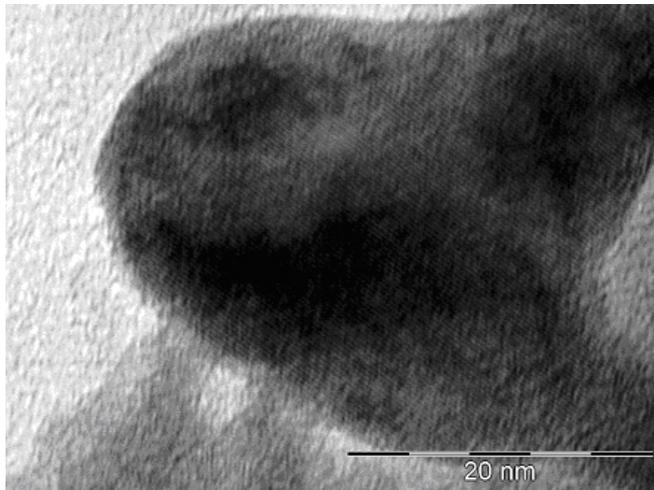


Comunicado Técnico

ISSN 1517-4786
 Novembro, 2008
 São Carlos, SP

Foto: Caue Ribeiro



Síntese de Nanopartículas de Prata para Aplicação na Sanitização de Embalagens

Elias Antonio Berni Neto¹
 Caue Ribeiro²
 Valtencir Zucolotto³

As exigências de mercado atuais fazem com que a agroindústria brasileira esteja sempre na busca incessante da melhoria dos processos com vistas ao aumento da produtividade, qualidade e competitividade. No mercado internacional de agroprodutos, as exigências por qualidade são ainda maiores, muitas vezes ultrapassando as características do produto em si e englobando o processo de produção, no qual o impacto ambiental das atividades ganha cada vez mais importância. Paralelamente, o foco em procedimentos industriais de sanidade e redução de contaminação biológica, principalmente em processos na indústria alimentícia, vem frequentemente ganhando destaque, tanto na mídia quanto em trabalhos de pesquisa. Na indústria de polímeros esta é uma preocupação legítima, tanto pelo alto uso destes materiais como embalagens de alimentos como também pelo fato de serem significativamente estáveis, gerando resíduos de difícil degradação, agindo como potenciais vetores de proliferação de microorganismos quando contaminados (seja em processo ou pelo uso) e descartados (PADULA e CUERVO, 2004).

Uma das propostas é a modificação dos polímeros por meio da formação de compósitos (KOJIMA et al., 1993), que são considerados todos aqueles nos quais duas ou mais fases de origens distintas coexistem em escala pelo menos micrométrica, com interfaces bem definidas quando essas fases coexistem em escala nanométrica, costuma-se nomear esses produtos como nanocompósitos. Espera-se assim que cada fase contribua com uma propriedade do produto final, isoladamente ou sinergicamente à matriz. Portanto, pode-se vislumbrar a formação de um nanocompósito de matriz polimérica com propriedades sanitizantes, desde que neste caso uma das fases incorporadas tenha propriedades bactericidas ou bacteriostáticas. Assim, uma etapa inicial da busca desse produto é definir uma classe de nanopartículas com

Propriedades de interesse, e que possa ser incorporada regularmente a uma matriz desejada.

Uma classe de grande interesse neste tópico são as nanopartículas de metais nobres, sintetizadas por via aquosa (CRESPILHO et al., 2006; KAMAT, 2002; FURLONG et al., 1984; TURKEVICH e KIM, 1970; TURKEVICH et al., 1951). Tais nanopartículas têm atraído grande atenção em áreas como catálise, nanoeletrônica e paralelamente no estudo de suas potencialidades na área médica. A grande maioria dos estudos está relacionados a nanopartículas de prata, também referidas como prata coloidal. Poucos microorganismos apresentam resistência contra a mesma recentemente demonstrou-se atividade citoprotetiva em células infectadas com o HIV-1 (WAI-YIN et al., 2005) resistência essa, possivelmente oriunda da produção de proteínas que agiriam como quelatos, complexando a prata, diminuindo assim sua toxicidade (GUGGENBICHLER et al., 1999).

A prata coloidal apresenta ação contra uma ampla faixa de microorganismos como bactérias (Gram-positivas / negativas), fungos e vírus. Seu efeito bactericida foi quantificado pela primeira vez por *Von Naegelis* contra algas, na forma de íons de prata. O uso de colóides de prata, ou seja, partículas nanométricas em solução tamanho variando de 10^{-9} m à 10^{-6} m (KEY e MASS, 2001) é relatado em documentos científicos do fim do século 18, sendo seu uso intensificado entre 1910 e 1920 (GIBBS, 1999). Além da prata, muitos outros metais foram estudados, resultando na seguinte escala de toxicidade contra microorganismos: Ag > Hg > Cu > Cd > Pb > Co > Au > Zn > Fe > Mn > Mo > Sn >. Adicionalmente, a prata é o metal que apresenta a menor toxicidade para as células animais (colóides de mercúrio se mostraram extremamente tóxicos aos seres humanos).

Como efeitos colaterais que a ingestão de prata em altas concentrações pode ocasionar, estão problemas

¹Físico, mestrando, IFSC-USP, Departamento de Física e Ciência dos Materiais. Av. Trabalhador SãoCarlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP, eliasberni@gmail.com

²Eng. Materiais, Dr., Pesquisador, Embrapa Instrumentação Agropecuária, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP, caue@cnpdia.embrapa.br

³Engenheiro de Materiais, Dr., IFSC-USP, Departamento de Física e Ciência dos Materiais. Av. Trabalhador SãoCarlense, 400, 13566-590, São Carlos, SP, zuco@ifsc.usp.br

Neurológicos, nos rins, indigestão, dores de cabeça e a Argyria, patologia que causa o azulamento da pele. Os colóides de prata eram geralmente utilizados no tratamento de queimaduras e também como agentes quimioterápicos contra patologias provocadas por bactérias, como *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Fecim*, *Tuberculosis* e *Streptococcus Pneumoniae*. Durante a idade média uma solução de AgNO_3 (Lunar Caustic) era ministrada a pacientes com distúrbios nervosos, epilepsia e sífilis. A principal forma de consumo era conhecida como *Colloidal Silver Protein* (CSP). Existiam dois tipos, basicamente: o CSP mais brando, com uma concentração de 19-23 % de prata e baixa ionização, e o outro tipo mais agressivo com uma concentração de 7,5-8,5 % de prata e alta ionização. O colóide brando causava mínima irritação e boa ação bactericida, já o colóide agressivo causava uma maior irritação e ação antimicrobiana duvidosa (FOXNEWS.COM, 2007; FUNG e BOWEN, 1996). Segundo o *Environmental Protection Agency-USA* (EPA, 1987), doses de 5 g / Kg / dia de prata são aceitáveis com improváveis riscos para a saúde, sendo a dose limite de 14 g / Kg / dia. Uma pessoa com um peso de 70 Kg em uma dieta regular pode consumir até 90 g / dia de prata.

Estudos da atividade antimicrobiana nas seguintes bactérias *P. aeruginosa*, *V. cholera*, *E. coli* e *S. typhus* mostraram que concentrações de 75 g / ml são suficientes para inibir o crescimento das mesmas (MORONES et al., 2005). Porém, apesar do efeito bactericida / antimicrobiano dos compostos de prata ser bem conhecido, seu mecanismo de ação permanece ainda parcialmente obscuro. Já se sabe que sua ação nas três diferentes formas da prata, *bulk*, nanopartículas e íons é diferente (MORONES et al., 2005). A reatividade das nanopartículas de prata está relacionada principalmente ao seu tamanho, demonstrando ação contra as bactérias *Gram* - negativas aquelas com o tamanho por volta de 5 nm. Nelas ocorre o fenômeno de troca da estrutura eletrônica na superfície, deixando as mesmas mais reativas. Outro fator importante é a estrutura cristalina que as nanopartículas apresentam. Estudos mostram que quanto maior o número de facetas nas partículas, por exemplo, com a estrutura cristalina de {111}, maior será sua reatividade (MORONES et al., 2005).

Nanopartículas de prata de 1 a 100 nm em contato com bactérias podem ser encontradas tanto no interior das bactérias como em suas membranas, porém a interação com aglomerados de prata não é observada (MORONES et al., 2005). As nanopartículas de prata têm grande afinidade com grupos que possuem os elementos enxofre e fósforo, que são encontrados tanto nas membranas como no interior das bactérias. Sua interação ocorre com a membrana celular causando danos no processo de respiração celular e, no interior das mesmas, interagem com o DNA impedindo a divisão celular (MORONES et al., 2005). A ação das nanopartículas de prata se difere da ação de seus íons, que se caracteriza pelo desenvolvimento de uma região de baixo peso molecular no centro da bactéria, a qual se acredita que seja formada por proteínas produzidas pela bactéria a fim de complexar os íons de prata (GUGGENBICHLER, et al., 1999).

Com o descobrimento dos antibióticos, e sua introdução no uso medicinal os colóides metálicos foram descartados. Todavia, cada vez mais as bactérias se tornam resistentes aos antibióticos disponíveis no mercado, forçando assim a síntese constante de novas drogas, que na maioria dos casos não acompanham a velocidade de imunogenicidade dos vírus e bactérias (GIBBS, 1999). Na busca por novos medicamentos antimicrobianos, os colóides de prata voltam a despertar o interesse na comunidade científica, e nesta linha inúmeros trabalhos sobre o nanocompósito contendo prata tem sido publicados, sendo o estudo focado em bactérias como a *Escherichia coli*, e *Staphylococcus Aureus*, entre outras (SANPUI et al., 2008).

Os processos de síntese de nanopartículas de prata apresentados na literatura são extremamente variados, tanto *Bottom Up* (BU) como *Top Down* (TD), tais como ablação a laser (TD) (BAE et al., 2002), método de annealing (BU) (TWU et al., 2008) e pela redução dos íons de prata (BU) (CRESPILO et al., 2006; KAMAT, 2002). A redução ocorre por meio de agentes redutores

moderados como o ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) ou o boro hidreto de sódio (NaBH_4), nesse caso, estabilizantes moleculares ou surfactantes tem o objetivo de estabilizar as nanopartículas em suspensão (KAMAT, 2002). A síntese em meio aquoso é particularmente interessante, pois permite uma via fácil de compatibilizar as nanopartículas com estabilizantes moleculares com afinidade com diferentes polímeros, permitindo assim, numa etapa posterior, a formação de nanocompósitos polímero / prata coloidal.

Neste trabalho foram sintetizadas soluções contendo o polímero polivinil álcool (PVA) como estabilizante polimérico. Sua síntese é obtida pela mistura de soluções de nitrato de prata (AgNO_3), PVA, e por fim a adição de boro hidreto de sódio (NaBH_4), com todos os reagentes sobre forte agitação, em temperatura ambiente. As concentrações do sal de prata e do agente redutor foram mantidas em 0,5 mM e 2,0 mM respectivamente, variando se apenas as concentrações do PVA, 10 mM e 20 mM. A equação que descreve a redução dos íons de prata por meio do agente redutor é:



A caracterização foi feita por meio de espectroscopia no UV Visível (equipamento Shimadzu UV-Vis) e no Infra Vermelho (equipamento FTIR Nicolet), espalhamento dinâmico da luz e medida do potencial Zeta das nanopartículas em suspensão (equipamento ZetaSizer Nano). A medida de espectroscopia no UV Vis se baseia no fenômeno ressonância da banda plasmônica, observado em nanopartículas metálicas. Neste caso, uma onda eletromagnética (EM) incide sobre uma nanopartícula metálica (partículas 1-100 nm e EM na região do visível) ocasionando a oscilação em ressonância da nuvem eletrônica da nanopartícula, transformando a energia das ondas EM em energia térmica (NOGUEZ, 2007; ZHANG e NOGUEZ, 2008). Fatores importantes das nanopartículas no efeito de ressonância plasmônica de superfície são: a densidade eletrônica do material, massa efetiva, formato e tamanho bem como sua função dielétrica (NOGUEZ, 2007). As diferentes estruturas existentes propiciam diferentes modos de vibração, resultando assim em diferentes espectros de absorção (emissão de diferentes cores pelas nanopartículas). Para partículas com o tamanho de 1-30 nm, os modos de absorção da energia eletromagnética são devidos à (i) excitação coletiva dos elétrons livres, (ii) transição de interbanda, (iii) dispersão da superfície ou espalhamento dos elétrons livres, que ocorre quando o caminho livre médio dos elétrons é comparável as dimensões das partículas (NOGUEZ, 2007; ZHANG e NOGUEZ, 2008).

Os espectros UV vis das duas soluções são apresentados na Figura 1, ambos mostram o pico centrado por volta de 400 nm, característico de nanopartículas de prata com formato esférico. Entretanto, o espectro da solução com a menor concentração de PVA começa a apresentar absorção sobre todo o espectro visível, evidenciando assim a formação de aglomerados de nanopartículas de prata com novos formatos.

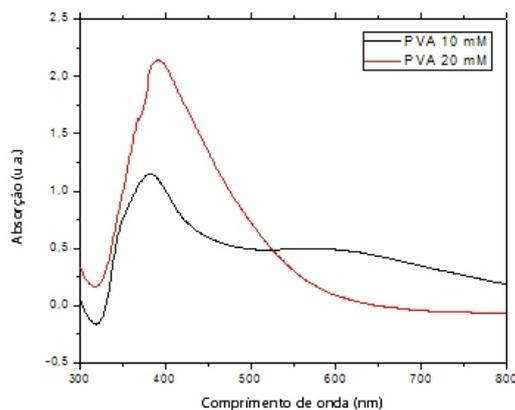


Fig. 1 - Espectros de absorção no UV vis das nanopartículas de prata, para as diferentes concentrações de PVA 10 mM e 20 mM.

Para compreender melhor as interações entre as nanopartículas de prata e o polímero PVA foi utilizada Espectroscopia no Infra Vermelho por Transformada de Fourier (FTIR), cujos espectros são mostrados na Figura 2. O PVA puro apresenta bandas bem definidas na faixa de 3440 cm^{-1} , referente ao estiramento do grupo OH, e bandas na faixa de 2900 cm^{-1} (alongamento anti simétrico, e CH_2 em 2870 cm^{-1} , alongamento simétrico do CH_2). A região entre 550 cm^{-1} e 750 cm^{-1} são correspondentes a assinatura de vibração fora do plano do grupo OH enquanto o pico em 837 cm^{-1} é referente ao mesmo tipo de vibração, mas do grupo CH (MBHELE et al., 2003). O pico em 1375 cm^{-1} é referente ao acoplamento entre os grupos OH e a banda em 1420 cm^{-1} corresponde à vibração do CH. O deslocamento da banda de 3440 cm^{-1} para valores de onda maiores, bem como o desaparecimento das bandas na faixa de 2900 cm^{-1} , CH_2 , e entre 1500 cm^{-1} e 750 cm^{-1} sugere a interação das partículas de prata com o grupo OH (MBHELE et al., 2003; KHANNA et al., 2005). O desaparecimento das assinaturas das vibrações referentes ao grupo CH é devido à interação OH/Ag, que inibe as mesmas.

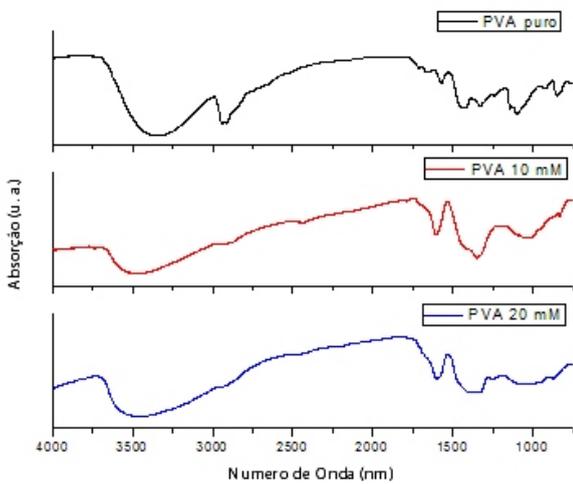


Fig. 2 - Espectro de infra vermelho do PVA puro, e do nanocompósito com concentrações de 10 mM e 20 mM de PVA. O desaparecimento das bandas na região de 550 cm^{-1} e 750 cm^{-1} e o deslocamento demonstram a interação das nanopartículas de prata com o grupo OH do PVA.

Para o estudo da distribuição do tamanho das partículas foi utilizada a técnica de espalhamento dinâmico da luz (Fig. 3). O sistema com a maior concentração de PVA, 20 mM, apresentou partículas com diâmetro em torno de 0,62 nm. Já o sistema de menor concentração de PVA, 10 mM, apresentou partículas com tamanho de 1,5 nm de diâmetro. Tal diferença entre os tamanhos das partículas se deve a concentração do PVA. Com baixa concentração do estabilizante, as nanopartículas de prata estão mais livres para interagirem umas com as outras, possibilitando assim a formação de aglomerados.

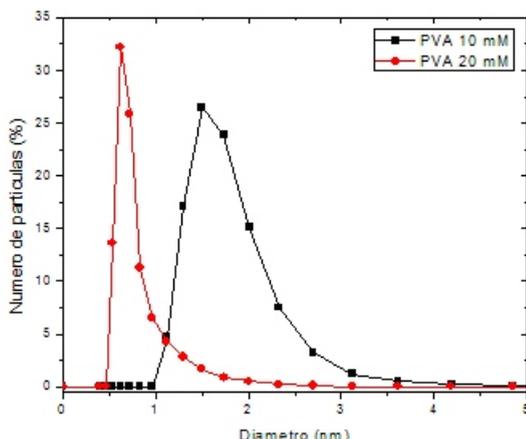


Fig. 3 - Tamanho das partículas obtido pela técnica de espalhamento dinâmico da luz, para as diferentes concentrações de PVA

O potencial Zeta, Figura 4, mostrou que o ponto isoelétrico do nanocompósito não varia em relação à concentração do surfactante, PVA, presente nas amostras. Levando em consideração a estabilidade das amostras com relação ao potencial Zeta maior que 30 mV (em módulo), observa-se que os pHs mais adequados quanto à estabilidade são aqueles maiores que 10. Todavia, soluções com o pH levemente ácido, 6,0 à 6,8 apresentam também boa estabilidade, sendo que esta é a faixa de pH ideal para a maioria dos sistemas biológicos.

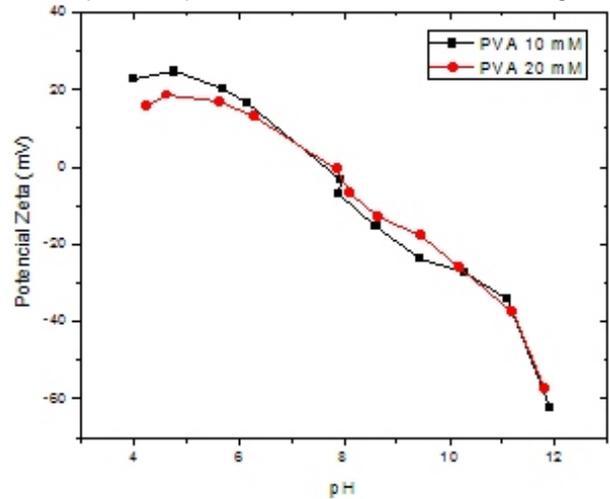


Fig. 4 - Dependência do potencial Zeta em função do pH das duas amostras com a concentração de PVA de 10 mM e 20 mM.

Considerações Finais

Por meio de uma rota simples de síntese foram obtidas nanopartículas de prata, nas quais o polivinil álcool (PVA) funcionou como estabilizante. A síntese das nanopartículas de prata foi confirmada por espectroscopia UV-vis., e análises de FTIR mostraram a interação das nanopartículas com os grupos OH do PVA. Os nanocompósitos mostraram-se estáveis para a faixa de pHs próximos de 7. Verificamos ainda que a estabilidade independe da concentração de PVA. Nanopartículas com tamanhos inferiores à 5 nm foram observadas nas duas concentrações de PVA utilizadas, entretanto, tamanhos maiores foram também observados para ambas as concentrações. O sistema com concentração de 20 mM de PVA apresentou uma distribuição do tamanhos menores de partículas.

Esse trabalho subsidiará etapas posteriores, na qual o sistema PVA/Ag será adicionado a diferentes matrizes poliméricas hidrofílicas de interesse para a fabricação de embalagens, de forma que o PVA agir como compatibilizante, e a prata coloidal conferirá as desejadas propriedades sanitizantes.

Referências

- BAE, C. H.; NAM, S. H.; PARK, S. M. Formation of silver nanoparticles by laser ablation of a silver target in NaCl solution. *Applied Surface Science*, Amsterdam, v. 197-198, p. 628-634, 2002.
- CRESPILHO, F. N.; ZUCOLLOTO, V.; BRET, C. M. A.; OLIVEIRA, O. N.; NART, F. C. Enhanced charge transport and incorporation of redox mediators in layer-by-layer films containing PAMAM-encapsulated gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B*, Washington, v. 110, n. 35, p. 17478-17483, 2006.

EPA, Integrated Risk Information System, Silver (CASRN 7440-22-4). Disponível em: <<http://www.epa.gov/iris/subst/0099.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

FUNG, M. C.; BOWEN, D. L. Silver Products for Medical Indications: Risk-Benefit Assessment. **Clinical Toxicology**, New York, v. 34, n. 1, p. 119-126, 1996.

FURLONG, D. N.; LAUNIKONIS, A.; SASSE, W. H. F.; SANDERS, J. V. Colloidal platinum sols - preparation, characterization and stability towards salt. **Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions**, Cambridge, v. 1, n. 80, p. 571, 1984.

GIBBS, R. **Silver Colloids Do they work**. [S. l.]: Edição do Autor, 1999.

GUGGENBICHLER, J. P.; BOSWALD, M.; LUGAUER, S.; KRALL, T. A New Technology of Microdispersed Silver in Polyurethane Induces Antimicrobial Activity in Central Venous Catheters. **Infection**, Miinchen, v. 27, Supplement 1, p. S16-S23, 1999.

KAMAT, P. V. Photophysical, Photochemical and Photocatalytic Aspects of Metal Nanoparticles. **Journal of Physical Chemistry B**, Washington, v. 106, p. 7729-7744, 2002.

KEY, F. S.; MAASS, G. **Ions, Atoms and Charged Particles**. 2001. Disponível em: <<http://www.silver-colloids.com/Papers/IonsAtoms&ChargedParticles.PDF>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

KHANNA, P. K.; SINGH, N.; CHARAN, S.; SUBBARAO, V. V. S.; GOKHALE, R.; MULIK, U. P. Synthesis and characterization of Ag/PVA nanocomposite by chemical reduction method. **Materials Chemistry and Physics**, Lausanne, v. 93, p. 117121, 2005.

KOJIMA, Y.; USUKI, A.; KAWASUMI, M. et al. Mechanical Properties of Nylon 6-Clay Hybrid. **Journal of Materials Research**, Pittsburgh, v. 8, n. 5, p. 1185-1189, 1993.

MAN Claims Skin Treatment Turned Face Permanent Blue. **FOXNEWS.COM**, Home, Health, 20 dez. 2007. Disponível em: <<http://www.foxnews.com/story/0,2933,317564,00.html>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

MBHELE, Z. H.; SALEMANE, M. G.; SITTERT, C. G. van; NEDELJKOVI, J. M.; DJOKOVI, V.; LUYT, A. S. Fabrication and Characterization of Silver-Polyvinyl Alcohol Nanocomposites. **Chemistry of Materials**, Washington, v. 15, n. 26, p. 5019-5024, 2003.

MING, C. Silver nanoparticles fabricated in Hepes buffer exhibit cytoprotective activities toward HIV-1 infected cells. **Journal of the Royal Society of Chemistry**, [S. l.], p. 5059-5061, 2005.

MORONES, J.; ELECHIGUERRA, J.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J.; RAMIREZ, J. YACAMAN, M. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, Bristol, v. 16, p. 2346-2353, 2005.

NOGUEZ, C. Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment. **Journal of Physical Chemistry. C**, Washington, v. 111, p. 3806-3819, 2007.

PADULA, M.; CUERVO, M. Legislação de embalagem para contato com alimentos: MERCOSUL e outros países Latinoamericanos. **Polímeros**, São Carlos, v. 14, n. 1, p. E8-E13, 2004.

SANPUI, P.; MURUGADOSS, A.; DURGA PRASAD, P. V.; GHOSH, S. CHATTOPADHYAY, A. The antibacterial properties of a novel chitosanAg-nanoparticle composite. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 124, p. 142-146, 2008.

TURKEVICH, J.; KIM, G. Palladium: preparation and catalytic properties of particles of uniform size. **Science**, London, v. 169, p. 873, 1970.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Faraday Discussions**, London, v. 11, p. 55, 1951.

TWU, Y. K.; CHEN, Y. W.; SHIH, C. M. Preparation of silver nanoparticles using chitosan suspensions. **Powder Technology**, Lausanne, v. 185, p. 251-257, 2008.

WAI-YIN, R.; CHEN, R.; CHUNG, N.; STEVE LIN, C.; CHIZHANG, J. Z.; NOGUEZ, C. Plasmonic Optical Properties and Applications of Metal Nanostructures. **Plasmonics**, [S. l.], v. 3, p. 127-150, 2008.

Comunicado Técnico, 99

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Instrumentação Agropecuária
 Rua XV de Novembro, 1542 - Caixa Postal 741
 CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: 16 2107 2800 - **Fax:** 16 2107 2902
e-mail: sac@cnpdia.embrapa.br
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
1a. edição
 1a. impressão 2008: tiragem 300

Ministério da
 Agricultura, Pecuária
 e Abastecimento



Comitê de Publicações

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Membros: Dra. Débora Marcondes B. P. Milori,
 Dr. João de Mendonça Naime,
 Dr. Washington Luiz de Barros Melo
 Valéria de Fátima Cardoso

Membro Suplente: Dr. Paulo S. P. Herrmann Junior

Expediente

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento das ilustrações: Valentim Monzane
Editoração eletrônica: Manoela Campos