

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA (*NPsAg*) EM SOLUÇÃO AQUOSA DE BIOPOLÍMERO

LINARDI, Leonardo Henrique¹

Faculdades Integradas Maria Imaculada – FIMI

Leonardoh054@gmail.com

ZIBORDI, Edson Rodrigo²

Faculdades Integradas Maria Imaculada – FIMI

Zibordi666@gmail.com

LOPES, Josias Rogério³

Faculdades Integradas Maria Imaculada – FIMI

Faculdade de Engenharia Mecânica – Unicamp

josiaslopes@yahoo.com.br

RESUMO

Nanomateriais híbridos (ou nanocompósitos) pertencem a uma classe especial de materiais e ocupam um lugar de destaque dentro da área da ciência e engenharia de materiais, especialmente em pesquisas relacionadas aos novos materiais compósitos formados da combinação de componentes orgânicos e inorgânicos. Dentre os componentes orgânicos, a fibroína da seda e a gelatina apresentam lugares de destaque na área de nanocompósitos. Um método de síntese verde foi utilizado para a preparação de um compósito de Fibroína/Nanopartículas de Prata/ Gelatina (*Fib/NPsAg/Gel*) em solução aquosa. A gelatina foi empregada na reação como agente estabilizante e a glicose como agente redutor. Um método de síntese verde foi utilizado para a preparação de um compósito de Fibroína/Nanopartículas de Prata/ Gelatina (*Fib/NPsAg/Gel*) em solução aquosa, que mostrou ser um método analítico eficaz na detecção das nanopartículas metálicas. As *NPsAg* apresentam uma intrínseca absorção de ressonância de plasma de superfície localizada (*Localized Surface Plasmon Resonance – LSPR*) na região UV-visível, com uma banda ao redor de 400 nm.

Palavras chave: 1. Nanopartículas de prata. 2. Fibroína. 3. Plasmon.

¹ Bacharel em Química Industrial pelas Faculdades Integradas Maria Imaculada.

² Bacharel em Química Industrial pelas Faculdades Integradas Maria Imaculada.

³ Mestre em Engenharia Mecânica, Departamento de Engenharia de Manufatura e Materiais da UNICAMP. Bacharel em Química Tecnológica pela UNICAMP e Licenciado em Química pela FIMI. Especialista na Síntese de Surfactantes, Preparação e Caracterização de Microemulsões pelo Consorzio per lo Sviluppo dei Sistemi a Grande Interfase da Universidade de Florença-Itália. Professor do Curso de Química Industrial da FIMI

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia pertence a um conjunto de revoluções que permearam a humanidade nos últimos séculos. As revoluções técnicas ocorridas nos últimos 300 anos podem ser divididas em **revolução geográfica**, com os navios que exploravam longas distâncias pelo mundo – **revolução industrial**, caracterizada pela utilização de máquinas a vapor – **revolução da tecnologia da informação**, com o desenvolvimento do transistor – e a **nanotecnologia**, com a invenção do microscópio de tunelamento (RAI, 2013). Duas tecnologias importantes foram desenvolvidas nos séculos XX e XXI, tecnologia da informação e a nanotecnologia. De forma geral, ambas exercem um papel importante para a sociedade e ciência moderna. A tecnologia da informação foi desenvolvida por volta de 1947, com a invenção do transistor. A nanotecnologia, com o desenvolvimento do microscópio de tunelamento, abrangeu diversos estudos e desempenhou papel essencial para o desenvolvimento das diversas áreas científicas e tecnológicas (RAI, 2013).

Um ponto interessante com relação à nanotecnologia é o estudo dos nanomateriais híbridos (ou nanocompósitos) que pertencem à classe dos materiais com maior desenvolvimento nas modernas áreas das ciências e tecnologias (SANCHES et al., 2005). Os nanomateriais híbridos possuem lugar de destaque na área das ciências e engenharia de materiais, com importantes aplicações em estudos de materiais compósitos. Esses materiais combinam compostos orgânicos e inorgânicos, que proporcionam grandes influências nas propriedades físicas e químicas desses nanomateriais, por exemplo, propriedades ópticas, magnéticas e catalíticas (GOMEZ; ROMERO, 2011). A combinação de diferentes materiais híbridos orgânico-inorgânicos pode resultar, de acordo com o comportamento sinérgico dos materiais constituintes, em novas propriedades ou intensificação de uma propriedade já existente no material (PAUL; ROBENSON, 2008). Atualmente material compósito à base de matriz polimérica ganhou um importante espaço em pesquisas e desenvolvimentos de novas tecnologias (PAUL; ROBENSON, 2008). Se ao menos um dos componentes possui dimensão na ordem de 1-100 nm, propriedades relacionadas à dimensão nanométrica irão surgir (YUAN; MULLER, 2010).

Nanocompósitos produzidos com polímeros naturais (bionanocompósitos) são, quando comparados aos materiais sintetizados, menos estudados e aplicados na indústria. Materiais

formados pela junção de polímeros naturais e substâncias inorgânicas – com ao menos uma dimensão na escala manométrica – são denominados **bionanocompósitos**. O desenvolvimento de nanocompósitos à base de biopolímeros aumentou nos últimos dez anos, desencadeados pela preocupação no desenvolvimento de materiais sustentáveis (recursos naturais com baixo custo, renováveis e com pequeno impacto ambiental) e a preparação de materiais com a disposição entre as fases orgânicas / inorgânicas inspiradas em nanocompósitos naturais (DARDER; ARANDA; RUIZ-HITZKY, 2007; LIU; BURGER; CHU, 2003).

Os bionanocompósitos são preparados necessariamente através da modificação e funcionalização dos biopolímeros, por exemplo, a incorporação de nanopartículas inorgânicas a estes materiais melhoram o desempenho dos materiais produzidos. Em diversas áreas já é conhecido que a interação de partículas metálicas com biopolímeros (proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos, etc.) é um fator importante em processos como biossorção, catálise fermentativa e biomineralização. Polímeros naturais propiciam a formação de um ambiente excelente para se promover uma efetiva funcionalização de centros ativos (POMOGAILO; KESTELMAN, 2005).

O controle da síntese de biopolímeros/nanopartículas inorgânicas possibilita a obtenção de materiais homogêneos de fácil processamento e baixo custo de produção. Atualmente, a preparação de nanocompósitos através da redução *in situ* de sais metálicos em suspensões aquosas de biopolímeros tem sido avaliada (HORISKOSHI; SERPONE, 2013). Na redução *in situ* um sal metálico solúvel é utilizado como precursor e um agente estabilizante para evitar a aglomeração das partículas. Os íons metálicos adsorvidos à matriz do biopolímero podem ser reduzidos às nanopartículas metálicas pelos grupos redutores presentes na própria matriz. A presença das cadeias macromoleculares dos biopolímeros melhora a distribuição no interior da matriz, evitam a formação de agregados e permitem a obtenção de nanopartículas metálicas com uma distribuição de tamanhos estreita e com forma bem definida (MANEERUNG et al., 2008).

Os biopolímeros surgiram como uma classe versátil de materiais que apresentam potenciais aplicações em diversas áreas, incluindo os materiais compósitos (SU et al., 2011; YOUNES; RINAUDO, 2015). Quitosana, celulose e fibroína são biopolímeros que foram investigados por diversos grupos de pesquisa em todo o mundo e, muitos produtos confeccionados a partir desses polímeros são comercializados hoje em dia (YOUNES; RINAUDO, 2015; KIM et al., 2005; HABIBI; LUCIA; ROJAS, 2010).

A seda é um biopolímero protéico insolúvel em água, que possui baixo custo de produção, um recurso abundante na natureza, renovável e disponível no Brasil, produzida por

aranhas, larvas do bicho-da-seda, mariposas, escorpiões e pulgas (LOPES, 2017). O bicho-da-seda domesticado (*Bombyx mori*) produz um casulo que apresenta na constituição de suas estruturas, fibras de uma proteína, fibroína, e uma espécie de cola responsável pela união das fibras de fibroína, a sericina. A fibroína de seda (SF) proveniente da *Bombyx mori* é composta por 5507 aminoácidos. A composição do biopolímero é devido às cadeias leves e pesadas, que constituem regiões cristalinas responsáveis por propiciar características mecânicas e, amorfas para a conferência de higroscopicidade das fibras (PAN et al., 2012). Atualmente, em decorrência da versatilidade apresentada por este polímero, sua aplicação em diversos sistemas foi viabilizada, por exemplo, cosméticos (HARDY; RÖMER; SCHEIBEL, 2008), para melhorar a superfície de materiais, aplicações bioquímicas, dentre outras utilizações (SRIUDOM et al., 2015; KUNDU, 2013). A fibroína possui propriedades que vão além destas aplicações. Por possuir ampla quantidade de proteínas, os grupos amino (-NH₂) presentes na sua composição propiciam a oportunidade de serem explorados como sítios ativos, nos quais podem ser ligadas nanopartículas metálicas e/ou promover redução dos íons metálicos aos seus respectivos metais (SASHINA, 2009). A preparação de um compósito de *NPsAg* suportada em uma matriz de fibroína e, a atividade antimicrobiana deste material na inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foi investigada na literatura (UTTAYARAT, 2012). Embora a preparação do compósito fibroína/prata já ter sido realizada antes, existem poucos estudos exploratórios de algumas propriedades destes materiais, por exemplo, suas propriedades plasmônicas quanto aos parâmetros de síntese.

A fibroína da seda possui uma biomacromolécula que possui uma sequência específica de aminoácidos. Este biopolímero é muito empregado na confecção de biomateriais. Uma das propriedades deste biopolímero é a sua biodegradabilidade controlada e biocompatibilidade, que é muito importante no desenvolvimento de filmes, hidrogéis, e drug delivery. Estudos apontaram que a utilização de *NPsAg* em contato com a matriz da fibroína levou à formação de um biofilme com características bactericidas e conseqüentemente, aplicações em curativos (TAO et al., 2017).

A prata e seus compostos têm sido utilizados em diversas aplicações desde os primórdios das civilizações, decorrente, sobretudo de suas excelentes propriedades. No século 20 o número de aplicações da prata e seus compostos aumentaram substancialmente, por exemplo, condutores elétricos, contatos elétricos, catálise, fotografia, espelhos, sistemas de filtração de água e piscina (VARNER, 2010), conversores de energia solar, sensores químicos, Espectroscopia Raman Amplificada por Superfície (Surface Enhanced Raman Scattering - SERS), cosméticos, produtos têxteis e na medicina (HAIDER; KANG, 2015; REIDY et al.,

2015). A forma coloidal da prata não é uma descoberta recente, a nanop prata (*NP*) já é conhecida a mais de 120 anos (VARNER, 2010). Em 1889, Lea Mc sintetizou a partir de citrato nanopartículas de prata com estabilidade coloidal e diâmetro médio para partículas na ordem de 7 e 9 nm (LOPES, 2017). A utilização de proteínas como agente estabilizador de (*NPs*) foi descrito em 1902. Um material denominado “Collargol”, uma classe de (*NPs*) com dimensão de partícula de 10 nm, foi preparada comercialmente e utilizada em aplicações médicas desde 1897. Em 1953, nanopartículas de prata (*NPsAg*) estabilizadas por gelatina foram patenteadas pela Moudry. Estas nanopartículas apresentavam diâmetros entre 2–20 nm (NOWACK; KRUG; HEIGHT, 2011). Na década de 50 foram produzidas *NPsAg* impregnadas em carbono com diâmetro de partícula abaixo de 25 nm. Em 1954, existe o registro nos Estados Unidos da utilização de *NPsAg* como biocida. Ao decorrer dos anos a produção da prata em escala nanométrica aumentou seu efeito no controle de vírus e bactérias, decorrente da grande área superficial das nanopartículas e, conseqüentemente, aumento do contato com os microrganismos. No metabolismo celular, sistemas de transferência de elétrons e o transporte do substrato na membrana celular de uma célula microbiana são danificados pelas *NPsAg* (LOPES, 2017).

A demanda crescente de nanopartículas deve estar vinculada aos métodos que utilizem a **síntese verde**. Na síntese verde estão envolvidas três etapas, que devem ser avaliadas com base nas perspectivas da “química verde”: escolha do solvente; utilização de um agente redutor ecologicamente “correto”; utilização de substâncias atóxicas na estabilização das *NPsAg* sintetizadas. Em um método de síntese denominado **método polissacarídeo** as *NPsAg* são preparadas utilizando como solvente a água e como agente redutor um polissacarídeo. Em alguns casos, o polissacarídeo atua como agente redutor e agente de “cobertura” (LOPES, 2017).

As nanopartículas metálicas possuem absorções intrínsecas em regiões diferentes do espectro UV-visível (UV-vis), denominada *banda plasmon*, *ressonância de plasmon de superfície* (*surface plasmon resonance – SPR*), ou mais especificamente *ressonância plasmon de superfície localizada* (*localized surface plasmon resonance – LSPR*). Esta ressonância é uma oscilação coerente dos elétrons de condução de superfície que foram excitados por radiação eletromagnética. O plasmon de superfície localizada é resultante das interações da luz com partículas muito menores do que o comprimento de onda incidente. Isso conduz ao plasmon que oscila localmente em torno da nanopartícula, com frequência conhecida como ressonância plasmon de superfície localizada (LSPR) (LOPES, 2017).

A gelatina é um biopolímero natural derivado da hidrólise do colágeno, apresenta propriedades intrínsecas como biocompatibilidade e biodegradabilidade e, portanto, se apresenta como um material interessante para ser explorado na preparação de nanocompósitos. As propriedades da gelatina são resultantes da composição, formada por 50,5% de carbono, 6,8% de hidrogênio, 17% de nitrogênio e 25,2% de oxigênio. A gelatina é obtida a partir do colágeno por processos de desnaturação química e possui estrutura rígida conectada por ligações covalentes. As moléculas possuem três cadeias polipeptídicas organizadas em uma tripla hélice estabilizadas por ligações de hidrogênio. A estrutura tripla hélice é formada com a repetição da sequência: Gly - X - Y (Glicina - Proteína – Hidroprolina) (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

Dois tipos de gelatina são comercializados, do tipo A (ponto isoelétrico em pH ~ 8-9) e gelatina tipo B (ponto isoelétrico em pH ~4-5). O processamento de pré-tratamento empregado na elaboração industrial é o ponto determinante nos dois tipos de gelatina obtidos, sendo que no tipo A são pré-tratadas em ambiente ácido, e a do tipo B, em condições básicas (GÓMEZ; GUILLÉN et al., 2011). O pré-tratamento ácido ou alcalino da matéria-prima envolve a hidrólise controlada da estrutura organizada do colágeno, com a obtenção de uma gelatina solúvel; seguida da desnaturação térmica do material. A desnaturação é o método que destrói a estrutura tridimensional da proteína. O colágeno é quebrado em diversos fragmentos e as triplas hélices são separadas, resultado da destruição das ligações de hidrogênio. A dimensão das cadeias polipeptídicas e as características funcionais da gelatina podem sofrer influência dos parâmetros de extração e o tipo de pré-tratamento químico utilizado (HANANI et al., 2014).

O objetivo deste trabalho foi a síntese de nanopartículas de prata em solução aquosa de gelatina e a preparação de um *bionanocompósito Fibroína/NPsAg/Gelatina*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Fibroína da seda foi extraída a partir de casulos do bicho-da-seda *Bombyx mori* (fibroína virgem). As amostras de casulos foram gentilmente doadas pela Fiação Bratac (Bastos, Brasil). A solução aquosa da fibroína foi preparada no Laboratório de Processos da Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP.

A diálise da fibroína e a síntese das nanopartículas de prata foram efetuadas no Laboratório Químico das Faculdades Integradas Maria Imaculada (FIMI), Mogi Guaçu (São Paulo).

Medidas de Espectrofotometria UV-Vis foram efetuadas no Laboratório de Nanobiotecnologia e Nanotoxicologia do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano).

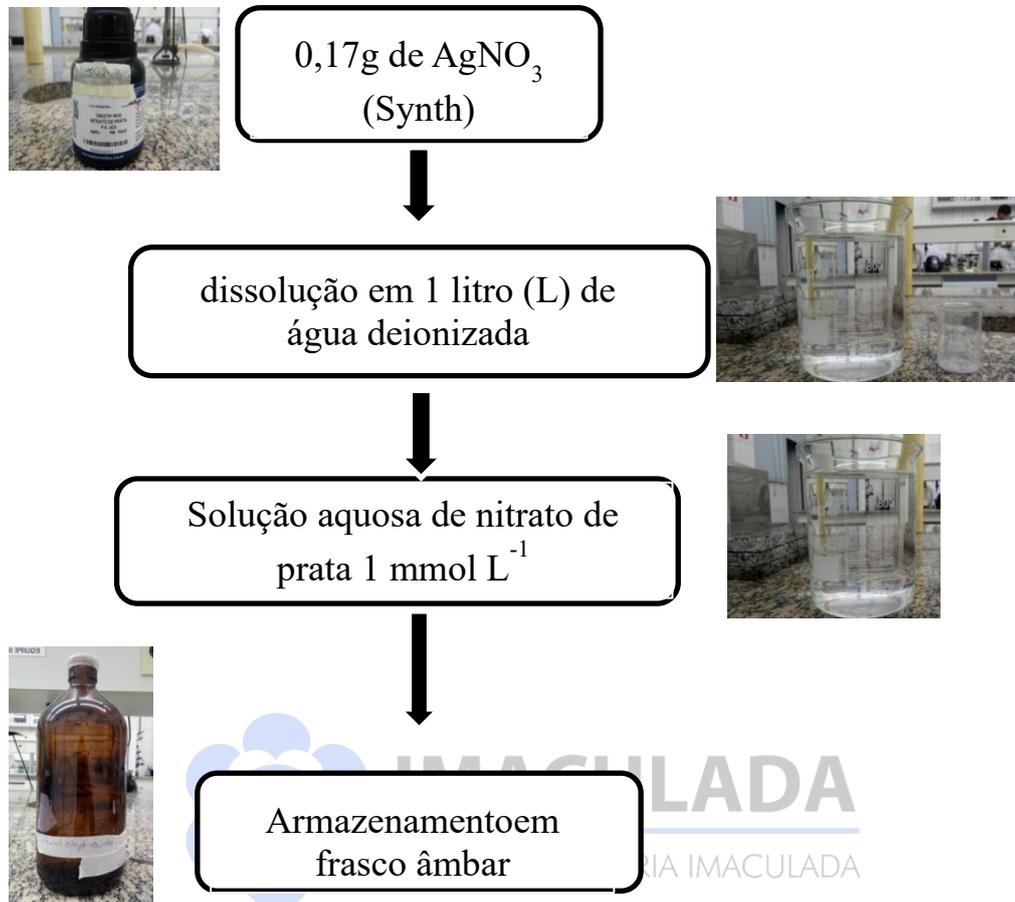
A estabilidade das *NPsAg* coloidais foi avaliada por medidas de Espalhamento de Luz Dinâmico (*DLS – Dynamic Light Scattering*) no Laboratório de Análise de Macromoléculas do Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE).

2.1 Preparação da Solução Aquosa de Nitrato de Prata (AgNO_3) (1 mmol.L^{-1})

Para a preparação da solução aquosa 1 mmol L^{-1} de nitrato de prata foram pesados $0,17 \text{ g}$ de AgNO_3 e esta massa foi dissolvida em 1 L de água deionizada. A solução obtida foi identificada e acondicionada em um frasco âmbar (ALMEIDA; BARBANTI, 2015).



Figura 1. Fluxograma com os procedimentos utilizados para a preparação da solução de nitrato de prata 1 mmol.L^{-1} .



Fonte: “Adaptado de” ALMEIDA; BARBANTI, 2015.

2.2 Síntese das Nanopartículas de Prata (NPsAg) em Solução Aquosa de Gelatina

Em um béquer de 200 mL (mililitros) foi dissolvido 1g de gelatina em 100 mL de água deionizada. Neste béquer foram adicionados 10 mL da solução aquosa de AgNO_3 ($1 \cdot 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$). Em seguida, foram adicionados 10 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) ($1,0 \text{ mol. L}^{-1}$). O béquer com a solução resultante foi transferido para o banho termostatizado em temperatura de 25°C . Com um auxílio de uma pipeta, 10 mL de uma solução aquosa de glicose ($1,0 \text{ mol. L}^{-1}$) foi adicionado ao béquer. A reação ocorreu por período de 15 min. (LOPES, 2017).

Figura 2. Fluxograma com os processos utilizados na síntese do bionanocompósito Gelatina/NPsAg.



Fonte: “Adaptado de” LOPES, 2017.

2.3 Diálise da Solução Aquosa de Fibroína

A solução de fibroína foi submetida à diálise. A diálise foi processada acondicionando a solução de fibroína em membranas de celulose (3500 MWCO – Sigma Aldrich) com dimensão igual a 16 mm de espessura. O saco de diálise foi colocado em um béquer de 250 mL que continha água deionizada. A solução foi acondicionada em geladeira a uma temperatura de 8°C, efetuando-se a troca da água a cada 24h. A proporção volumétrica de fibroína/água deionizada utilizada foi de 1:15 (v/v). Ao término de 72 h a água de diálise foi descartada, a solução de fibroína foi transferida para um frasco e permaneceu acondicionada em geladeira até ser utilizada na síntese (utilizada em um período de até 3 dias) (LOPES, 2017).

Figura 3. Fluxograma do processo de diálise da solução aquosa de Fibroína.



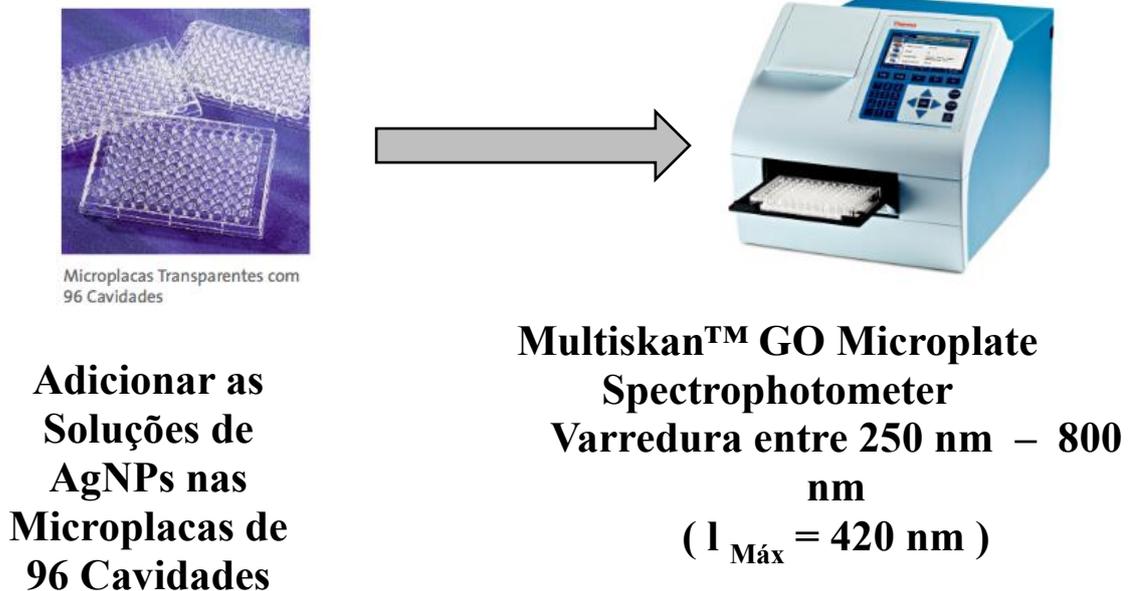
Fonte: "Adaptado de" LOPES, 2017.

2.4 Caracterização das Nanopartículas *NPsAg/Gelatina* por Espectrofotometria Ultravioleta -Visível (UV-vis)

A técnica de espectrofotometria ultravioleta - visível foi utilizada para a caracterização das nanopartículas de prata sintetizadas. Um *Espectrofotômetro de Microplacas Thermo Scientific Multiskan GO™* foi utilizado na obtenção de espectros ultravioleta-visível (UV-Vis)

dos bioanocompósito *Fibroína/NPsAg/Gelatina*. Os espectros foram obtidos efetuando-se a varredura em comprimento de onda entre 250 e 800 nm (LOPES, 2017).

Figura 4: Espectrofotômetro UV-vis utilizado na caracterização do bioanocompósito *Fibroína/NPsAg/Gelatina*.



Fonte: ALMEIDA; BARBANTI, 2015.



IMACULADA
 FACULDADES MARIA IMACULADA

2.5 Caracterização do *Bioanocompósito NPsAg/Gelatina* por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Potencial Zeta.

A estabilidade das *NPsAg* coloidais foi avaliada por medidas de Espalhamento de Luz Dinâmico (*DLS – Dynamic Light Scattering*). O diâmetro hidrodinâmico (*D*) e o índice de polidispersidade (*IP*) foram medidos em um equipamento ZetaSizer Nano ZS. Valores de Potencial Zeta (*ZP – Zeta Potencial*) foram determinados por espalhamento de luz eletroforético (*ELS – Electrophoretic Light Scattering*). Para as medidas de *ELS* foram preparadas soluções de Gelatina/NaOH/Glicose (**GNG**), Gelatina (**G**) e nanopartículas de prata/Gelatina (**NPsAg/G**).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Síntese do Bionanocompósito *NPsAg/Gelatina*

Polímero natural, por exemplo, a gelatina, é um material especial para aplicações médicas, porque ser biodegradável, bioabsorvível e os possíveis produtos de degradação não serem tóxicos. A gelatina tem sido utilizada como agente estabilizador em nanocompósitos, conferindo estabilidade para as nanopartículas metálicas contra processos como a oxidação, aglomeração e precipitação. Na síntese do bionanocompósito a gelatina atuou como agente estabilizador, ao ligar os íons Ag^+ em sua matriz polimérica e formar um complexo estável, como pode ser observado na figura 5.

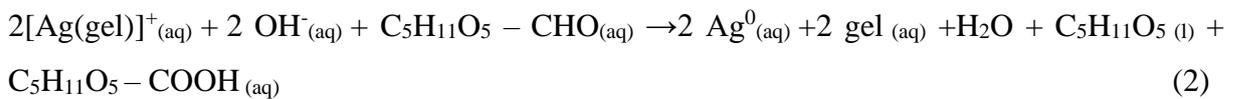
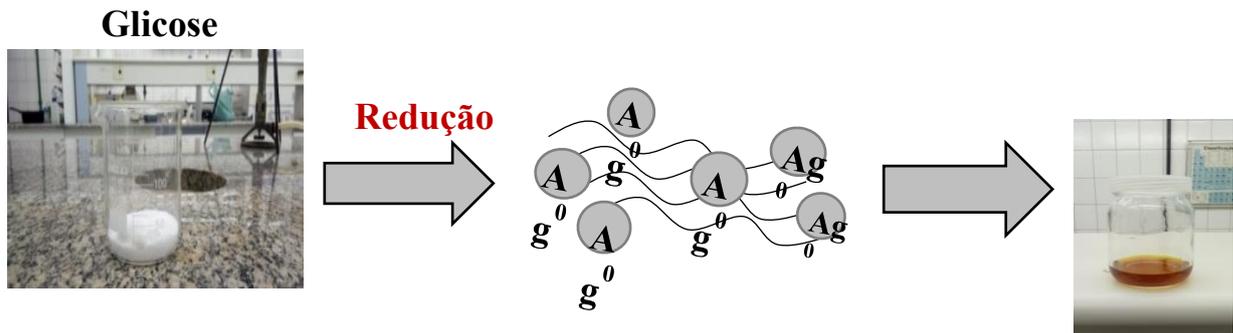
Figura 5: Processo de Estabilização dos Íons Ag^+ na Matriz Polimérica da Gelatina.



Fonte: AUTORES, 2017.

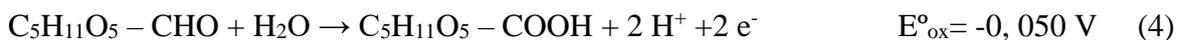
A adição da solução de glicose à solução de nitrato de prata promoveu a redução dos íons Ag^+ a Ag^0 , alterando a coloração da solução para amarelo escuro, um indício da formação das nanopartículas de prata. O complexo $[\text{Ag}(\text{gel})]^+_{(\text{aq})}$ reagiu com as hidroxilas (OH^-), oxidou a glicose à ácido glucônico, reduziu os íons prata e conduziu à formação das *NPsAg*, conforme mostrado na figura 6 (LOPES, 2017).

Figura 6: Processo de redução dos íons Ag^+ pela glicose na solução de gelatina e formação das NPsAg .



Fonte: AUTORES, 2017.

As equações que levam à formação das NPsAg são mostradas nas equações 3 (semirreação de redução), 4 (semirreação de oxidação) e 5 (equação global). O potencial padrão calculado da equação global é 0,750V. Portanto, a reação tem Energia Livre de Gibbs negativa ($\Delta G < 0$) e as nanopartículas de prata foram formadas em um processo termodinamicamente espontâneo.



A redução dos íons Ag^+ a Ag^0 ocorreu no início da reação. Em seguida, ocorreu a agregação e formação de *clusters oligoméricos*. Estes clusters levaram à formação de partículas coloidais de Ag^0 .

Os íons hidroxila presentes na reação foram importantes para acelerar a síntese das nanopartículas metálicas, determinando as dimensões das partículas formadas (LOPES, 2017). A gelatina não protege as NPsAg apenas da agregação, mas também desempenham um papel crucial na morfologia, tamanho e biocompatibilidade das nanopartículas. Portanto, a gelatina

foi utilizada não apenas como um estabilizador para as *NPsAg* sintetizadas, mas também pode modificar o crescimento das *NPsAg* através da sua forte interação com a superfície das nanopartículas no início da sua formação. Os íons hidroxila tiveram a função principal de acelerar a síntese das nanopartículas metálicas, porém podem também determinar o tamanho das partículas formadas.

3.2 Caracterização do *Bionanocompósito NPsAg/Gelatina* por Espectrofotometria Ultravioleta -Visível (UV-Vis)

A solução aquosa de gelatina/*NPsAg* apresentou mudança na sua coloração, inicialmente incolor, para castanho claro e, ao final da reação marrom escuro. A mudança de cor é um forte indício da formação das nanopartículas de prata (LOPES, 2017). Na figura 7 é mostrada a mudança de cor decorrente da formação do *bionanocompósito NPsAg/Gelatina*.

Figura 7: Alteração da cor da solução evidenciando a formação das *NPsAg* em solução aquosa de gelatina.



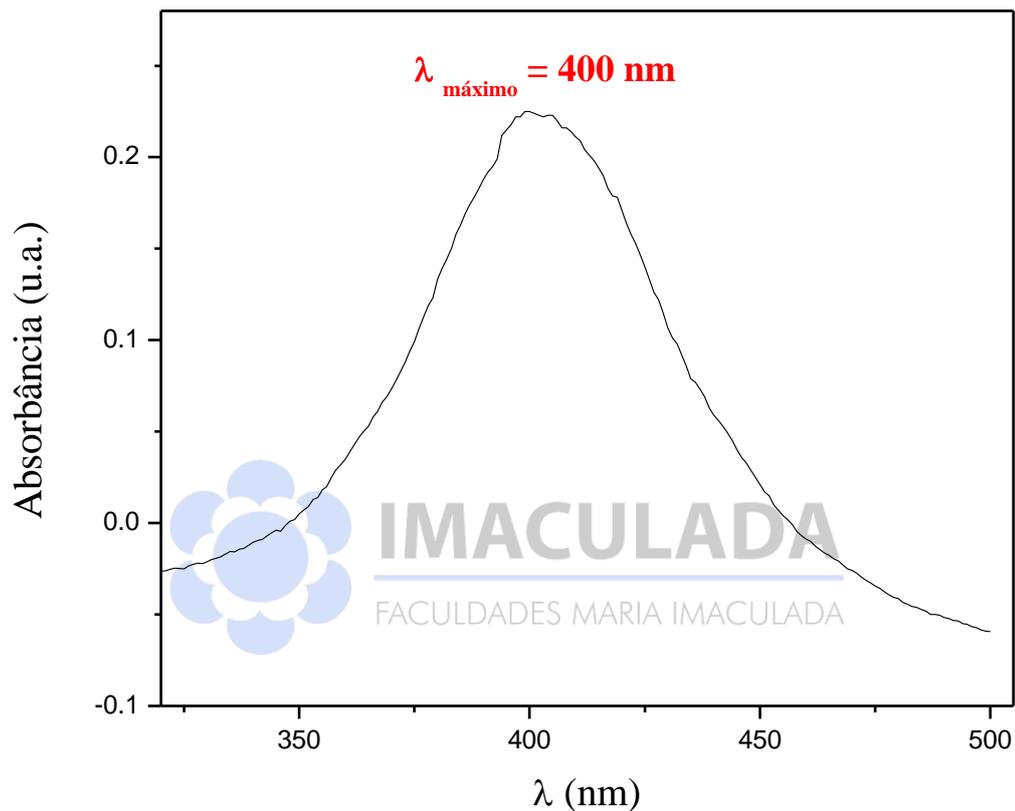
Fonte: AUTORES, 2017.

O método espectroscopia por UV-vis apresenta-se como uma técnica analítica eficiente para a caracterização das nanopartículas metálicas. As *NPsAg* apresentam uma banda característica de absorção, a ressonância de plasma de superfície localizada (*Localized Surface Plasmon Resonance – LSPR*) na região de 400 nm do espectro UV-visível. Esta banda é atribuída à densidade eletrônica de superfície (banda plasmon). A banda LSPR é resultante dos elétrons livres na banda de condução das partículas metálicas com tamanho pequeno. O perfil da banda plasmon dependeu do ambiente químico proporcionado pela gelatina e pelos íons hidroxila, das *NPsAg* adsorvidas na superfície da gelatina e do tamanho das *NPsAg* formadas.

Após o processo dissolução da gelatina, a amostra apresentou uma coloração amarelada, devido às partículas coloidais que possuem dimensões muito pequenas em relação ao comprimento de onda da luz visível. A absorção máxima em 403 nm está de acordo com a

Teoria de Mie, que estabelece absorções máximas entre 380 e 420 nm (LOPES, 2017). A absorção máxima em 403 nm confirma a formação das NPsAg na solução aquosa de gelatina. A figura 8 mostra o espectro de absorção UV-vis do *bionanocompósito NPsAg/ gelatina*.

Figura 8: Espectro de absorção UV-Vis do *bionanocompósito NPsAg/ gelatina*.



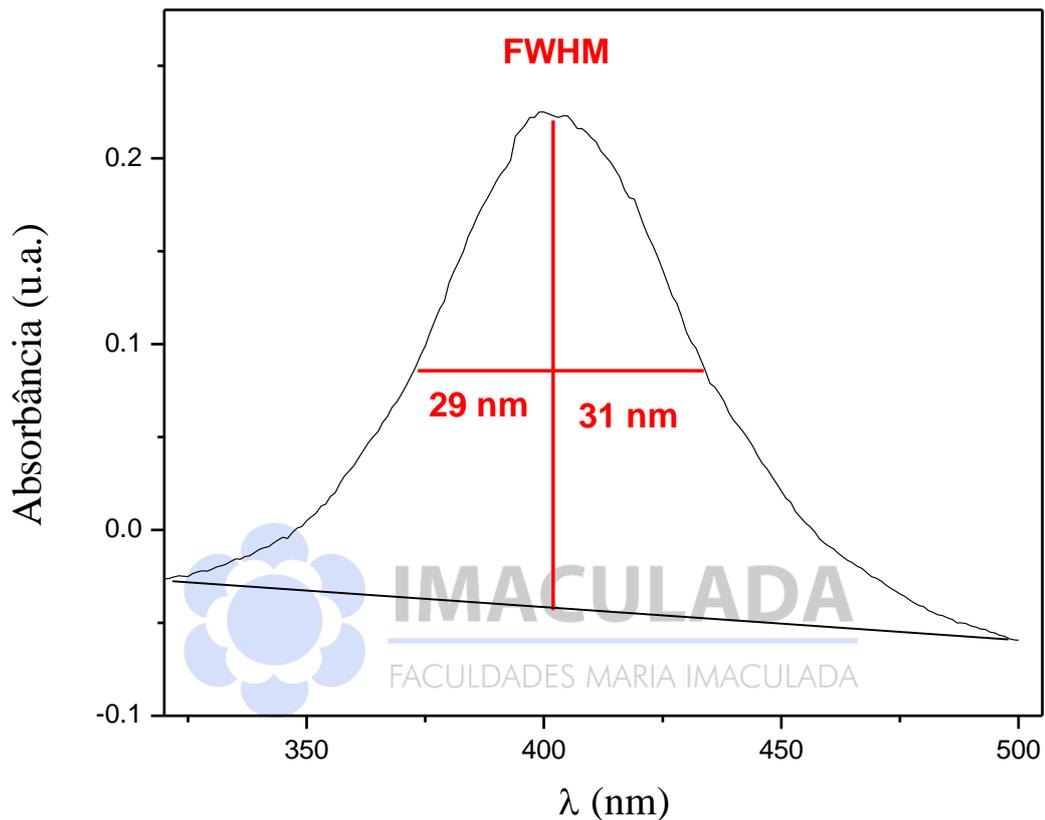
Fonte: AUTORES, 2017.

A solução aquosa das NPsAg apresentou uma banda de absorção próximo a 400nm. A absorção nesse comprimento de onda é característica de nanopartículas metálicas com morfologia esféricas, que possuem plasmon de superfície nessa região do espectro. O espectro da solução diluída apresenta características espectrais (forma, alargamento de banda) iguais ao espectro das soluções mais concentradas, o que indica a estabilidade da solução “estoque” (LOPES, 2017). Isso mostra que as NPsAg não sofreram dimerização ou aglomeração de várias partículas, o que ocasionaria em uma banda plasmon $\sim 391 \text{ nm}$ decorrente desses processos.

A comprovação da morfologia das NPsAg foi efetuada pelo cálculo de largura à meia altura (*FWHM – Full Width at Half Maximum*) no espectro de absorção do bionanocompósito.

Os valores de largura de 29 nm e 31 nm quase simétricos, mostrados na figura 9, indicam que as *NPsAg* apresentam formatos esféricos e superfícies regulares.

Figura 9: Cálculo da largura a meia altura (*FWHM – Full Width at Half Maximum*) efetuado no espectro UV-Vis do *bionanocompósito Gelatina/NPsAg*.



Fonte: AUTORES, 2017.

3.3 Caracterização do *Bionanocompósito NPsAg/Gelatina* por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Potencial Zeta.

A estabilidade e o tamanho das *NPsAg* coloidais sintetizadas foram avaliados por medidas de Espalhamento de Luz Dinâmico (*DLS – Dynamic Light Scattering*).

Os resultados de Diâmetro Hidrodinâmico, Índice de Polidispersidade e Potencial Zeta das soluções aquosas de Gelatina/NaOH/Glicose (**GNG**), Gelatina (**G**) e nanopartículas de prata/Gelatina (**NPsAg/G**) são mostrados na tabela 1.

Tabela 1: Diâmetro Hidrodinâmico (D), Índice de Polidispersidade (IP) Potencial Zeta (ζ) e o Desvio Padrão (*SD* – *STANDARD DESVIATION*) das soluções de Gelatina/NaOH/Glicose, (Gelatina) e Gelatina/ Nanopartículas de Prata.

Amostras	D (nm \pm SD)	IP	ζ (mV \pm SD)
GNG	62,05 \pm 6,00	1,000 \pm 0,000	- 28,80 \pm 3,20
G	40,92 \pm 2,10	0,560 \pm 0,050	- 5,15 \pm 1,46
NPsAg/G	102,59 \pm 6,35	0,484 \pm 0,025	- 31,30 \pm 0,60

Fonte: AUTORES, 2017.

Os valores de diâmetro hidrodinâmico mostrados na tabela 1 são dependentes da glicose e da gelatina. Os resultados mostram o diâmetro hidrodinâmico para as NPsAg/Gelatina é maior que o da gelatina, indicando que as nanopartículas de prata foram formadas e adsorveram na superfície da gelatina, em estruturas maiores que a gelatina individual.

O índice de polidispersidade (IP) é um parâmetro para averiguar a distribuição de tamanho das nanopartículas. Um valor de índice de polidispersidade maior que 0,7 significa uma alta distribuição de tamanho de partícula. Para o sistema Gelatina/NaOH/Glicose a polidispersidade foi muito elevada, indicando não homogeneidade das nanopartículas. A gelatina em solução aquosa apresentou um valor de IP em torno de 0,5. Essas partículas são mais homogêneas, porém não totalmente, o que é esperado para uma amostra comercial que não foi purificada. O bionanocompósito NPsAg/Gelatina apresentou menor IP, indicando nanopartículas com maior homogeneidade, concordando o valor de FWHM efetuado a partir do espectro de absorção UV-Vis. No espectro de UV-Vis foi observado que as NPsAg apresentam superfícies regulares e distribuição de tamanho de partícula dentro de uma faixa estreita de valores.

O Potencial Zeta (ζ) foi utilizado para avaliar a estabilidade das nanopartículas. As medidas de Potencial Zeta (*ZP – Zeta Potencial*) foram efetuadas por espalhamento de luz eletroforético (*ELS – Electrophoretic Light Scattering*).

O Potencial Zeta se correlaciona com a repulsão eletrostática entre as partículas e com a estabilidade dos sistemas coloidais e, quanto maior o valor do ζ , mais estável será o coloide. Quando o valor do Potencial Zeta for menor que - 30 mV ou maior igual a 30 mV, a partícula será estável (DUMAN; TUNÇ, 2009).

O menor valor de Potencial Zeta foi observado para a dispersão coloidal de gelatina em água. A baixa estabilidade da gelatina na água pode estar relacionada com o excesso de cargas presentes nos aminoácidos, que provocou a formação de agregados.

O sistema Gelatina/NaOH/Glicose apresentou um valor baixo de Potencial Zeta. O NaOH é um eletrólito forte, estava em excesso na solução e, por isso a sua presença provocou a diminuição do Potencial Zeta abaixo do ponto crítico. Essa diminuição deveria promover a agregação das partículas. Porém o NaOH atuou nos grupamentos ácidos da gelatina, desprotonou-os e aumentou as cargas (carga líquida negativa) e a estabilidade das partículas na dispersão coloidal.

O bionanocompósito *NPsAg*/Gelatina apresentou o valor de Potencial Zeta mais negativo. Isso significa que este bionanocompósito é o sistema mais estável dentre os estudados. A adição da gelatina como agente estabilizante protegeu as *NPsAg* (estabilização estérica) e aumentou a sua estabilidade em água. A estabilidade das *NPsAg* em solução aquosa ocorre porque a macromolécula adsorve sobre a superfície das nanopartículas formadas e proporciona a repulsão estérica.

3.4 Formação do Bionanocompósito Fibroína/NPsAg/Gelatina

A fibroína-da-seda possui propriedades interessantes para serem empregadas à formação de biomateriais, pois confere propriedades interessantes ao biomaterial, por exemplo, biodegradabilidade, além de ser um recurso rentável e que inibi a utilização de reagentes com efeitos nocivos ao meio ambiente.

Na preparação do bionanocompósito, a estrutura da fibroína serviu como matriz que ao interagir com a solução aquosa Gelatina/*NPsAg*, dispersou as nanopartículas de prata em toda sua estrutura, formando o bionanocompósito Fibroína/*NPsAg*/Gelatina (TAO,2017). As propriedades deste biomaterial formado são em decorrência ao seu potencial biológico. Na figura 10 é evidenciado a formação do bionanocompósito Fibroína/*NPsAg*/Gelatina.

Figura 10: Formação do bionanocompósito Fibroína/*NPsAg*/Gelatina.



Fonte: AUTORES, 2017.

4 CONCLUSÃO

Um bionanocompósito Gelatina/*NPsAg* foi preparado por um método que utiliza a síntese verde, sem a necessidade da utilização de agentes de redução (ácido L-ascórbico, boroidreto e hidrazina) ou tensoativos, como normalmente é efetuada em sínteses coloidais.

As *NPsAg* foram sintetizadas via química verde pela redução de AgNO_3 com glicose. A gelatina atuou como um excelente agente estabilizador das nanopartículas metálicas. Esta constatação é comprovada pelo fato das dispersões coloidais das *NPsAg* modificadas com a gelatina permanecerem estáveis por um período de 4 meses. A espectroscopia UV-Vis mostrou uma banda *plasmon* característica em 400 nm para as *NPsAg* na matriz de gelatina. A absorção nesse comprimento de onda é característica de nanopartículas metálicas com morfologia esféricas, que possuem plasmon de superfície nessa região do espectro. A comprovação da morfologia das *NPsAg* foi efetuada pelo cálculo de largura à meia altura (***FWHM – Full Width at Half Maximum***) do bionanocompósito. Os valores de largura de 29 nm e 31 nm, quase simétricos, indicam que as *NPsAg* apresentam formatos esféricos e superfícies regulares.

O menor valor de Potencial Zeta foi observado para a dispersão coloidal de gelatina em água. O sistema Gelatina/NaOH/Glicose apresentou um valor baixo de Potencial Zeta. O NaOH atuou nos grupamentos ácidos da gelatina, desprotonou-os e aumentou as cargas (carga líquida negativa) e a estabilidade das partículas na dispersão coloidal. O bionanocompósito

NPsAg/Gelatina apresentou o valor de Potencial Zeta mais negativo. Isso significa que este bionanocompósito é o sistema mais estável dentre os estudados. A adição da gelatina como agente estabilizante protegeu as *NPsAg* (estabilização estérica) e aumentou a sua estabilidade em água.

Um filme utilizando o biopolímero fibroína se mostrou interessante para a formação do bionanocompósito Fibroína/*NPsAg*/Gelatina. Isso foi alcançado devido à sua matriz que permitiu a dispersão das *NPsAg* em toda sua estrutura formando um biomaterial com potenciais aplicações biológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, T. F.; BARBANTI, C. B. **Síntese de nanopartículas de prata (NPsAg) a partir de extratos vegetais das cascas de laranja (citrus sinensis) e tangerina (citrus reticulada)**. 2015. 23 f. Monografia (Graduação em Química Industrial) – Faculdades Integradas Maria Imaculada- FIMI, Mogi Guaçu, 2015.

ANNABI, N.; et al. Rational Design and Applications of Hydrogels in Medicine Regenerative. **Advanced Materials**, Cambridge, v. 26, n. 1, p. 85-124, 2014.

BASTOS, R. M. d. P. **Nanotecnologia: uma revolução no desenvolvimento de novos produtos**. 2006. 35 f. Monografia (Graduação em engenharia produção) - Universidade Federal De Juiz De Fora, Juiz de Fora, 2006.

BROCKMAN, J. M.; et al. Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of Ultrathin Organic Films. **Annual Review Physical Chemistry**, Madison, v. 51, p. 41-63, 2000.

CASANOVA, M. C. R. **Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em ciências) – Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2010.

CONSOLINI, G. **Síntese e atividade microbiana de nanopartículas metálicas**. 2015. 23 f. Monografia (graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas / MG, 2015.

DARDER, M.; ARANDA, P.; RUIZ-HITZKY, E. Bionanocomposites: A new concept of ecological, bioinspired, and functional hybrid materials. **Advanced Materials**, v. 19, p. 1309-1319, 2007.

DUMAN, O. TUNÇ, S. Electrokinetic and rheological properties of Na-bentonite in some electrolyte solutions. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 117, p. 331-338, 2009.

ESTEVEES, A. C. C.; et al. Nanocompósitos de Matriz Polimérica: Estratégias de Síntese de Materiais Híbridos. *Química Nova*, São Paulo, v. 27, n.5, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n5/a20v27n5.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2017.

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; MONTERO, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatina from alternative sources: a review. *Food Hydrocolloids*, p. 1813-1827, 2011.

GOMEZ-ROMERO, P. Hybrid organic-inorganic materials - In search of synergic activity. *Advanced Materials*, v.13, n. 3, p. 163-174, 2001.

HABIBI, Y.; LUCIA, L.A.; ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, v. 110, p. 3479-3500, 2010.

HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 71, p. 94-102, 2014.

HARDY, J.G.; RÖMER, L.M.; SCHEIBEL, T. R. Polymeric Materials Based on Silk Proteins. *Polymer*, Bayreuth, v. 49, n. p. 4309-4327, 2008.

HORIKOSHI, S.; SERPONE, N. Introduction to Nanoparticles. In: HORIKOSHI, S.; SERPONE, N. (Ed.). **Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications**. Wiley Online Library, 2013, p. 1-24. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9783527648122>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

JORGE, M. F. C. **Caracterização de filmes nanocompósitos biodegradáveis a base de gelatina produzidos com um aplicador automático de filmes**. 2012. 159 f. Tese (Doutorado em zootecnia) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

KIM, U.J.; PARK, J.; KIM, H. J.; WADA, M.; KAPLAN, D. L. Three-dimensional aqueous-derived biomaterial scaffolds from silk fibroin. *Biomaterials*, v. 26, p. 2775-2785, 2005.

KUNDU, B.; RAJKHOWA, R.; KUNDU, S. C.; WANG, X. Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 65, p. 457-470, 2013.

LENARDÃO, E. J.; et al. “Green Chemistry” – Os 12 Princípios da Química Verde e Sua Inserção nas Atividades de Ensino e Pesquisa. *Química Nova*, São Paulo, v. 26, n.1, p. 123-129, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422003000100020>. Acesso em: 10 mar. 2017.

LIU, T.B.; BURGER, C.; CHU, B. Nanofabrication in polymer matrices. *Progress Polymer Science*, v. 28, p. 5-26, 2003.

LOPES, J. R. **Síntese de nanopartículas de prata (NPsAg) em soluções aquosas de fibroína de seda e gelatina**. 2017. 107 f. Dissertação (Mestrado em engenharia mecânica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.

MANEERUNG, T.; TOKURA, S; RUJIRAVANIT, R. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. **Carbohydrate Polymer**, v. 72, p. 43-51, 2008.

NOWACK, B.; KRUG, H. F.; HEIGHT, M. 120 Years of Nanosilver History: Implications for Policy Makers. **Environmental Science & Technology**, v. 45, p. 1177-1183, 2011.

PAN, H.; et al. significantly reinforced composite fibers electros from silk fibroin/carbon nanotubes aqueous solutions. **Biomacromolecules**, v. 13, p. 2859-2867, 2012.

PAUL, D. R.; ROBENSON, L. M. Polymer nanotechnology: Nanocomposites. **Polymer**, Austin, v.49, n. 15, p. 3187-3204, 2008.

POMOGAILO, A.D.; KESTELMAN, V.N. Metallopolymer Nanocomposites. In: HULL, R. et al. (Ed.), **Springer Series in Materials Science**. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2005, p.133-141; p. 375-383, 2005.

PRADO, J. D. C.S. **Nanopartículas de Prata: Biossíntese, Investigação das Atividades Antibacteriana, Antifúngica e Citotoxicidade**. 2014. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da nutrição e do esporte e metabolismo) – Universidade estadual de Campinas, Limeira, 2014.

RAI, M. Nanotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como Nanoantimicrobianos. Tradução Germana Barata e Diego Stéfani. São Paulo: **Cienc. Cult**, Amravati, v. 65, n.3, p. 44 – 48, 2013.

REIDY, B.; et al. Mechanisms of Silver Nanoparticle Release, Transformation and Toxicity: A Critical Review of Current Knowledge and Recommendations for Future Studies and Applications. **Materials**, cidade, v. 6, p. 2295-2350, 2013.

ROCKWOOD, D. N.; et al. Materials Fabrication from Bombyx Mori Silk Fibroin. **Nature America, Inc. All rights reserved**, Massachusetts, v.6, n. 10, p. 1613-1631, 2011.

SANTOS, J. F. L; et al. Ressonância de Plasmon de Superfície Localizado e Aplicação em Biossensores e Células Solares. *Química Nova*, Porto Alegre-RS, v. 39, n. 9, p.1098-1111, 2016. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=6482>. Acesso em: 25 mar. 2017.

SANCHES, C.; ARRIBART, H.; GUILLE, M.M.G. Biomimetism and bioinspiration as tools for the design of innovative materials and systems. **Nature Materials**, v. 4, p. 277-288, 2005.

SASHINA, E. S.; DUBKOVA, O. I.; NOVOSELOV, N. P.; GORALSKY, J. J.; SZYNKOWSKA, M.I.; LESNIEWSKA, E.; MANIUKIEWICZ, W.; STROBIN, G. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 82, p. 974-980, 2009.

SUSHKO, M.L.; SHLUGER, A.L. DLVO theory for like-charged polyelectrolyte and surfactant interactions. **Materials Science and Engineering**, London, v. 27, p. 1090-1095, 2007.

TAO, G.; et al. Biosynthesis and Characterization of AgNPs-Silk/PVA Film for Potential Packaging Application. **Materials**, Chongqing, v.10, n. 667, p.1-13, 2017. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5554048/>>. Acesso em: 29 out. 2017.

UTTAYARAT, P; et al. Antimicrobial electrospun silk fibroin mats with silver nanoparticles for wound dressing application. **Fibers and Polymer**, Bangkok, v. 13, n. 8, p. 999-1006, 2012.

VARNER, K. U.S. Environmental Protection Agency Office of Research and Development. **State of the science literature review: everything nanosilver and more. Scientific, technical, research, engineering and modeling support final report**. Washington (DC), 2010. Disponível em: <http://www.epa.gov/chemical-research/research-evaluating-nanomaterials-chemical-safety> . Acesso em: 10 jun. 2017.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine Drugs**, Sfax, v. 13, p. 1133-1174, 2015.

