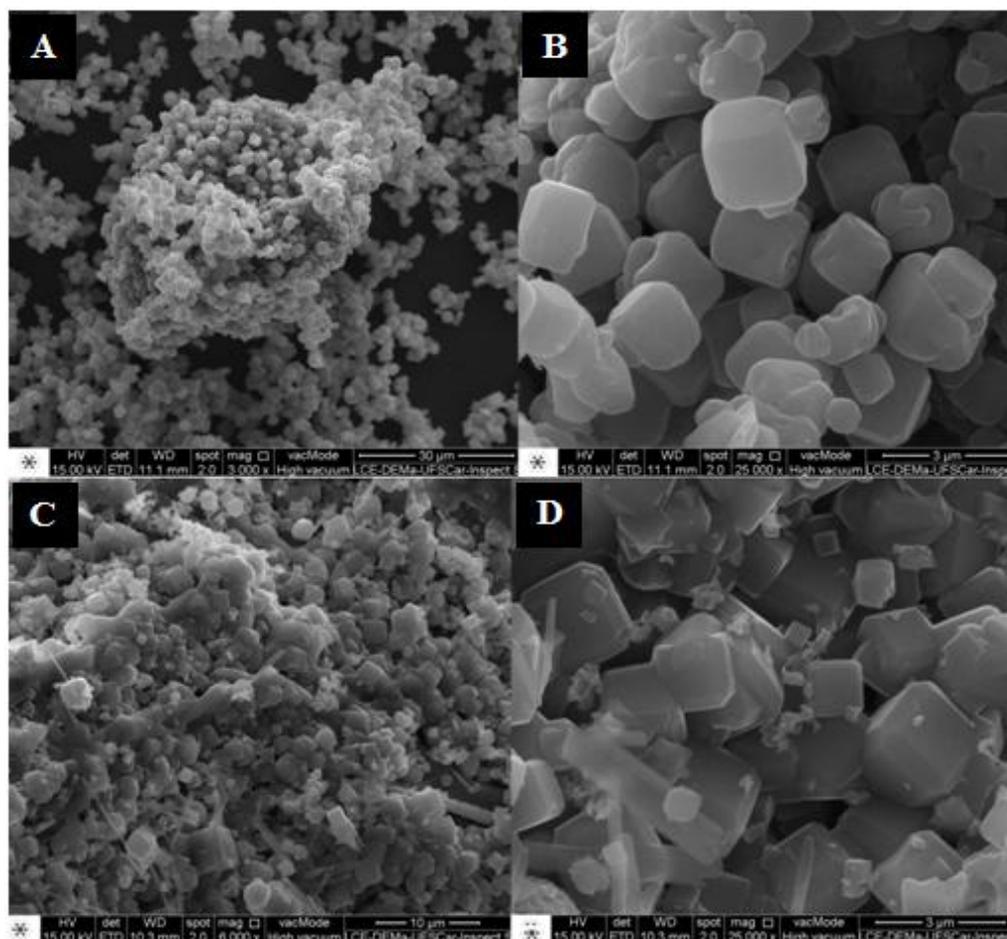
Figura 16: DRX das amostras de NaA que foram sintetizadas utilizando aquecimento convencional a 100 °C por 48 horas (AP_67) e utilizando micro-ondas a 100 °C com diferentes tempos de exposição a radiação.



Também foram obtidas zeólitas NaA com 1, 2 e 3 horas de síntese a 100°C como mostra a Figura 16. As zeólitas sintetizadas são comparadas com o padrão de difração de raios-x da zeólita NaA (curva em preto da Figura 16) depositado no banco de estruturas de zeólitas (IZA). Observe-se que as zeólitas sintetizadas tanto pelo aquecimento convencional quanto pelo aquecimento de micro-ondas, apresentaram fases características da zeólita NaA localizadas em $2\Theta = 7, 10, 12.4, 21.5$ e 24 graus.

As semelhanças entre as zeólitas sintetizadas pelos dois diferentes métodos de aquecimento estende-se a morfologia, como mostram as imagens de MEV da Figura 17. A zeólita NaA das Figura 17-A e B, que foi sintetizada utilizando aquecimento convencional por 48 horas, apresenta morfologia cúbica com arestas de aproximadamente $1\mu\text{m}$.

Figura 17: Imagens de MEV da zeólita NaA sintetizada por aquecimento convencional a 100 °C (AP_67) com magnitudes: (A) 3.000X, (B) 25.000X. Imagens de MEV da zeólita NaA sintetizada por aquecimento de micro-ondas a 100 °C em 30min (AP_88) com magnitudes: (C) 3.000X, (D) 25.000X.

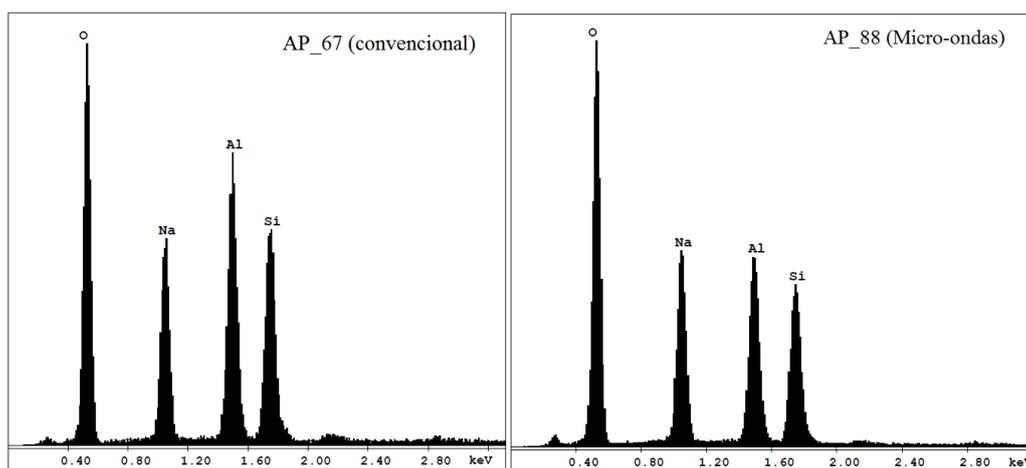


As Figura 17-C e D mostram que com a utilização do aquecimento de micro-ondas por apenas 30 minutos (AP_88) foi possível obter morfologia semelhante a da zeólita NaA sintetizada por aquecimento convencional (AP_67).

Os experimentos de EDS das zeólitas NaA (Figura 18) revelaram que a composição química da superfície das zeólitas sofreram alterações quando a fonte de

calor foi modificada, indicando que o arranjo estrutural dos tetraedros de silício e alumínio foi alterado.

Figura 18: EDS das zeólitas NaA sintetizadas utilizando o aquecimento convencional a 100 °C (AP_67) e utilizando radiação de micro-ondas a 100°C (AP_88).

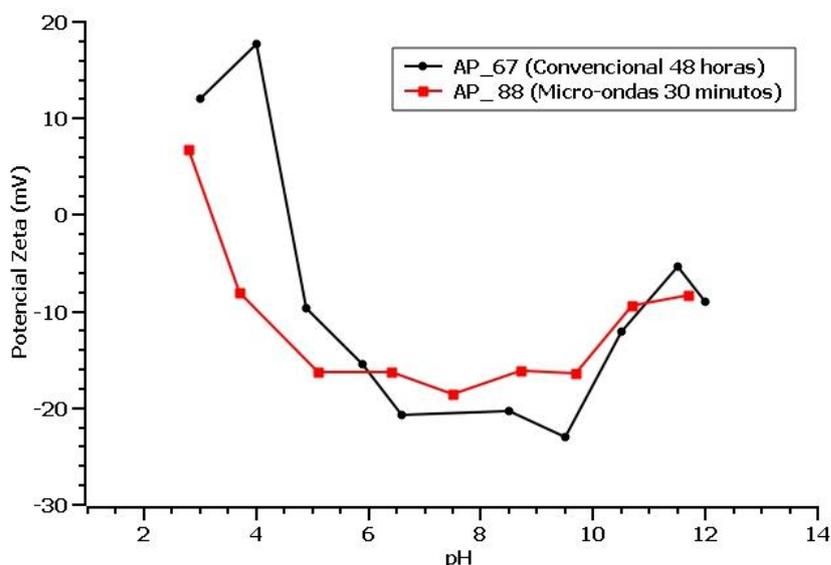


A associação entre os resultados de difração de raios-X e MEV mostram que quando utilizado radiação de micro-ondas o tempo de síntese da zeólita NaA foi reduzido de 48 horas para 30 minutos, ou seja, uma redução de 98,96% no tempo que não provou mudanças na organização dos planos cristalinos, bem como na morfologia dos cristais.

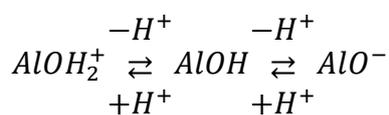
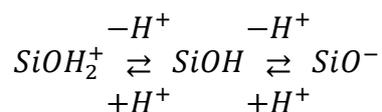
Os resultados publicados por Chandrasekhar e Pramada²³ mostram que a zeólita NaA sintetizada pelos autores com **2 horas de síntese** apresentam DRX e MEV similares aos obtidos neste trabalho, porém os autores utilizaram metakaolin como fonte de silício e alumínio. No trabalho publicado pelos autores mencionados, o modelo do forno foi diferente do utilizado neste trabalho e apesar de entregar micro-ondas em uma potência maior, que foi de 800W, as ondas não são direcionadas para amostra.

As curvas de potencial zeta das amostras AP_67 e AP_88 apresentados na Figura 19 mostram que a medida que o pH aumenta, os valores de potencial zeta tendem a diminuir para ambas as zeólitas.

Figura 19: Potencial zeta das zeólitas NaA sintetizadas com aquecimento convencional por 48 horas (AP_67) e com aquecimento de micro-ondas por 30 minutos (AP_88).



Segundo Kuzniatsova e colaboradores ⁵⁷, esse fenômeno acontece pois na superfície das zeólitas existem grupos silanóis e aluminóis que sofrem protonação e desprotonação deslocando o equilíbrio químico, como mostrado abaixo.



Quando o pH da solução diminui e portanto a concentração de H⁺ aumenta, o equilíbrio é deslocado para o lado esquerdo da equação, onde os grupos químicos começam a protonar e como consequência o potencial zeta tende a ficar mais positivo. Quando o pH aumenta, e portanto a concentração de H⁺ diminui, o equilíbrio é

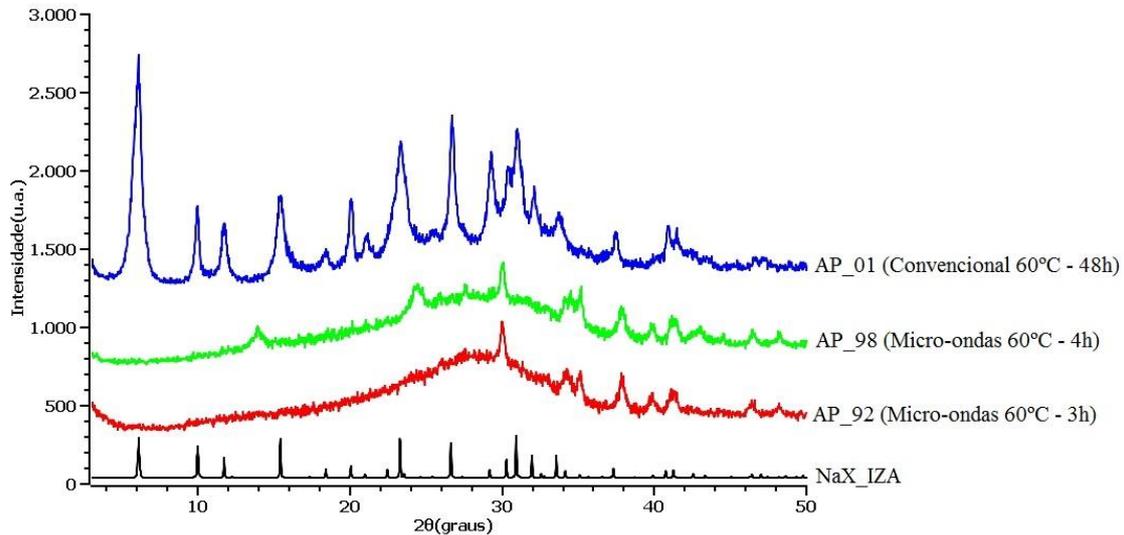
deslocado para o lado direito da equação e como consequência, as cargas negativas da superfície da zeólita aumentam levando o potencial para valores menores.

Além disso, observa-se que em pH sanguíneo (pH 7,4), ambas as zeólitas apresentam valores de potencial zeta negativo e portanto carga superficial negativa. Essa característica é importante para materiais pró-coagulantes, uma vez que a cascata de coagulação é ativada por efeito dessas cargas, fenômeno este conhecido como “glass effect” .

4.2. Caracterização das zeólitas NaX sintetizadas pelo aquecimento convencional e sintetizadas pelo aquecimento de micro-ondas.

A Figura 20 compara as amostras sintetizadas em diferentes condições com o difratograma padrão da zeólita NaX (curva em preto da Figura 20), retirado do banco de dados de estruturas de zeólitas (IZA). Observa-se que o material sintetizado utilizando aquecimento convencional por 48 horas a 60°C (AP_01) apresenta fases características da zeólita NaX em $2\theta = 6, 10, 11.7$ e 15.5 graus, como mostra a Figura 20.

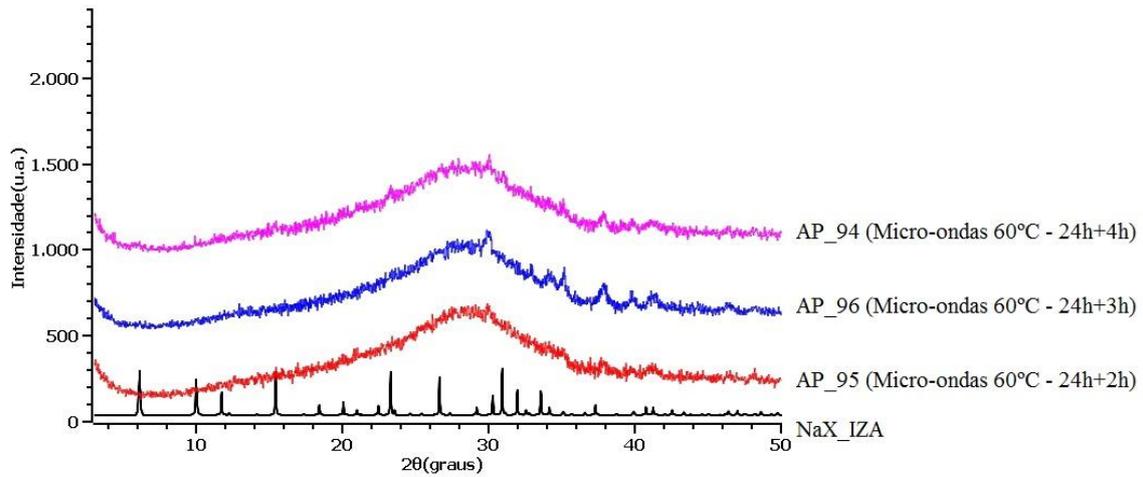
Figura 20: Comparação do padrão de DRX das amostras de NaX sintetizadas por aquecimento convencional a 60 °C (AP_01) e sintetizadas por aquecimento de micro-ondas a 60 °C (AP_98 e AP_92).



Além disso, o padrão de difração desse material apresenta picos alargados, o que segundo a equação de Scherrer, indica que a zeólita foi sintetizada em escala nanométrica. Quando a síntese foi realizada a 60°C utilizando o aquecimento de micro-ondas por 3 e 4 horas (AP_92 e AP_98) não foi obtido material cristalino. Este resultado sugere que a utilização da radiação de micro-ondas, mantendo a mesma temperatura da síntese convencional, não foi eficiente na cristalização da zeólita NaX, resultado diferente do observado para a zeólita NaA.

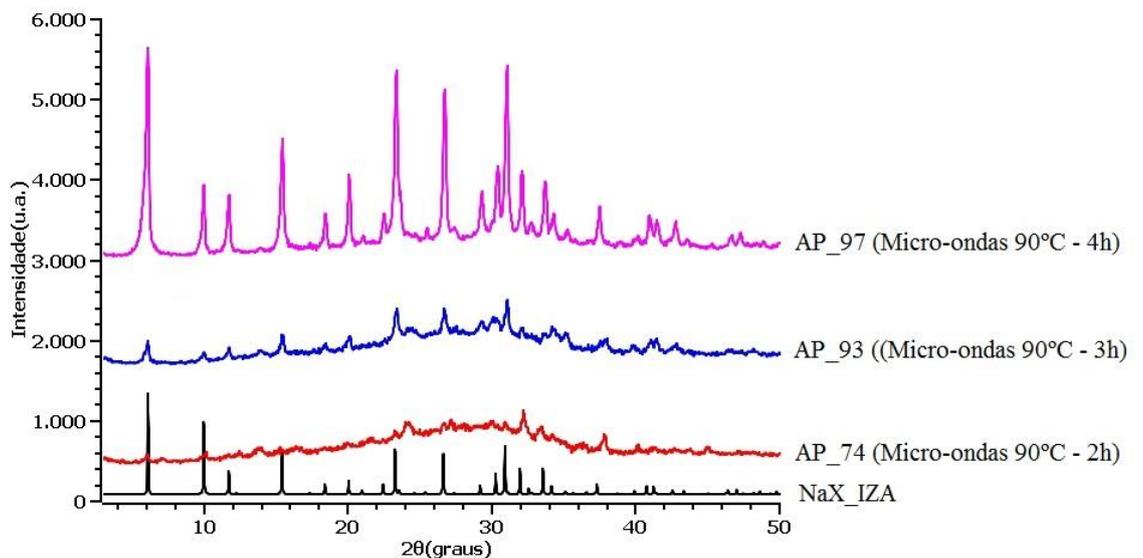
O tempo de envelhecimento de 24 horas foi adicionado à síntese, que foi realizada sob radiação de micro-ondas a 60°C por 2, 3 e 4 horas (AP_94, AP_96 e AP_95) entretanto, como mostrado na Figura 21, foram obtidos materiais amorfos, sem planos cristalinos definidos. Ou seja, a adição do tempo envelhecimento não teve consequências satisfatórias e a zeólita NaX não foi obtida.

Figura 21: DRX das amostras de NaX sintetizadas a 60°C. Todas as amostras passaram pelo processo de envelhecimento de 24h e posteriormente foram expostas a radiação de micro-ondas por diferentes tempos.



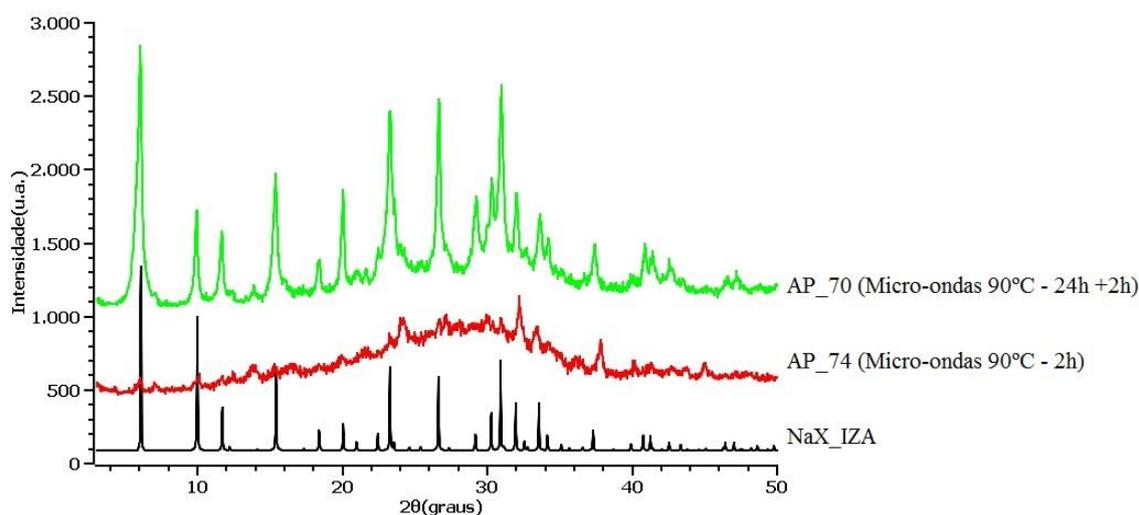
Como uma alternativa para a síntese do material utilizando radiação de micro-ondas, a temperatura foi aumentada para 90°C e nessas condições a zeólita foi obtida depois de 4 horas de síntese (AP_97), como mostra a Figura 22. Analisando o padrão de difração da amostra AP_97 nota-se que as larguras dos picos são estreitas, o que é típico de uma zeólita micrométrica, diferente daquela sintetizada por aquecimento convencional (AP_01).

Figura 22: DRX das amostras de NaX sintetizadas, sem envelhecimento, a 90°C utilizando radiação de micro-ondas por diferentes tempos.



Voltando a analisar o tempo de envelhecimento da amostra, uma síntese de 2 horas sob radiação de micro-ondas foi refeita a 90°C com adição de 24 horas de envelhecimento. Os padrões de DRX apresentados na Figura 23, mostram que o tempo de envelhecimento foi importante para o gel, uma vez que, quando a síntese foi realizada em 2 horas, apenas pequenos núcleos de cristais foram obtidos e quando o gel foi submetido ao envelhecimento de 24 horas, a zeólita NaX foi obtida.

Figura 23: DRX das amostras de NaX com e sem envelhecimento sintetizadas utilizando radiação de micro-ondas por 2 horas a 90 °C.



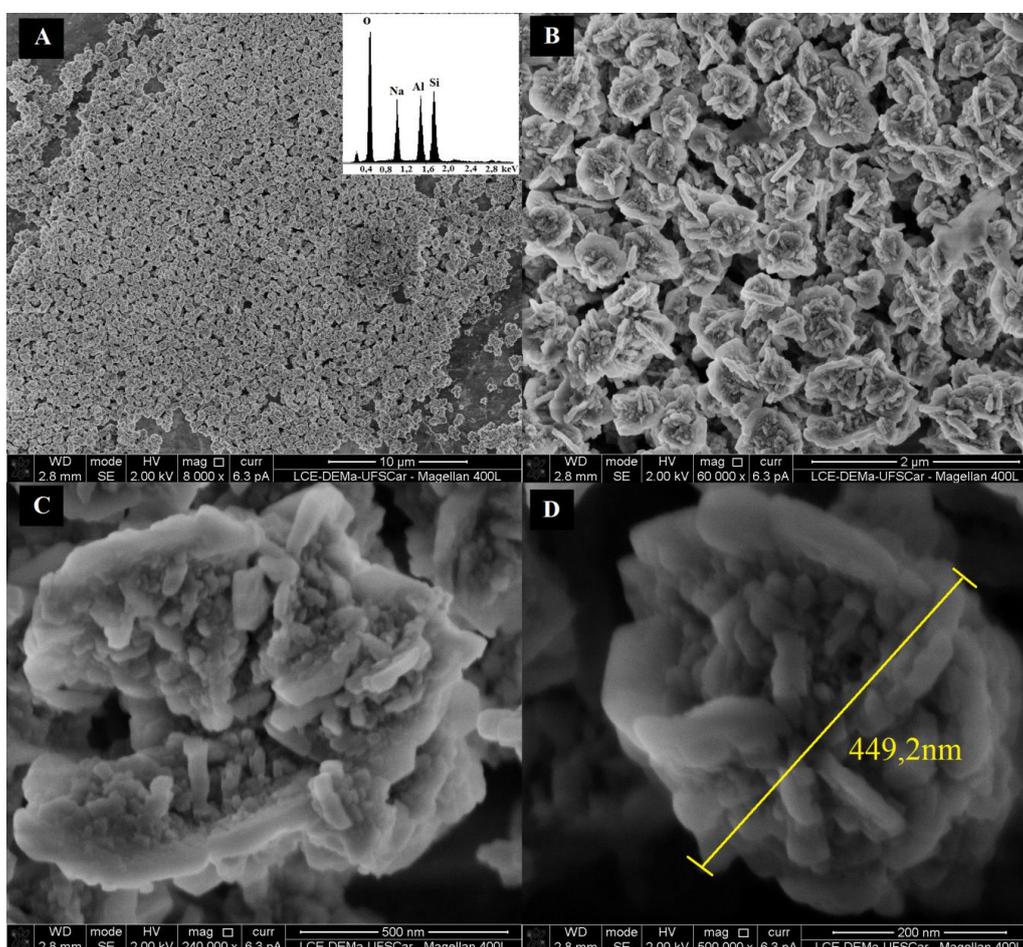
Este resultado evidencia que a formação das espécies poliméricas acontece durante o envelhecimento do gel. Além disso, nota-se que a zeólita sintetizada com 24 horas de envelhecimento (AP_70) está em tamanho nanométrico, uma vez que os picos do difratogramas são alargados. Portanto a amostra AP_70 é a que mais se assemelha a amostra AP_01.

Sendo assim, as caracterizações físico-químicas, obtidas por meio das técnicas de MEV, EDS e potencial zeta, foram realizadas apenas para as amostras AP_01 e AP_70 a fim de analisar e comparar a morfologia, a escala, a composição química e a

carga superficial dos materiais sintetizados por aquecimento convencional e aquecimento de micro-ondas.

A micrografia da Figura 24-A mostra que a zeólita NaX sintetizada pelo aquecimento convencional em 48 horas (AP_01) distribuiu-se uniformemente pelo porta-amostra. Aumentando a magnitude do microscópio para 60.000x (Figura 24-B) verifica-se a morfologia típica da zeólita NaX.

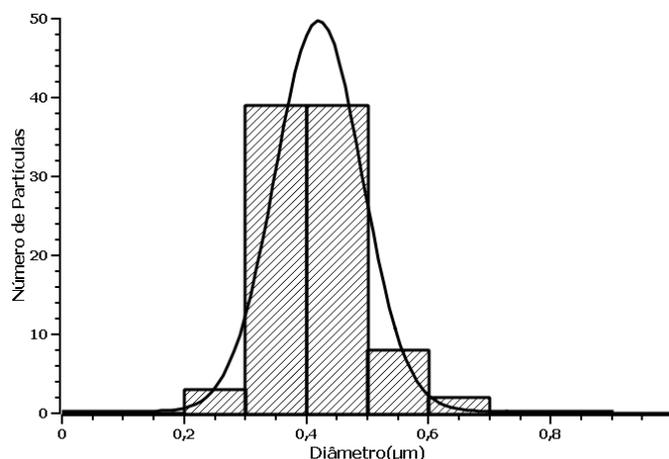
Figura 24: Micrografias da zeólita NaX sintetizada utilizando aquecimento convencional (AP_01) com magnitudes: (A) 8.000X com inset do EDS, (B) 60.000X, (C) 240.000X, (D) 500.000X.



Utilizando a imagem com aumento de 60.000, a distribuição de tamanhos foi feita por meio do Software ImageJ, para isso foi selecionando o maior número possível

de zeólitas presentes na Figura 24-B. Como mostra a Figura 25, a maioria das partículas se encontram na faixa de 420nm.

Figura 25: Distribuição de tamanhos da zeólita NaX sintetizada aquecimento convencional por 48horas a 60 °C (AP_01).



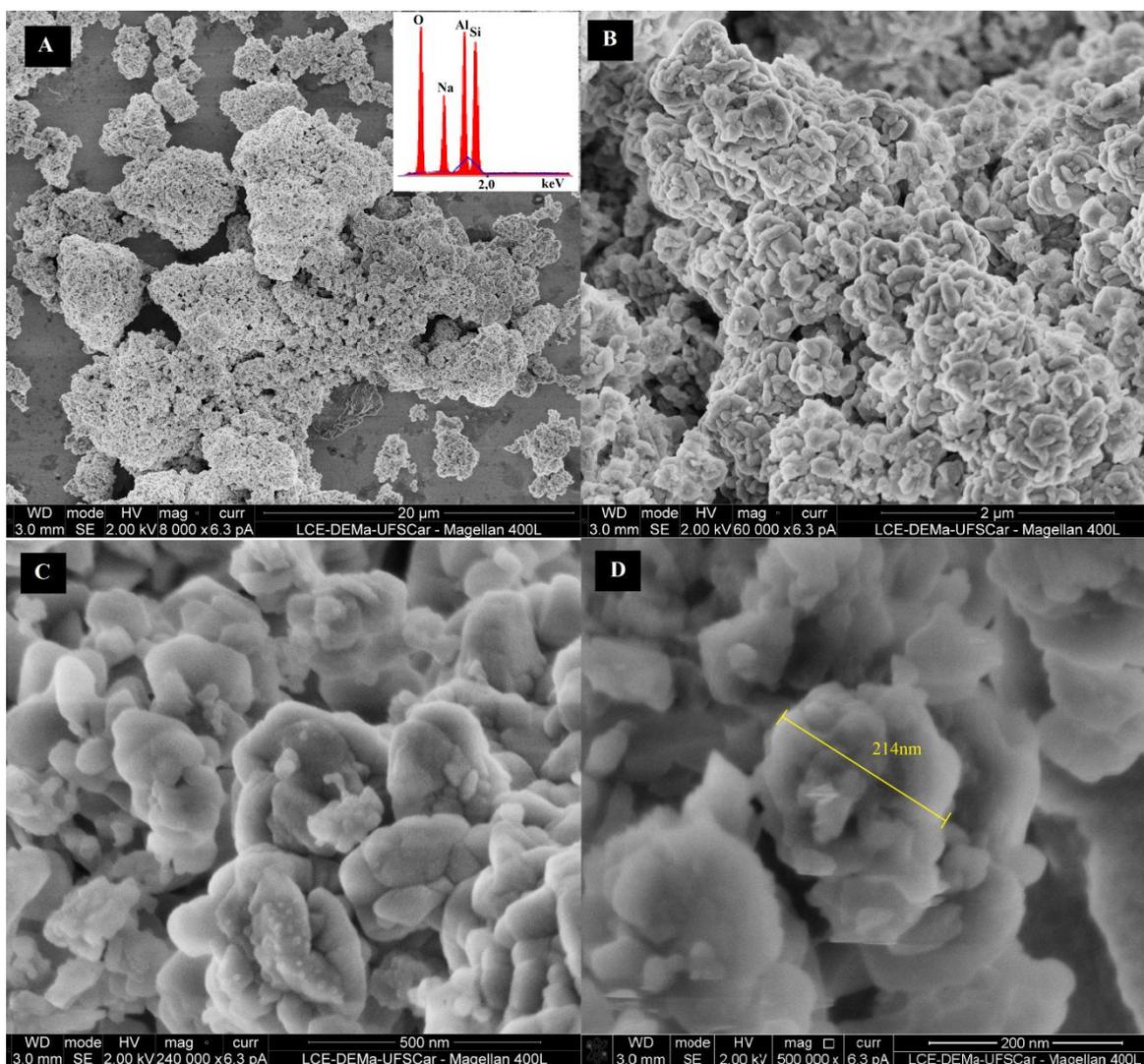
A micrografia da Figura 26-A mostra que a zeólita NaX sintetizada utilizando radiação de micro-ondas (AP_70) não se distribuiu uniformemente no porta amostra como a zeólita NaX sintetizada pelo método convencional (AP_01) (Figura 24-A). Essa observação indica uma desestabilização do coloide formado durante a preparação da amostra, uma vez que elas foram dispersas em água e posteriormente depositadas sobre o porta-amostra.

Aumentando a magnitude do microscópio para 60.000x (Figura 26-B) não é possível identificar as partículas separadamente e nem fazer uma distribuição de tamanhos das zeólitas, uma vez que elas estão aglomeradas.

A Figura 26-D, com magnitude de 500.000x, indica que a zeólita NaX sintetizada utilizando radiação de micro-ondas possui tamanho na faixa de 214nm. A comparação entre os experimentos de EDS das figuras 24 e 26 mostram, novamente, que o uso da radiação de micro-ondas provocou modificações na composição química das

superfícies indicando possíveis alterações nas estruturas dos tetraedros de silício e alumínio que compõe a rede cristalina.

Figura 26: Micrografias da zeólita NaX sintetizada utilizando micro-ondas (AP_70) com magnitudes: (A) 8.000X com inseto do EDS, (B) 60.000X, (C) 240.000X, (D) 500.000X.

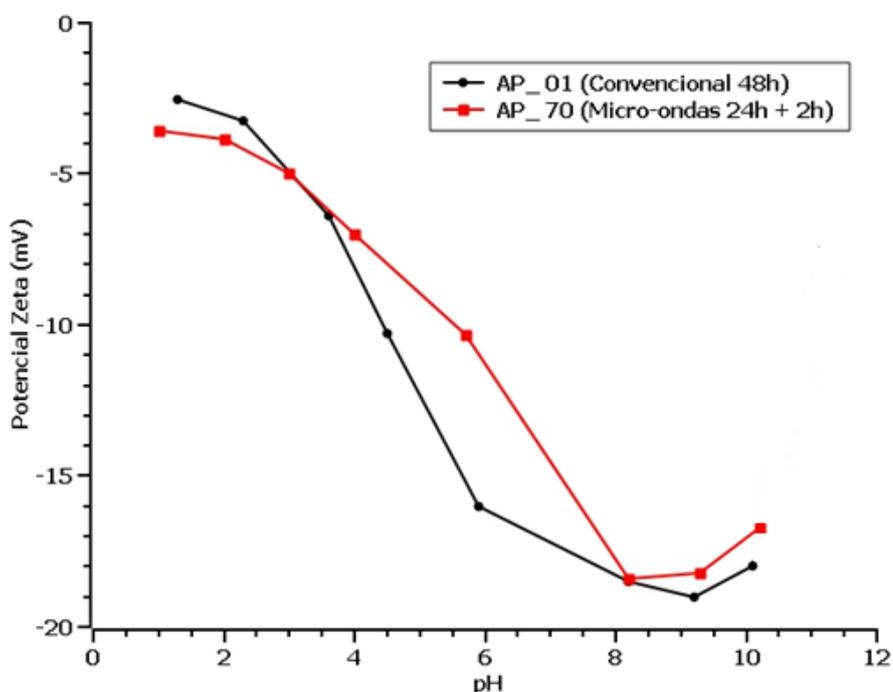


O uso da radiação de micro-ondas na síntese da zeólita NaX, possibilitou a síntese do material com 26 horas (considerando 24 horas envelhecimento), enquanto que a síntese convencional é feita com 48 horas. Os dados mostram que o uso de micro-ondas permitiu uma redução de 45% no tempo de síntese desta zeólita.

Os dados de potencial zeta das zeólitas NaX sintetizadas convencionalmente (AP_01) e por micro-ondas (AP_70) apresentados na Figura 27, mostram que as duas

amostras possuem carga superficial negativa a pH 7,4 (valor de pH do sangue humano). Porém, a amostra AP_01, em pH7,4, possui valor de potencial zeta menor, ou seja, a carga negativa superficial dessa zeólita é maior que a carga da amostra AP_70. Essa característica tem impacto direto na aplicação dos materiais como agentes hemostáticos, pois como mostrado na seção 4.3, a zeólita NaX AP_01 apresenta um desempenho melhor na ativação da cascata de coagulação.

Figura 27: Potencial zeta da zeólita NaX sintetizada por aquecimento convencional a 60 °C por 48h (em preto) e potencial zeta das zeólita NaX sintetizada com 24 horas de envelhecimento e aquecimento de micro-ondas por 2 horas a 90°C.

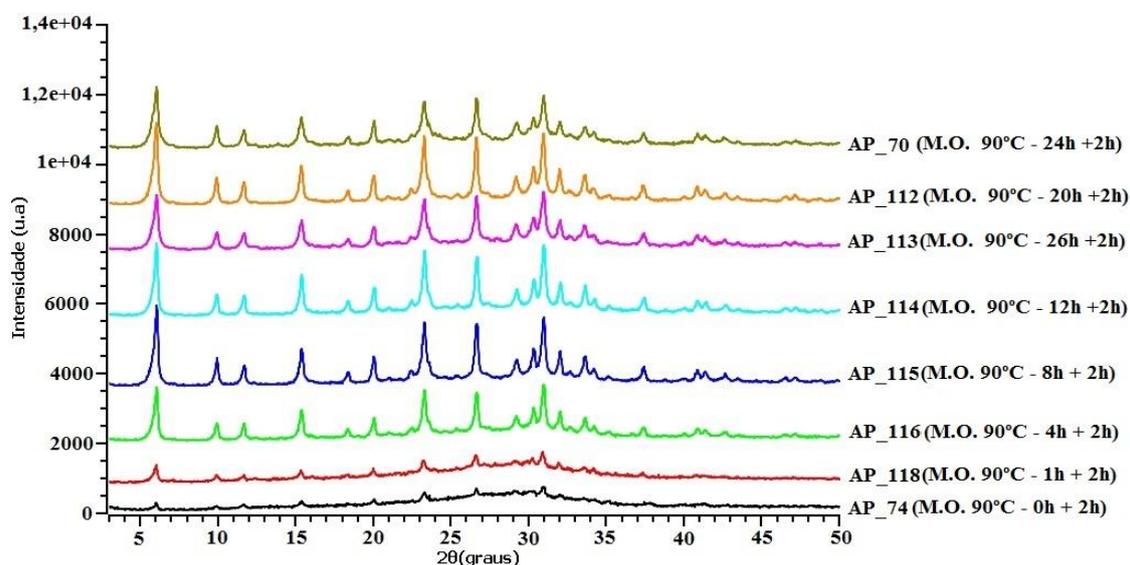


Após as etapas de caracterização das amostras AP_01 e AP_70, surgiu o interesse de investigar mais a respeito do tempo de envelhecimento da mistura reacional. Para esse estudo foram realizadas sínteses a 90 °C, utilizando radiação de micro-ondas por duas horas e variando o tempo de envelhecimento da amostra.

Os resultados apresentados na Figura 28, mostram que a formação das espécies poliméricas acontece entre 1 e 4 horas de envelhecimento do gel. Além disso, nota-se

que com apenas 4 horas de envelhecimento e 2 horas de exposição a micro-ondas (AP_116) é possível obter a zeólita NaX em escala nanométrica. Portanto, para a síntese da zeólita NaX utilizando radiação de micro-ondas a 90 °C, não é necessário 24 horas de envelhecimento. Essas afirmações são feitas baseada apenas nos resultados de difração de raios-X, uma vez que não foram feitas imagens de microscopia para analisar a dimensão e a morfologia do material sintetizado com 4 horas de envelhecimento.

Figura 28: DRX das amostras de NaX sintetizadas com diferentes tempos de envelhecimento e utilizando radiação de micro-ondas (M.O.) por 2 horas a 90°C.



4.2.1 Modificação da superfície da zeólita NaX sintetizada sob radiação de micro-ondas (AP_70).

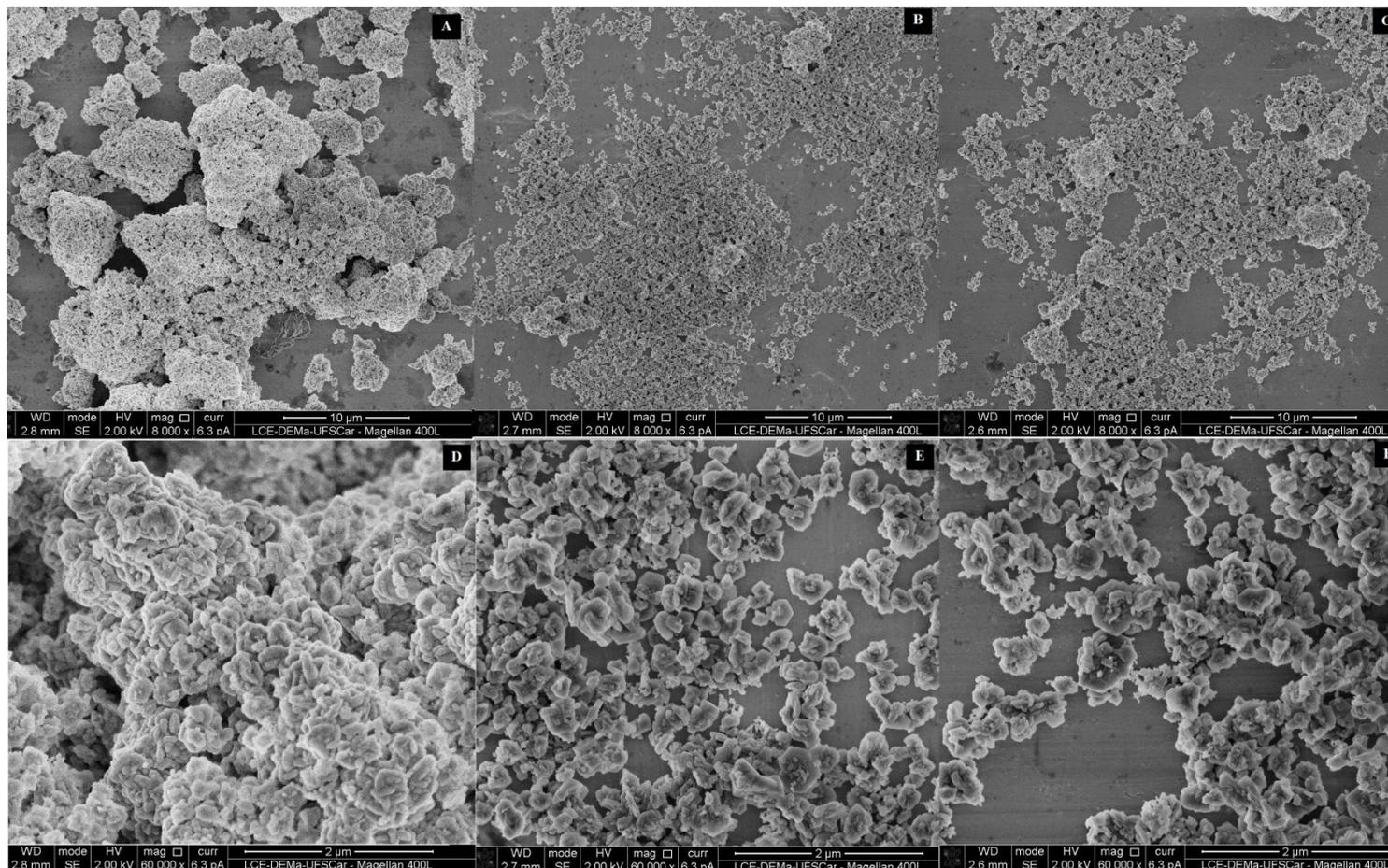
A zeólita NaX sintetizada utilizando o aquecimento convencional (AP_01) foi caracterizada pela técnica de MEV com diâmetro de aproximadamente 420nm, enquanto que, apesar da difícil caracterização, a zeólita NaX sintetizada utilizando aquecimento de micro-ondas (AP_70) apresentou diâmetro na faixa de 214nm. Também foi notado diferença na composição química das zeólitas AP_01 e AP_70 a partir dos experimentos de EDS. Essas diferenças provocaram mudanças nas condições da

dispersão e as partículas sofreram um processo de coagulação, onde as forças de Van der Waals (atrativas) foram mais fortes que as forças eletrostáticas (repulsivas) . Como consequência do balanço das forças, as partículas aglomeraram fazendo com que o sistema alcançasse o mínimo de energia.

Uma vez verificado o problema na estabilização da dispersão coloidal, foi realizada a modificação da estrutura do material por meio da esterificação dos grupos silanóis, adicionando cadeias de hidrocarbonetos à superfície das zeólitas.

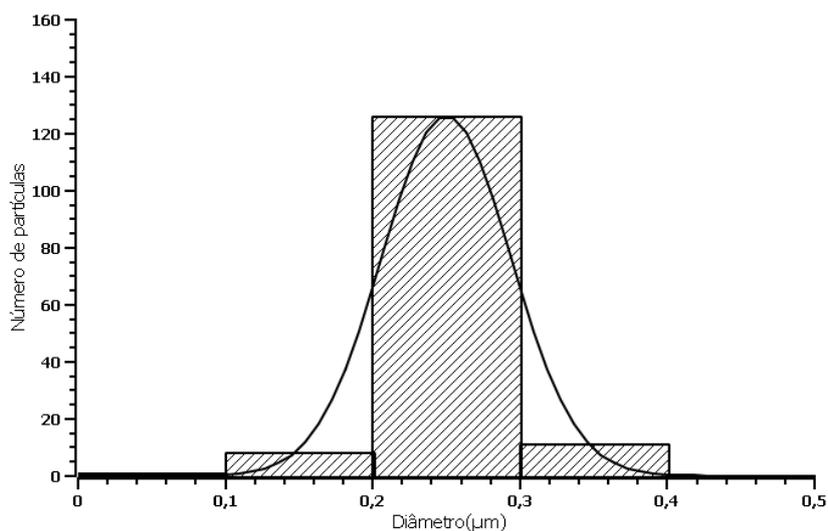
A Figura 29 reúne as amostras AP_70 antes e após a modificação com os alcoóis. Observa-se que a modificação da superfície da zeólita utilizando o 1-propanol resultou em uma estabilização estérica das partículas (Figura 29-B e E) e como consequência as zeólitas distribuíram-se de maneira mais uniforme em relação ao material sem modificação (Figura 29-A e D). Também observa-se que a modificação com 1-butanol foi eficiente na estabilização das partículas como mostram as Figura 29-C e F.

Figura 29: Imagens de MEV da zeólita NaX sintetizada por micro-ondas a 90 °C (AP_70) com magnitudes: (A) 8000X e (D) de 60000X. Imagens de MEV da zeólita após a esterificação com propanol (AP_70P) com magnitudes: (B) 8000X, (E) 60000X. Imagens de MEV da zeólita após a esterificação com propanol (AP_70B) com magnitudes: (B) 8000X, (E) 60000X. Nestas micrografias as zeólitas foram dispersas em água.



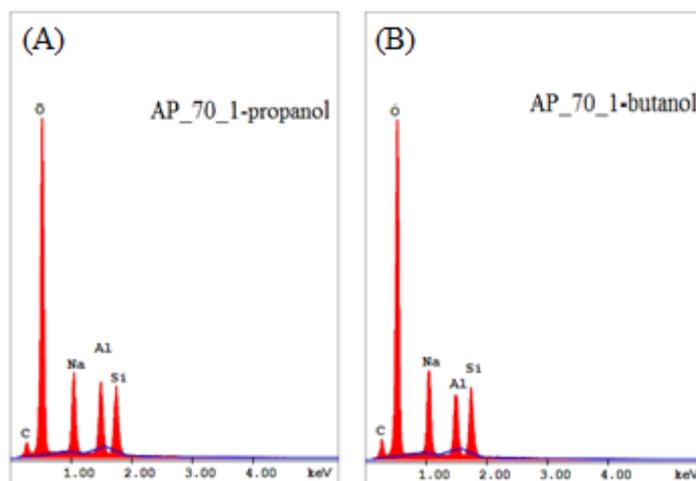
A distribuição de tamanhos mostrada na Figura 30, que foi feita utilizando a Figura 29-E e o software Image J, mostra que a maioria das partículas estão na faixa de 250nm.

Figura 30: Distribuição de tamanhos da zeólita NaX sintetizada utilizando aquecimento de micro-ondas após a reação de esterificação dos grupos silanois (AP_70_1-propanol).



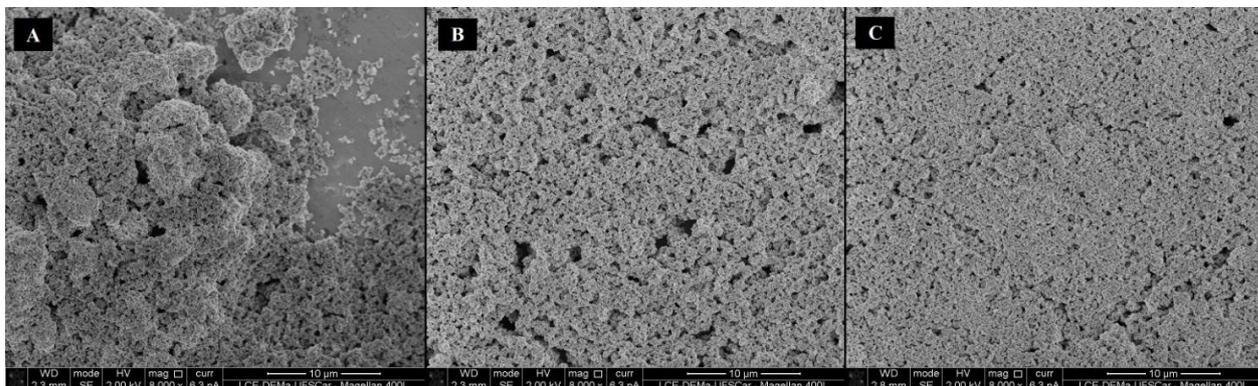
A Figura 31 apresenta os dados de EDS das zeólitas NaX após a modificação utilizando 1-propanol e 1-butanol. Os gráficos apresentados mostram que os átomos de carbono estão presentes nas superfícies das zeólitas e além disso observa-se que as quantidades relativas de átomos de silício e alumínio sofreram modificações consideráveis depois da esterificação (verificar o inset da Figura 26-A). Acredita-se que essa diferença nos resultados seja devido a blindagem do feixe de elétrons realizada pelas cadeias dos alcanos presentes na superfície do material.

Figura 31: EDS da zeólita NaX sintetizada sob radiação de micro-ondas após a esterificação com 1-propanol e 1-butanol (AP_70P e AP_70B).

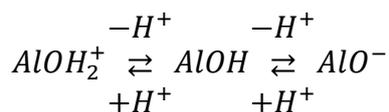
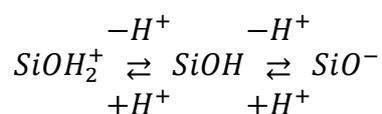


Também foram realizadas micrografias das amostras AP_70 utilizando como método de preparação a dispersão do sólido em 1-heptanol. Como mostra a Figura 32-A, a amostra AP_70 dispersa no álcool se aglomerou, enquanto que as amostras AP_70P e AP_70B (Figuras 29 B e C) se distribuíram de maneira mais uniforme pelo porta amostra, assim como quando as zeólitas foram dispersas em água. Esse resultado mostra que a modificação da superfície da zeólita pela adição de grupos alcanos foi eficiente na estabilização estérica das partículas, independente do meio no qual elas estão dispersas.

Figura 32: Imagens de MEV (A) da zeólita NaX sintetizada por micro-ondas a 90 °C (AP_70) (B) da zeólita após a esterificação com propanol (AP_70P) e (C) da zeólita após a esterificação com propanol (AP_70B). Nestas micrografias as zeólitas foram dispersas em 1-heptanol e a magnitude foi de 8.000X.



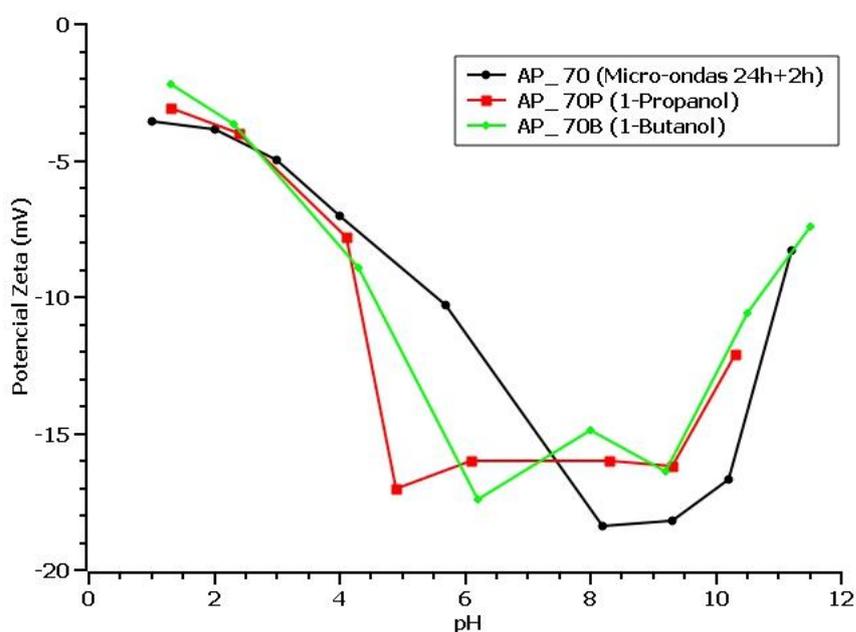
As curvas de potencial zeta em função do pH apresentadas na Figura 33, mostram o mesmo perfil discutido anteriormente, mostrando o deslocamento do equilíbrio químico para grupos protonados e para grupos desprotonados que contribuem com o valor de potencial.



Quando o pH é menor que 7, e portanto na concentração de H^+ alta, o equilíbrio químico é deslocado para a esquerda. Entretanto, a curva em preto (AP_70) tem contribuição de grupos silanóis e aluminóis, enquanto que as curvas em vermelho e verde (AP_70P e AP_B respectivamente) possuem apenas as contribuições dos grupos aluminóis, já que as hidroxilas dos grupos silanóis foram substituídas por alcanos. Por conta disso, o potencial das zeólitas **modificadas** tendem a ser menor do que aquele apresentado pela zeólita sem modificação.

No caso em que o pH é maior que 7, o equilíbrio é deslocado para o lado direito da equação, fazendo com que as zeólitas fiquem com carga superficial negativa. Porém, a amostra sem modificação tem contribuição dos grupos silanóis e aluminóis enquanto que as zeólitas modificadas perderam a contribuição dos grupos silanóis e como consequência, o potencial zeta das zeólitas **sem modificações** tende a ser menor que o potencial das zeólitas modificadas.

Figura 33: Potencial zeta da zeólita NaX sintetizada por aquecimento convencional a 60 °C por 48h (AP_70, em preto) e potencial zeta das zeólita NaX após a esterificação com propanol (AP_70P, em vermelho) e com butanol (AP_70B, em verde).



Para responder se a modificação da superfície das zeólitas utilizando os alcoóis provocou alterações na estrutura do material, foi realizado o experimento de espectroscopia na faixa do infravermelho, que é apresentado na Figura 34.

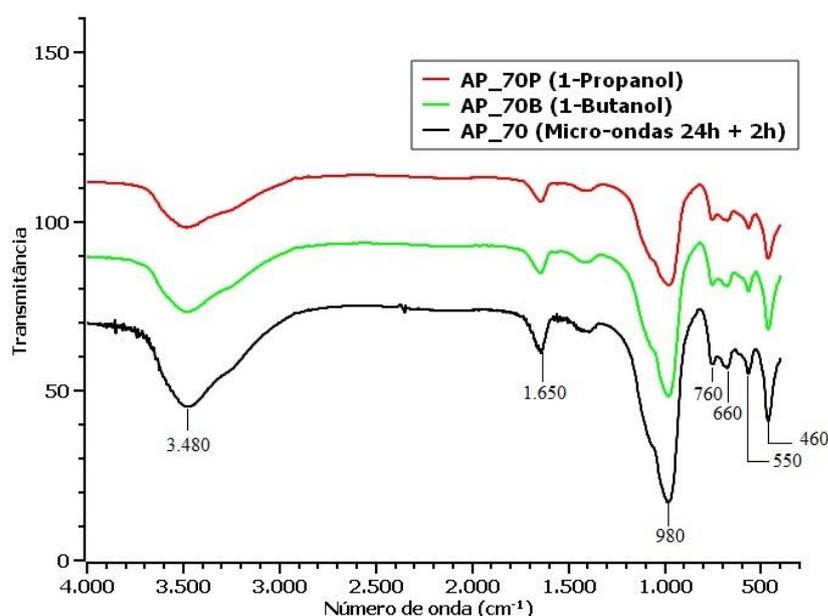
Como descrito por Flanigen e colaboradores⁵⁸ a banda intensa presente em 980cm^{-1} com um ombro em aproximadamente 1060cm^{-1} é atribuída as vibrações assimétricas dos tetraedros internos da estrutura da zeólita ($\leftarrow\text{OT}\rightarrow\leftarrow\text{O}$) e a banda em 660cm^{-1} é atribuída as vibrações simétricas do tipo $\leftarrow\text{OTO}\rightarrow$. A banda em 550cm^{-1} é

atribuída aos tetraedros que compõem as estruturas D4R (Figura 5) e as bandas em 460 e 760 são atribuídas a ligações T-O. Todas essas bandas estão presentes nas amostras AP_70, AP_70P e AP_B, mostrando que não houveram alterações na estrutura do material após a reação de esterificação dos grupos silanóis da superfície.

A banda localizada em 1650cm^{-1} é atribuída a deformação simétrica das moléculas de água presentes na estrutura da zeólita. Já, a banda alargada presente em 3480cm^{-1} possui contribuições das hidroxilas presentes na estrutura da zeólita (Al-OH e Si-OH), bem como a elongação simétrica e assimétrica das moléculas de água presentes na estrutura da zeólita. Pode-se notar no espectro de infravermelho a diminuição na intensidade desta banda, referente as hidroxilas, que foram substituídas nas reações de esterificação dos grupos silanóis.

Após a reação de esterificação dos grupos silanóis esperava-se obter uma banda referente ao estiramento de alcanos por volta de 1300cm^{-1} , porém a banda não foi observada no espectro devido aos tamanhos das cadeias de hidrocarbonetos utilizadas.

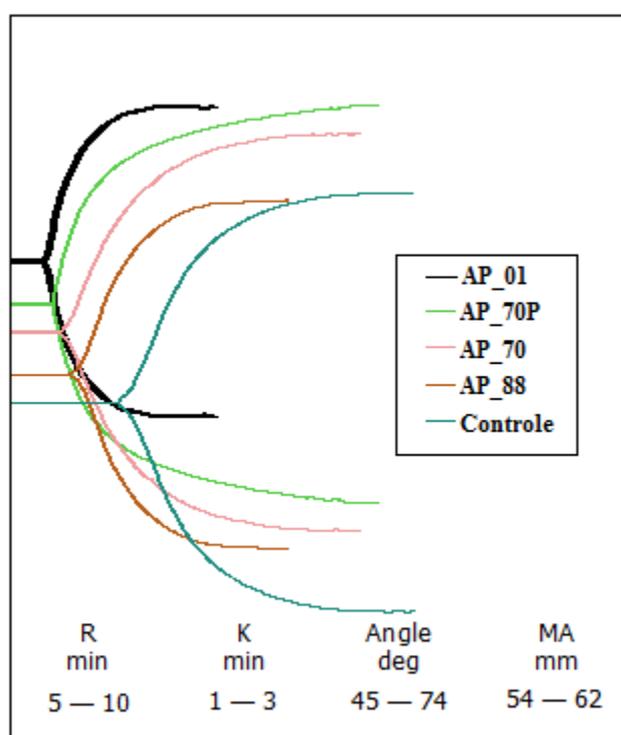
Figura 34: Espectro de infravermelho das amostras de NaX antes (AP_70) e após a esterificação com os alcoóis (AP_70P e AP_70B).



4.3. Tromboelastografia

Quando as zeólitas NaA e NaX, independente do método de síntese, foram adicionadas ao sangue, o parâmetro R diminuiu quando comparado ao sangue sem adição do material. Como vemos na Figura 35 as curvas em preto, verde, rosa e marrom, que são resultados do TEG de amostras com adição de zeólitas, aumentam a amplitude de oscilação antes da curva em azul (controle).

Figura 35: Tromboelastogramas de amostras de sangue: com adição da zeólitas NaX sintetizadas por aquecimento convencional (AP_01) (curva em preto); com adição de NaX sintetizada por aquecimento de micro-ondas após a esterificação com propanol (AP_70P) (curva em verde); com adição de NaX sintetizada por micro-ondas (AP_70) (curva em rosa); com adição de NaA sintetizada por micro-ondas (AP_88) (curva em marrom) e amostra controle sem adição de material zeolítico (curva em azul).



Em relação as zeólitas NaA (AP_67 e AP_88), observa-se na Tabela 4, que ambas provocaram a redução do parâmetro R, ou seja, as duas amostras provocaram mudanças no ambiente físico-químico onde ocorre a cascata de coagulação e como consequência houve a redução do tempo necessário para o formação de um coágulo mensurável de 9,8 para 5,2 minutos.

Tabela 4: Dados de tromboelastografia das zeólitas NaA e NaX sintetizadas neste trabalho, onde: AP_67 é a zeólita NaA (aquecimento convencional por 48 horas); AP_88 é a zeólita NaA (aquecimento de micro-ondas por 30 minutos); AP_01 é a zeólita NaX (aquecimento convencional por 48 horas; AP_70 é a zeólita NaX (aquecimento de micro-ondas por 2 horas , precedido por 24 horas de envelhecimento); AP_70P e AP_B (zeólitas AP_70 após a modificação com 1-propanol e 1-butanol, respectivamente) e Controle é o sangue sem adição de material zeolítico.

Amostra	R(minutos)	K(minutos)	Ângulo α (°)	MA(mm)
Controle	9,8±0,5	2,7±0,2	58,6±1,2	59,4±2,2
AP_67	5,2±0,3	1,9±0,2	64,1±1,2	58,3±2,3
AP_88	5,1±0,3	2,2±0,3	61,8±1,3	51,8±2,3
AP_01	3,8±0,4	1,8±0,3	67,3±1,2	58,5±2,3
AP_70	4,8±0,3	1,5±0,3	67,9±1,3	57,4±2,2
AP_70P	4,2±0,5	1,8±0,2	66,4±1,3	54,2±2,4
AP_70B	4,2±0,4	1,5±0,2	69,9±1,5	50,1±2,2

Também nota-se que o uso das zeólitas AP_67 e AP_88 reduziu o tempo de crescimento do coágulo (medido pelo parâmetro K) de 2,7 para 1,9 e 2,2 minutos, respectivamente. O parâmetro do ângulo α , que esta relacionado com a taxa de geração de trombina, teve um aumento de 58,6° (controle) para 64,1° e 61,8°.

Como último parâmetro tem-se a amplitude máxima (MA), este parâmetro fornece informações sobre a adesão plaquetária, ou seja, a taxa com que as plaquetas se movimentam até o local do ferimento e estão atuando no processo de coagulação, além disso, este parâmetro nos oferece informações sobre a elasticidade da rede de fibrina formada para conter o sangramento. Quando este parâmetro é pequeno uma rede mais

flexível é formada, como consequência essa rede se mantém estável mesmo quando exposta a pressão do fluxo sanguíneo. A Tabela 4 mostra que o coágulo do sangue sem adição de zeólitas apresentou MA de 59,4mm e o coágulo do sangue com material (AP_67) apresentou MA de 58,3mm, enquanto que o coágulo do sangue com material (AP_88) apresentou MA de 51,8mm.

A mesma análise é feita com as amostras AP_01 e AP_70 e neste caso nota-se que o tempo necessário para a formação de coágulo de tamanho mensurável (R) foi de 3,8 e 4,8 minutos, respectivamente. Essa diferença está relacionada com as diferentes cargas superficiais de cada estrutura, como já foi discutido ao observar os resultados de potencial zeta. Em relação ao parâmetro K, as duas zeólitas provocaram decréscimo, de 2,7 (controle) para valores próximos de 1,6min. A zeólita AP_01 foi mais eficiente no que diz respeito a taxa de geração de trombina, levando o ângulo α de 58,6 para 67,9. Em relação a máxima amplitude (MA) não houveram mudanças relevantes dos valores quando comparados a amostra controle.

Em relação as amostras que tiveram suas superfícies modificadas, AP_70P e AP_70B, nota-se que em relação ao parâmetro R, K e ângulo α , as zeólitas tiveram resultados semelhantes a amostra sem modificação (AP_70). O parâmetro MA sofreu uma leve modificação quando a zeólita AP_70B foi adicionada ao sangue levando de 57,4 (AP_70) para 50,1, sendo que o sangue sem adição de material apresentou valor de 59,4. Ou seja, a adição da zeólita AP_70B deixou o coágulo mais rígido.

Em geral, observa-se que o uso de zeólitas, independente da estrutura, provoca diminuição do tempo de coagulação. Como já mencionado, essa diminuição é provocada pela superfície negativamente carregada que induz o início da cascata de coagulação, bem como pela adsorção de moléculas de água do plasma sanguíneo.

Porém, outro fator que influencia no processo de coagulação são íons Na^+ presentes na superfície da zeólita que podem atuar de maneira análoga aos íons Ca^{2+} . Esses íons possuem papel reconhecido no processo de coagulação⁵⁹ e participam como cofator que desempenha um papel crítico na orientação das enzimas de coagulação sobre a superfície celular, servindo como a ponte iônica entre dois resíduos carregados negativamente, agindo de maneira a mediar a ligação dos Fatores IXa e Xa junto as plaquetas através da ligação terminal dos resíduos gamma-carboxil dos fatores nos fosfolípidos da membrana das plaquetas.^{13; 59}

Outros sólidos inorgânicos tiveram seu potencial como agentes hemostáticos explorados, Ostomel e colaboradores⁶⁰ estudaram o efeito da adição de partículas de óxido de silício (SiO_2) ao sangue e ao fazer o tromboelastograma obtiveram tempo de resposta inicial (parâmetro R) de 2,9 minutos, sendo que o valor de referência utilizado foi de 10,9 minutos. As partículas de SiO_2 utilizadas pelos autores possuem carga negativa em pH 7,4, assim como as zeólitas sintetizadas neste trabalho. Os autores também estudaram o efeito do óxido de Alumínio (Al_2O_3) que possui potencial zeta positivo em 7,4, este material provocou um tempo de resposta de 10,9 minutos, ou seja este material não é um agente pró-coagulante.

5. Conclusões

Com base nos objetivos propostos, a zeólita NaA foi sintetizada utilizando aquecimento de micro-ondas com 30 minutos de síntese (AP_88). Este resultado, quando comparado as 48 horas necessárias para obtenção da mesma zeólita utilizando aquecimento convencional (AP_67), apresentou uma redução de 98% no tempo de síntese. Os dados de DRX e MEV das zeólitas NaA sintetizadas utilizando fontes diferentes de calor mostraram que não houveram mudanças nas fases cristalinas e nem

na morfologia dos materiais obtidos que se apresentaram na forma cúbica. Os dados de EDS mostraram uma ligeira diferença na composição química das amostras., mas de maneira geral, **foi possível substituir o aquecimento convencional pelo aquecimento de micro-ondas sem perdas nas características dos materiais.**

Em relação a zeólita NaX, quando foi utilizado o aquecimento convencional, a zeólita em escala **nanométrica** foi obtida após 48 horas de síntese a 60°C(AP_01). Utilizando a radiação de micro-ondas a zeólita NaX foi obtida em escala **micrométrica** com 4 horas de síntese a 90°C sem realizar o processo de envelhecimento(AP_97). Quando o gel de síntese da zeólita NaX foi envelhecido por 24 horas, foi obtido a zeólita NaX em escala **nanométrica** após 2 horas de síntese utilizando radiação micro-ondas (AP_70). Os dados de EDS mostraram uma diferença considerável na composição química das amostras AP_01 e AP_70. **Mas se tratando de fases cristalinas e morfologia, no caso da zeólita NaX, também observou-se que foi possível a substituição do aquecimento convencional pelo aquecimento de micro-ondas, desde que amostra fosse envelhecida por 24 horas.**

Ainda em relação a zeólita NaX (AP_70), os resultados de microscopia mostraram que **a modificação da superfície utilizando 1-propanol e 1-butanol foi eficiente na estabilização estérica das zeólitas AP_70.**

A aplicação das zeólitas NaA, AP_67 e AP_88 como agentes hemostáticos coagulantes, mostrou que ambas diminuíram o tempo necessário para a formação do coágulo de 9,8 para em média **5,2 minutos**. Os parâmetros K e ângulo α também sofreram variações satisfatórias quando ambas as zeólitas foram adicionadas ao sangue.

Em relação a aplicação da zeólita NaX como agente hemostático coagulante, a amostra sintetizada por meio de aquecimento convencional apresentou o valor de R de

3,8 minutos, uma redução de 6 minutos quando comparado ao sangue controle. O valor de R obtido quando a zeólita AP_70 foi utilizada foi de **4,8 minutos**. Em geral, a zeólita NaX foi mais eficiente na redução o tempo de início e de crescimento do coágulo. Também foi observado que a modificação da superfície da zeólita por meio da adição de **alcanos não provocou** grandes alterações no tempo de formação do coágulo.

Referências

- 1 ARAÚJO, M. V. D. **Síntese de agentes hemostáticos coagulantes com base em materiais zeolíticos**. 2013. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). Universidade Paulista Julio de Mesquita Filho
- 2 DYER, A. **An introduction to zeolite molecular sieves**. New York, NY: John Wiley and Sons Inc, 1988.
- 3 NAGY, J. et al. Synthesis, characterization and use of zeolitic microporous materials. **Deca Gen Ltd, Szeged, Hungary**, 1998.
- 4 Disponível em : <http://www.iza-structure.org/databases/>. Acesso em 10/03/2017.
- 5 HINCAPIE, B. O. et al. Synthesis of mordenite nanocrystals. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 67, n. 1, p. 19-26, 2004.
- 6 DE VASCONCELLOS, A. et al. Synergistic effect in the catalytic activity of lipase *Rhizomucor miehei* immobilized on zeolites for the production of biodiesel. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 163, p. 343-355, 2012.
- 7 LAURENTI, J. B. et al. Enhanced pro-coagulant hemostatic agents based on nanometric zeolites. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 239, p. 263-271, 2017.
- 8 CSAJBÓK, É. et al. Gadolinium (III)-Loaded Nanoparticulate Zeolites as Potential High-Field MRI Contrast Agents: Relationship Between Structure and Relaxivity. **Chemistry–A European Journal**, v. 11, n. 16, p. 4799-4807, 2005.
- 9 BIEMMI, E.; BEIN, T. Assembly of nanozeolite monolayers on the gold substrates of piezoelectric sensors. **Langmuir**, v. 24, n. 19, p. 11196-11202, 2008.
- 10 GILBERT, J.; MOSSET, A. Large crystals of mordenite and MFI zeolites. **Materials research bulletin**, v. 33, n. 7, p. 997-1003, 1998.
- 11 United States Patent. RICHARD, M. B. **Process for the manufacture of crystalline absorbents**. Patent n. 2,413,134, 24 dez. 1946.

- 12 MILTON, R. M. Molecular sieve science and technology. **American Chemical Society Publications**, 1948.
- 13 CUNDY, C. S.; COX, P. A. The hydrothermal synthesis of zeolites: history and development from the earliest days to the present time. **Chemical Reviews**, v. 103, n. 3, p. 663-702, 2003.
- 14 CUNDY, C. S.; COX, P. A.. The hydrothermal synthesis of zeolites: Precursors, intermediates and reaction mechanism. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 82, n. 1, p. 1-78, 2005.
- 15 FLANIGEN, E. et al. Nature 271, 512; Kokotailo, GT, Lawton, SL and Olson, DH. **Nature**, v. 272, p. 437, 1978.
- 16 CHANG, C. D.; BELL, A. T. Studies on the mechanism of ZSM-5 formation. **Catalysis Letters**, v. 8, n. 5, p. 305-316, 1991.
- 17 SMART, L. E.; MOORE, E. A. **Solid State Chemistry: an introduction**. New York: CRC Press 4. ed. 2012.
- 18 MASOUDIAN, S. K.; SADIGHI, S.; ABBASI, A. Synthesis and characterization of high aluminum zeolite X from technical grade materials. **Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis**, v. 8, n. 1, p. 54-60, 2013.
- 19 KAPPE, C. O.; DALLINGER, D.; MURPHREE, S. S. **Practical microwave synthesis for organic chemists**. John Wiley & Sons, 2008.
- 20 ROMERO, M. et al. Synthesis of LSX zeolite by microwave heating. **Materials research bulletin**, v. 39, n. 3, p. 389-400, 2004.
- 21 ALMEIDA, R. K. S. et al. Um reator fotoquímico barato e eficiente para experimentos de química. **Química Nova**, 2014.
- 22 BILECKA, I.; NIEDERBERGER, M. Microwave chemistry for inorganic nanomaterials synthesis. **Nanoscale**, v. 2, n. 8, p. 1358-1374, 2010.
- 23 CHANDRASEKHAR, S.; PRAMADA, P. Microwave assisted synthesis of zeolite A from metakaolin. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 108, n. 1, p. 152-161, 2008.

- 24 SATHUPUNYA, M.; GULARI, E.; WONGKASEMJIT, S. Na-A (LTA) zeolite synthesis directly from alumatrane and silatrane by sol-gel microwave techniques. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 23, n. 8, p. 1293-1303, 2003.
- 25 SLANGEN, P.; JANSEN, J.; VAN BEKKUM, H. The effect of ageing on the microwave synthesis of zeolite NaA. **Microporous materials**, v. 9, n. 5-6, p. 259-265, 1997.
- 26 ANSARI, M. et al. Preparation and characterization of nano-NaX zeolite by microwave assisted hydrothermal method. **Advanced Powder Technology**, v. 25, n. 2, p. 722-727, 2014.
- 27 PANZARELLA, B. et al. Microwave synthesis of zeolites. 2. Effect of vessel size, precursor volume, and irradiation method. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 44, p. 12657-12667, 2007.
- 28 CUNDY, C.; ZHAO, J. Remarkable synergy between microwave heating and the addition of seed crystals in zeolite synthesis—a suggestion verified. **Chemical Communications**, n. 14, p. 1465-1466, 1998.
- 29 LYKLEMA, J. Water at interfaces: a colloid-chemical approach. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 58, n. 2, p. 242-250, 1977.
- 30 BERGNA, H. E. Colloid chemistry of silica. **American Chemical Society Publications**, 1994.
- 31 Disponível em : <http://www.particlesciences.com/news/technical-briefs/2009/physical-stability-of-disperse-systems.html>. Acesso em 20/03/2017.
- 32 United States Patent. ILER, R. K. **Method of esterifying the surface of a silica substrate having a reactive silanol surface and product thereof**: Patent n. 2,657,149, 27 out. 1953.
- 33 United States Patent. ILER, R. K.. **Process of preparing a silica organosol and resulting product**: Patent n. 2,680,696, 8 jun. 1954.
- 34 LARLUS, O. et al. A powerful structure-directing agent for the synthesis of nanosized Al-and high-silica zeolite Beta in alkaline medium. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 142, n. 1, p. 17-25, 2011.

- 35 GALOWNIA, J.; MARTIN, J.; DAVIS, M. E. Aluminophosphate-based, microporous materials for blood clotting. **Microporous and mesoporous materials**, v. 92, n. 1, p. 61-63, 2006.
- 36 MCMANUS, J. et al. A case series describing thermal injury resulting from zeolite use for hemorrhage control in combat operations. **Prehospital Emergency Care**, v. 11, n. 1, p. 67-71, 2007.
- 37 KOZEN, B. G. et al. An alternative hemostatic dressing: comparison of CELOX, HemCon, and QuikClot. **Academic Emergency Medicine**, v. 15, n. 1, p. 74-81, 2008.
- 38 RHEE, P. et al. QuikClot use in trauma for hemorrhage control: case series of 103 documented uses. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, v. 64, n. 4, p. 1093-1099, 2008.
- 39 OSTOMEL, T. A.; SHI, Q.; STUCKY, G. D. Oxide hemostatic activity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 26, p. 8384-8385, 2006.
- 40 ARNAUD, F. et al. Exothermic reaction in zeolite hemostatic dressings: QuikClot ACS and ACS+®. **Annals of biomedical engineering**, v. 36, n. 10, p. 1708, 2008.
- 41 NEUFFER, M. C. et al. Hemostatic dressings for the first responder: a review. **Military medicine**, v. 169, n. 9, p. 716, 2004.
- 42 DEVLIN, J. J. et al. Comparison of ChitoFlex®, CELOX™, and QuikClot® in control of hemorrhage. **The Journal of emergency medicine**, v. 41, n. 3, p. 237-245, 2011.
- 43 MARGOLIS, J. Initiation of blood coagulation by glass and related surfaces. **The Journal of physiology**, v. 137, n. 1, p. 95, 1957.
- 44 GRIFFIN, J. H. Role of surface in surface-dependent activation of Hageman factor (blood coagulation factor XII). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 75, n. 4, p. 1998-2002, 1978.
- 45 BOLLIGER, D.; SEEBERGER, M. D.; TANAKA, K. A. Principles and practice of thromboelastography in clinical coagulation management and transfusion practice. **Transfusion medicine reviews**, v. 26, n. 1, p. 1-13, 2012.

- 46 CHANDLER, W. L. Emergency assessment of hemostasis in the bleeding patient. **International journal of laboratory hematology**, v. 35, n. 3, p. 339-343, 2013.
- 47 BERTRAM, J. P. et al. Intravenous hemostat: nanotechnology to halt bleeding. **Science translational medicine**, v. 1, n. 11, p. 11ra22-11ra22, 2009.
- 48 SMITH, S. A. The cell-based model of coagulation. **Journal of veterinary emergency and critical care**, v. 19, n. 1, p. 3-10, 2009.
- 49 CARLOS, M. M. L.; DE SOUSA FREITAS, P. D. F. Estudo da cascata de coagulação sangüínea e seus valores de referência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 1, n. 2, p. 49-55, 2007.
- 50 RIDDEL JR, J. P. et al. Theories of blood coagulation. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, v. 24, n. 3, p. 123-131, 2007.
- 51 SAMUDRALA, S. Topical hemostatic agents in surgery: a surgeon's perspective. **AORN journal**, v. 88, n. 3, p. S2-S11, 2008.
- 52 ADAMS, R. L.; BIRD, R. J. Review article: Coagulation cascade and therapeutics update: relevance to nephrology. Part 1: Overview of coagulation, thrombophilias and history of anticoagulants. **Nephrology**, v. 14, n. 5, p. 462-470, 2009.
- 53 LOKE, C.; ALI, S. S.; JOHARI, V. Pharmacology of anticoagulants. **Disease-a-Month**, v. 58, n. 8, p. 424-430, 2012.
- 54 GALVEZ, K.; CORTES, C. Tromboelastografía: nuevos conceptos en la fisiología de la hemostasia y su correlación con la coagulopatía asociada al trauma. **Revista Colombiana de Anestesiología**, v. 40, n. 3, p. 224-230, 2012.
- 55 PUSATERI, A. E. et al. Making sense of the preclinical literature on advanced hemostatic products. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, v. 60, n. 3, p. 674-682, 2006.
- 56 CARVALHO, M. V. H. D. et al. Topical haemostatic agents and tissue adhesives. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 40, n. 1, p. 66-71, 2013.

- 57 KUZNIATSOVA, T. et al. Zeta potential measurements of zeolite Y: Application in homogeneous deposition of particle coatings. **Microporous and mesoporous materials**, v. 103, n. 1, p. 102-107, 2007.
- 58 FLANIGEN, E. M.; KHATAMI, H.; SZYMANSKI, H. A. Infrared structural studies of zeolite frameworks. **American Chemical Society Publications**, 1971.
- 59 SUNNERHAGEN, M. et al. Structure of the Ca²⁺-free GLA domain sheds light on membrane binding of blood coagulation proteins. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 2, n. 6, p. 504-509, 1995.
- 60 OSTOMEL, T. A. et al. Metal oxide surface charge mediated hemostasis. **Langmuir**, v. 23, n. 22, p. 11233-11238, 2007.