



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

PALOMA LIMA DA SILVA

**NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA UTILIZAÇÃO COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EM
BLENDAS DE AMIDO E POLI (ÁLCOOL VINÍLICO)**

FORTALEZA-CE
2016

PALOMA LIMA DA SILVA

NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA UTILIZAÇÃO COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EM
BLENDAS DE AMIDO E POLI (ÁLCOOL VINÍLICO)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como pré-requisito para obtenção do grau de Doutor em Química. Área de concentração: Química

Orientador: Prof. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo
Coorientador: Dra. Anida Maria Moraes Gomes

FORTALEZA-CE
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S582n Silva, Paloma Lima da.

Nanopartículas de prata para utilização como agente antimicrobiano em blendas de amido e poli (álcool vinílico) / Paloma Lima da Silva. – 2016.
120 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2016.

Orientação: Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.

Coorientação: Profa. Dra. Anida Maria Moraes Gomes.

1. Nanopartícula. 2. Quitosana. 3. Membranas. 4. Atividade antimicrobiana. I. Título.

CDD 540

PALOMA LIMA DA SILVA

NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA UTILIZAÇÃO COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EM
BLENDAS DE AMIDO E POLI (ÁLCOOL VINÍLICO)

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal do
Ceará, como pré-requisito para
obtenção do grau de Doutor em
Química. Área de concentração:
Química

Aprovada em 27 / 07 / 2016

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo (Orientadora)
UFC

Dra. Anida Maria Moraes Gomes
(Coorientadora)

Prof. Dra. Francisca Maria Martins Pereira
UFCA

Prof^a Dra. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha
UFC

Prof^a. Dra. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro
UFC

Prof^a. Dra. Cristiane Pinto Oliveira
UFC

Ao Deus todo poderoso digno de honra e glória eternamente, “porque dele, por ele, e para ele são todas as coisas” Rm 11: 36

AGRADECIMENTOS

A Deus, onipotente, onipresente e onisciente que, por meio do seu amor incondicional, me concedeu força, fé e sabedoria para que eu pudesse concluir este trabalho. Ao Senhor Deus, toda honra, glória e louvor!!!

Aos meus pais, Egídio e Lourdes, pelo exemplo de vida sempre buscando superar as dificuldades e desafios e por me incentivar em todos os momentos. Obrigada por tudo !!!

Aos meus irmãos Tatiana, Pamela e Júnior e aos meus sobrinhos Kaio, Bruna, Clara Maria de Fátima e Maria Fernanda pelos momentos de alegria e apoio em meio às lutas os quais mostraram a importância e o valor de cada um em minha vida.

À professora Nágila Maria Pontes Silva Ricardo, pela orientação e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Anida Maria Moraes Gomes, coorientadora, amiga, irmã em Cristo e exemplo de pesquisadora que me fez crescer e aprender sobre o valor de um trabalho científico. Que Deus esteja sempre iluminando o seu caminho e a recompense grandemente. Muito obrigada !!!

Ao professor Josué Mendes da Silva, do Departamento de Física da UFC, por permitir a realização da maior parte dos experimentos contidos no referido trabalho.

À Francisca Maria Martins Pereira, amiga e irmã em Cristo que sempre esteve presente e pronta para ajudar em todos os momentos. Muito obrigada !!!

À pesquisadora Terezinha Feitosa Machado, à funcionária Régia e aos bolsistas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Embrapa Agroindústria pela preciosa ajuda na realização dos testes antimicrobianos.

À Central Analítica da UFC, pela realização das análises de microscopia eletrônica de varredura.

À Coordenação de Química Inorgânica, aos secretários Orlando e Célia, pela atenção e boa vontade.

Ao Laboratório de Termoanálise do Departamento da Física pelas análises de DSC e TG.

À Tatiana de Oliveira Lemos e Germânia Bezerra, pela amizade e disponibilidade em ajudar.

Ao CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada !!!

*“O temor do Senhor é o princípio da
sabedoria” Provérbios 1:7*

RESUMO

As nanopartículas constituem-se em uma área de crescente interesse da nanociência e nanotecnologia, pois apresentam propriedades únicas como boa condutividade, ressonância plasmônica de superfície, elevado efeito catalítico, maior área superficial e excelente atividade antimicrobiana. Vários estudos têm sido realizados com a finalidade de sintetizar nanopartículas utilizando produtos químicos não tóxicos, solventes ambientalmente benignos e materiais renováveis. Os objetivos deste trabalho foram a obtenção de nanopartículas de prata (Ag-NPT) utilizando amido de mandioca e quitosana como agentes redutores e estabilizantes e incorporá-las em membranas de amido/álcool polivinílico (PVA). As propriedades físico-químicas e morfológicas das nanopartículas e das membranas foram determinadas, assim como sua atividade antimicrobiana contra cepas de bactérias e fungos. A formação das nanopartículas foi confirmada pela presença da banda plasmônica de superfície observada no espectro UV-visível. A nanopartícula de prata com quitosana (Ag-NC) apresentou maior estabilidade em solução e uma estrutura mais cristalina que a amostra com amido (Ag-NS). A mudança na frequência e forma das principais bandas de vibração observada nos espectros de infravermelho confirmou a interação da prata com os grupos redutores presentes na estrutura da quitosana e do amido. As análises de microscopia e EDS permitiram observar a presença, morfologia e concentração aparente de prata tanto nas nanopartículas quanto nas membranas. As micrografias das nanopartículas de prata incorporadas nas membranas mostraram que a prata encontrou-se bem distribuída nas mesmas. O padrão cristalino dos filmes aumentou com a adição de nanopartículas. Tanto as nanopartículas como as membranas apresentaram atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos sendo que os melhores resultados foram obtidos quando se adicionou a nanopartícula Ag-NC. Esses resultados permitem sugerir uma potencial utilização das nanopartículas de prata em matrizes poliméricas para obtenção de curativos que inibam a proliferação desses microorganismos em infecções.

Palavras-chave: nanopartícula, quitosana, membranas, atividade antimicrobiana

ABSTRACT

Nanoparticles are in an area of growing interest of nanoscience and nanotechnology, since they have unique properties as good conductivity, surface plasmon resonance, high catalytic effect, higher surface area and excellent antimicrobial activity. Several studies have been conducted with the purpose of synthesizing nanoparticles using non-toxic chemicals, environmentally benign solvents and renewable materials. The aims of this study were to obtain silver nanoparticles (Ag-NPT) using cassava starch and chitosan as reducing and stabilizing agents and incorporate them into membranes of starch /polyvinyl alcohol (PVA) blends. The physicochemical and morphological properties of nanoparticles and membranes were determined as well as their antimicrobial activity against strains of bacteria and fungi. The formation of nanoparticles was confirmed by the presence of surface plasmon band observed in the UV-visible spectrum. The silver nanoparticle with chitosan (Ag-NC) showed the greatest stability in solution and a more crystalline structure than the sample with starch (Ag-NS). The change in frequency and shape of the main vibration bands observed in the infrared spectra confirmed the interaction of silver with reducing groups present in the structure of chitosan and starch. The microscopy and EDS analyzes have allowed observing the presence, morphology and concentration of the silver nanoparticles as well as of the membranes. The micrographs of silver nanoparticles embedded in the membranes showed that silver was found evenly distributed in the same. The crystalline pattern of films increased with the addition of nanoparticles. Both nanoparticles and membranes showed antimicrobial activity against bacteria and fungi and the best results were obtained when the Ag-NC nanoparticle was added in the membrane. These results suggest a possible use of silver nanoparticles in polymer matrices to obtain dressings that inhibit the proliferation of these microorganisms in infections.

Keywords: nanoparticles; chitosan, membranes; antimicrobial activity

LISTA DE TABELAS

		p.
TABELA 1	Composição das membranas de amido, PVA e nanopartículas de prata com quitosana (Ag-NS) e amido (Ag-NC).....	60
TABELA 2	Valores obtidos para o Potencial Zeta das nanopartículas Ag-NS e Ag-NC.....	65
TABELA 3	Atribuições das principais bandas dos espectros de infravermelho da quitosana, amido e das nanopartículas Ag-NC e Ag-NS.....	73
TABELA 4	Parâmetros de DSC das membranas SNS.....	81
TABELA 5	Parâmetros de DSC das membranas SNC.....	81
TABELA 6	Parâmetros de TG das membranas SNS.....	85
TABELA 7	Parâmetros de TG das membranas SNC.....	85
TABELA 8	Atribuições das principais bandas dos espectros de infravermelho das blendas SNC e SNS.....	91
TABELA 9	Diâmetro dos halos de inibição dos filmes e suspensões das nanopartículas Ag-NC e Ag-NS.....	96
TABELA 10	Diâmetro dos halos de inibição das nanopartículas Ag-NC e Ag-NS e membranas SNC e SNS.....	97

LISTA DE FIGURAS

		p.
FIGURA 1	Efeito da banda plasmônica de ressonância (esquerda) e imagem de MEV de nanopartículas (direita) (SIGMA-ALDRICH, 2016).....	25
FIGURA 2	Rotas de obtenção de nanopartículas via Top down e Bottom up (GORUP, 2010).....	27
FIGURA 3	Porcentagem de átomos na superfície com o aumento do tamanho da partícula.....	31
FIGURA 4	Redução da energia livre de Gibbs total de uma solução supersaturada.....	33
FIGURA 5	Mecanismo de formação de nanopartículas baseado no modelo de LaMer e Dinegar (TARTAJ et al., 2003).....	34
FIGURA 6	Etapas de nucleação e crescimento durante a formação de nanopartículas (MURRAY, KAGAN & BAWEND, 2000).....	35
FIGURA 7	Mecanismos de estabilização de nanopartículas em solução coloidal (a) eletrostática e (b) estérica (OLIVEIRA, 2005).....	38
FIGURA 8	Espectros de nanopartículas de prata com diâmetros variando de 10-100 nm em concentrações de 0,02mg/mL (SIGMA-ALDRICH, 2016).....	40
FIGURA 9	Esquema de formação de nanopartículas de prata (PATAKFALVI et al., 2005).....	46
FIGURA 10	Mecanismos associados com o comportamento antimicrobiano de nanopartículas metálicas: (1) "efeito Cavalo de Tróia" devido a processos de endocitose; (2) ligação à superfície da membrana; (3) formação de radical catalisado; e (4) a liberação dos íons metálicos (PALZA, 2015).....	49
FIGURA 11	Estrutura da quitosana.....	51
FIGURA 12	Estrutura da amilose (a) e da amilopectina (b).....	53
FIGURA 13	Determinação do halo de inibição de crescimento microbiano.....	62
FIGURA 14	Espectros UV-visível e aparência das suspensões das nanopartículas Ag-NS e Ag-NC.....	63
FIGURA 15	Potencial Zeta das nanopartículas Ag-NS (a) e Ag-NC (b).....	65
FIGURA 16	Termogramas de DSC das nanopartículas Ag-NC (esquerda)e Ag-NS (direita) obtidos sob fluxo de N ₂ (50 ml/min) a uma taxa de aquecimento	

	de 10 °C /min e faixa de temperatura de 25-400 °C.....	67
FIGURA 17	Termogramas TG (linha sólida) e DTG (linha tracejada) da nanopartícula Ag-NS obtidos sob fluxo de N ₂ (20 ml/min) a uma taxa de aquecimento de 10 °C /min e faixa de temperatura de 25-400 °C.....	68
FIGURA 18	Termogramas TG (linha sólida) e DTG (linha tracejada) da nanopartícula Ag-NC obtidos sob fluxo de N ₂ (20 ml/min) a uma taxa de aquecimento de 10 °C /min e faixa de temperatura de 25-400 °C.....	69
FIGURA 19	Difratogramas de raios-x da quitosana, amido e nanopartículas Ag-NS e Ag-NC.....	71
FIGURA 20	Espectros na região do infravermelho (100-2000 cm ⁻¹) das nanopartículas Ag-NS e Ag-NC.....	72
FIGURA 21	Espectros Raman das nanopartículas Ag-NS e Ag-NC e seus agentes redutores.....	74
FIGURA 22	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) das nanopartículas de prata Ag-NC (a) e Ag-NS (b).....	76
FIGURA 23	Mapa da prata (Ag) (a) e do C (b) das imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da nanopartícula de prata Ag-NC.....	77
FIGURA 24	Resultado da análise de EDS das nanopartículas de prata Ag-NC e Ag-NS....	78
FIGURA 25	Termogramas de DSC das membranas SNS obtidos sob fluxo de N ₂ (50 ml/min) a uma taxa de aquecimento de 10 °C /min e faixa de temperatura de 25-300 °C.....	78
FIGURA 26	Termogramas de DSC das membranas SNC obtidos sob fluxo de N ₂ (50 ml/min) a uma taxa de aquecimento de 10 °C /min e faixa de temperatura de 25-300 °C.....	80
FIGURA 27	Termogramas TG (linha contínua) e DTG (linha tracejada) das membranas SNS obtidos sob fluxo de N ₂ (20 ml/min) a uma taxa de aquecimento de 10 °C /min e faixa de temperatura de 25-400 °C.....	83
FIGURA 28	Termogramas TG (linha contínua) e DTG (linha tracejada) das membranas SNC obtidos sob fluxo de N ₂ (20 ml/min) a uma taxa de aquecimento de 10 °C /min e faixa de temperatura de 25-400 °C.....	84
FIGURA 29	Difratogramas de raios-x das membranas SNS.....	86

FIGURA 30	Difratogramas de raios-x das membranas SNC.....	87
FIGURA 31	Espectros na região do infravermelho das membranas SNS entre 200 e 4000 cm^{-1}	89
FIGURA 32	Espectros na região do infravermelho das membranas SNC entre 200 e 4000 cm^{-1}	90
FIGURA 33	Imagem das amostras SNC 10 (a) e SNC20 (b) e SNS 10 (c) e SNS20 (d) observada em MEV-FEG, utilizando detector BSE (Back-Scattered Electron).....	92
FIGURA 34	Imagem das amostras SNC 30 (a) e SNS30 (b) observadas em MEV-FEG utilizando detector BSE (Back-Scattered Electron).....	93
FIGURA 35	Mapa da prata (Ag) das amostras SNC 20 (a) e SNC 30 (b) e Mapa do carbono (C) das amostras SNC 20 (c) e 30(d).....	94
FIGURA 36	Halos de inibição da nanopartícula Ag-NC e das membranas SNC.....	98
FIGURA 37	Halos de inibição da nanopartícula Ag-NS e das membranas SNS.....	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NPT	Nanopartícula
Ag-NPT	Nanopartícula de prata
Ag-NC	Nanopartícula de prata com quitosana
Ag-NS	Nanopartícula de prata com amido
CH	Quitosana
PVA	Álcool polivinílico
SNC	Membranas de amido/PVA/Ag-NC
SNS	Membranas de amido/PVA/Ag-NS
UV-visível	Ultravioleta-visível
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i>
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
FT-Raman	<i>Fourier Transform Raman</i>
MEV-FEG	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo

SUMÁRIO

	p.
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1 <i>Nanopartículas</i>	23
2.2 <i>Nanopartículas metálicas</i>	24
2.3 <i>Métodos de preparo de nanopartículas (NPT's)</i>	26
2.3.1 <i>Métodos físicos</i>	27
2.3.2 <i>Métodos químicos</i>	28
2.3.3 <i>Outros Métodos</i>	30
2.4 <i>Etapas de formação das nanopartículas por métodos da redução química...</i>	31
2.4.1 <i>Redução</i>	32
2.4.2 <i>Saturação e Nucleação</i>	32
2.4.3 <i>Crescimento</i>	35
2.4.4 <i>Estabilização</i>	36
2.5 <i>Caracterização das nanopartículas</i>	38
2.5.1 <i>Espectroscopia UV-visível</i>	39
2.5.2 <i>Espectroscopia de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	41
2.5.3 <i>Potencial Zeta</i>	41
2.5.4 <i>Difração de raios-x</i>	42
2.5.5 <i>Espalhamento dinâmico de luz (DLS)</i>	43
2.5.6 <i>Microscopia Eletrônica</i>	44
2.5.6.1 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	44
2.5.6.2 <i>Microscopia eletrônica de transmissão (MET)</i>	45
2.6 <i>Nanopartículas de prata (Ag-NPT's)</i>	45
2.6.1 <i>Aplicação das nanopartículas de prata</i>	47

2.6.2	<i>Síntese verde de nanopartículas de prata</i>	50
2.6.2.1	Polímeros naturais utilizados como agentes redutores e/ou estabilizantes na obtenção de nanopartículas de prata.....	50
2.6.2.2	Membranas poliméricas com Ag-NPT incorporadas com atividade antimicrobiana (curativos).....	54
3	OBJETIVOS	56
3.1	Gerais	56
3.2	Específicos	56
4	MATERIAIS E MÉTODOS	57
4.1	Matéria-prima	57
4.2	Reagentes e soluções	57
4.3	Extração do amido de mandioca	57
4.4	Metodologia	57
4.4.1	<i>Preparo das nanopartículas de prata (Ag-NPT)</i>	57
4.4.1.1	Nanopartículas de prata com amido (Ag-NS).....	57
4.4.1.2	Nanopartículas de prata com quitosana (Ag-NC).....	58
4.4.2	<i>Caracterização das nanopartículas de prata (Ag-NPT)</i>	58
4.4.2.2	Espectroscopia na região do UV-visível.....	58
4.4.2.1	Determinação do teor de prata (Ag) das nanopartículas	58
4.4.2.2	Espectroscopia na região do UV-visível.....	58
4.4.2.3	Determinação do Potencial Zeta.....	58
4.4.2.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	58
4.4.2.5	Análise Termogravimétrica (TGA).....	59
4.4.2.6	Difração de Raios-x.....	59
4.4.2.7	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR).....	59
4.4.2.8	Espectroscopia Raman (FT-Raman).....	59
4.4.2.9	Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG).....	59
4.4.3	<i>Preparo das membranas</i>	60
4.4.4	<i>Caracterização das membranas com nanopartículas de prata</i>	60
4.4.4.1	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	60
4.4.4.2	Difração de raios-x.....	60

4.4.4.3	Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (FTIR-ATR).....	61
4.4.4.4	Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG).....	61
4.4.4.5	Teste antimicrobiano.....	61
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
5.1	Caracterização das nanopartículas de prata (Ag-NPT's).....	63
5.1.1	Determinação do teor de prata (Ag) das nanopartículas.....	63
5.1.2	Espectroscopia na região do UV-visível.....	63
5.1.3	Potencial Zeta.....	64
5.1.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	65
5.1.5	Análise Termogravimétrica (TGA).....	67
5.1.6	Difração de Raios-x.....	70
5.1.7	Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).....	72
5.1.8	Espectroscopia Raman (FT-Raman).....	74
5.1.9	Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG).....	75
5.2	Caracterização das membranas com nanopartículas de prata.....	78
5.2.1	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	78
5.2.2	Análise Termogravimétrica (TGA).....	82
5.2.3	Difração de raios-x.....	85
5.2.4	Espectroscopia no Infravermelho (FTIR-ATR).....	87
5.2.5	Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG).....	92
5.2.6	Teste antimicrobiano.....	95
6	CONCLUSÕES.....	100
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101