

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA COMO AGENTES DE SUPERFÍCIE*

*Ingrid Russoni de Lima¹
Bonifácio de Oliveira Fialho²
Heleno Souza da Silva³
Anderson Virgílio⁴
Renata Antoum Simão⁵
José Adilson de Castro⁶
Gláucio Soares Fonseca⁷*

Resumo

O presente trabalho tem como objetivo sintetizar e caracterizar nanopartículas de prata AgNps com o intuito de promover o potencial bactericida da superfície de biomateriais. Considerando que AgNPs atuam como antibacterianos, antifúngicos e antivirais de superfície. Além disso, o espectro antibacteriano das AgNPs é mais amplo do que o dos antibióticos comuns. Como tal, as AgNPs representam uma nova geração de antimicrobianos, capazes de destruir bactérias Gram-positivas e Gram-negativas em especial quando associadas à superfície de biomateriais evitando assim os processos inflamatórios responsáveis pelo mecanismos de falhas nos enxertos de biomateriais e implantes. A partir desse fato, partimos para a síntese de nanopartículas de prata AgNPs usando uma metodologia inovadora com base na metodologia clássica com base na metodologia de Lee e Meisel (1982) seguindo a idéia de Turkevish. Na nossa metodologia proposta usamos o Nitrato de Prata (AgNO_3) como reagente precursor e citrato de sódio 1%*m/v* como agente redutor. As propriedades ópticas são mantidas estáveis quando acondicionadas em regime de protocolo estabelecido. Caracterizamos as nanopartículas por UV-Vis e por Metodologia de Espectroscopia Raman. Os resultados obtidos indicam que a faixa obtida do UV-Vis indicam a identificação das nanopartículas de prata presente como descrito na Literatura e análises do espectro de Raman confirma que foi possível obter as nanopartículas de prata pela metodologia de síntese desenvolvida neste trabalho.

Palavras-chave: Síntese de nanopartículas de prata (AgNPs); Método de Lee e Meisel; Método de redução do citrato.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SILVER NANOPARTICLES AS SURFACE AGENTS

Abstract

The present work as objective to synthesize and characterize nanoparticles of Silver AgNps with the objective of promoting or potential bactericidal surface of biomaterial. Whereas AgNPs have a function as antibacterial, antifungal and surface antiviral. Besides that, the AgNPs have a function as a representative antibacterial spectrum of AgNPs with large spectrum in comparison common antimicrobial agents. As such, AgNPs represents a new generation of antimicrobial agents, capable of destroying Gram-positive and Gram-negative bacteria especially when associated with biomaterial surfaces, avoiding the inflammatory processes responsible for the mechanisms of inflammatory lesions of biomaterials and implants. From this point on, we started to learn about AgNPs Silver nanoparticles using an innovative methodology based on classic methodology based on Lee e Meng's methodology. In our proposed methodology, we use Nitrate of Silver (AgNO_3) as a precursor reagent

for sodium citrate 1% m / v as a reductive agent. As optical properties are maintained when you are conditioned in the established protocol regime. We characterize nanoparticles by UV-Vis and by Raman Spectroscopy Methodology analysis. Obtained results indicate that a UV-Vis obtained indicates the nanoparticles of Silver present as described in the Literature of agreement with the Raman spectrum and AFM analysis

Keywords: Synthesis of Silver nanoparticles (AgNPs); Lee and Meisel method; citrate reduction method.

- ¹ *Dentista, Bióloga, Mestre em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Doutora em Patologia, Pós-Doutoranda em Engenharia Metalúrgica– PNPd/CAPES, PPGEM, UFF, Volta Redonda, RJ – Brasil*
- ² *Químico da Escola Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda, UFF, Volta Redonda, RJ-Brasil*
- ³ *Tecnologista e Pós-Graduação em Gestão Ambiental, Químico da COPPE-UFRJ, RJ-Brasil*
- ⁴ *Matemático, Mestre e Doutorando em Engenharia Metalúrgica, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica (PPGEM), Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda (EEIMVR), Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda, RJ - Brasil.*
- ⁵ *Física, Mestre e Doutora e professora de Engenharia Metalúrgica e Materiais (COPPE-UFRJ), Rio de Janeiro, RJ-Brasil*
- ⁶ *Engenheiro Químico, Mestre e Doutor e professor de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, UFF, Volta Redonda, RJ – Brasil*
- ⁷ *Engenheiro Metalúrgico, Mestre e Doutor e professor de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, UFF, Volta Redonda, RJ-Brasil*

1 INTRODUÇÃO

O termo nanotecnologia foi introduzido pelo japonês Norio Taniguchi para designar uma nova tecnologia que ia além do controle de materiais e da Engenharia em microescala. O significado do termo se aproxima mais da formulação de Eric Drexler que corresponde à metodologia de processamento envolvendo a manipulação átomo a átomo. Além disso, nanopartículas com propriedades individualizadas são descritas na literatura como sendo as de tamanho abaixo de 100 nanômetros, embora a presença de nanopartículas de prata apenas na escala (SI) em tamanho nanométrico se apresente abaixo do tamanho de 1 microméto. Esta relação de tamanho específica pode ser comparada ao tamanho de uma célula humana que pode apresentar tamanho de poro celular de cerca de 1 nanômetro. Além disso, como vemos na figura abaixo o tamanho de uma célula chega a ser mil vezes maior em volume e tamanho em comparação as nanopartículas de 10nm.

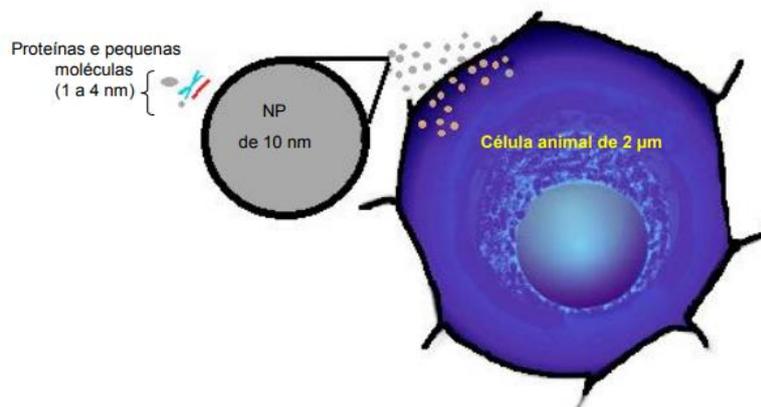


Figura 1: Comparação de tamanho entre proteína e pequenas moléculas, NPs de 10nm e uma célula animal

A metodologia de obtenção das nanopartículas que seguiu o protocolo obtido teve como base inicial os trabalhos de Lee e Meisel de 1982 com base em Tukevish. Em seguida diferentes métodos de redução do nitrato de prata foram testados inclusive redutores à verde como quitosana e a metodologia mais viável e de qualidade das nanopartículas durante a experimentação foi a redução pelo citrato de sódio. As nanopartículas de prata foram caracterizadas por UV-Vis, espectroscopia de Raman e microscopia de força atômica (AFM).

Inúmeros estudos vêm demonstrando que a prata como elemento metálico possui efeito bactericida similar ou até mesmo superior a uma gama de antibióticos. Esta propriedade é primordial como mecanismo de ação durante a interação de superfície de biomateriais em meio biológico. Entretanto, quando ainda em forma de sal o nitrato de prata pode possuir certo grau de citotoxicidade, assim intermediar a sua atuação constitui um desafio. Podemos tornar o método de redução à verde instituindo elementos naturais redutores para a possibilidade de utilizar os benefícios das nanopartículas de prata

Uma alternativa para alcançar esse objetivo é a formulação nanoparticulada da prata, empregando-se materiais biocompatíveis e biodegradáveis, empregando-se a

chamada “síntese verde” [2, 3,4] em que são utilizados diferentes agentes redutores naturais brandos, como fungos e bactérias, quitosana, extratos vegetais, algas marinhas e exsudatos de plantas. No entanto para o foco inicial escolhemos o citrato de sódio tradicional a fim de melhor controle do processo. Além disso a própria prata quando na forma de nanopartículas com dimensões em escala nanométricas, estas nanopartículas (NP) apresentam propriedades físicas e químicas diferentes das do material de origem, com uma porcentagem consideravelmente mais elevada de átomos em sua superfície, quando comparadas com partículas maiores (Choi et al. 2008). Devido ao seu empacotamento em nanopartículas, acredita-se que a prata permaneça em maior disponibilidade nos sítios de ação. Essas características possivelmente promovem uma melhor revelação empregando-se uma menor concentração do metal, em comparação com os demais métodos existentes (Becue et al. 2007), podendo reduzir, desse modo, a toxicidade inerente ao metal.

Para a caracterização das partículas é usado como equipamento de caracterização físico-químico Raman e AFM. A espectroscopia Raman bem como a espectroscopia de infra-vermelho fornece informações sobre transições vibracionais de uma molécula. A espectroscopia Raman envolve o espalhamento do fóton de forma inelástica de maneira diferente a espectroscopia de infra-vermelho que envolve a absorção de fótons em ressonância com as transições vibracionais. A quantidade bandas, suas frequências vibracionais e intensidade relativas associadas a cada modo vibracional levam a diferentes padrões espectrais nos espectros Raman [6]. Além disso esta técnica é de fácil preparação da amostra, com tempo de análise relativamente pequeno e permite a identificação e a quantificação de espécies químicas, uma vez que o conjunto dos modos vibracionais das amostras está univocamente relacionado à sua identidade química.

O objetivo foi o de sintetizar inicialmente nanopartículas de prata com potencial de exercer a função bactericida e com estabilidade na superfície de biomateriais o que se daria inicialmente por imersão durante a fase de co-precipitação dos filmes ou superfície de biomateriais, além de caracterizá-las físico-quimicamente por UV-Vis, Raman e AFM.

2 DESENVOLVIMENTO

Materiais

Foi obtida nanopartículas de prata-AgNPs pela metodologia desenvolvida a partir do método de redução do nitrato de prata (AgNO_3) via redução do citrato, bem como as nanopartícula foram caracterizadas química e fisicamente por espectroscopia Raman e Microscopia de Força Atômica

Métodos

A metodologia de síntese selecionada após ensaios iniciais de metodologia à verde foi a de seguir com base no método de redução do citrato a fim de conhecer o processo, caracterizá-lo e no futuro modelá-lo e compreendê-lo antes de partir para outras metodologias.

Assim o método selecionado consiste na adição de solução de nitrato de prata (AgNO_3) em um Erlenmeyer com água destilada. A solução resultante é elevada à ebulição branda (com temperaturas variando de 80 a 90°C. Posteriormente, cerca de 2 a 5 minutos fora adicionado foi adicionado 4mL de uma solução de citrato de sódio

1%*m*\v. A suspensão resultante passa por diferentes padrões de colorimetria e a avaliação em UV-Vis em especial em leitura de absorbância na faixa de 300 a 400nm. Para todos as condições avaliadas foi possível verificar a mudança de coloração esperada e, conseqüentemente, reação de redução do AgNO₃. Entretanto, houve diferença significativa na coloração dos tratamentos em função da combinação “concentração do extrato vs. concentração de AgNO₃” e o agente redutor que demonstrou maior controle efetivo do processo foi de fato o citrato de sódio. Diferentes combinações foram capazes de produzir compostos com picos de absorbância entre 300 a 600 com região específica na da prata de 420 e 455 nm, que é a faixa esperada para as nanopartículas de prata quando biosintetizadas. Novos experimentos serão realizados a fim de se estimar a capacidade antimicrobiana, efeito bactericida e citotoxicidade das nanopartículas sintetizadas, bem como a estabilidade das reações

Durante esta fase de síntese obtemos diferentes estágios das nanopartículas de acordo com o esquema ilustrado abaixo (delineamento experimental).

A cor amarela característica observada na prata coloidal é resultado da absorção da radiação eletromagnética em ressonância com os plasmons de superfície. Com o aumento das partículas de prata, a cor amarela característica da solução padrão passa para laranja e, posteriormente, violeta até atingir a coloração característica da prata em escala macroscópica. Esse fenômeno de diferença de coloração pode ser explicado pela adição de solução de nitrato de prata, que faz com que as partículas se aglomerem e se tornem maiores. (Junior, 2013).

A cor amarelada característica das suspensões estáveis de nanopartículas de prata foi observada por câmera digital e a obtenção dos nanocompostos foi monitorada por espectrofotometria UV-vis, por varredura nos comprimentos de onda de 300 a 600 nm (UV-Vis spectrophotometer Bell Photonics, Japão) e detecção do espectro na faixa de 300 a 400nm. Próximo a produzir precipitações potenciada pelo uso de shaker (agitador) temos uma coloração mais acinzentada da solução e também capaz de ser lida no espectro no mesmo comprimento de onda do UV-Vis, entretanto a estabilidade não se mantém tão adequada conforme a coloração amarelada e assim para manter as propriedades ópticas ao longo alcance a solução deve ser acondicionada em geladeira em frasco de vidro cor âmbar. O precipitado é separado e obtido após a imersão imersão de um filme na solução obtida. Em seguida, seco em estufa de 50°C overnight. As nanopartículas foram caracterizadas por espectroscopia Raman e Microscopia de Força Atômica (AFM).

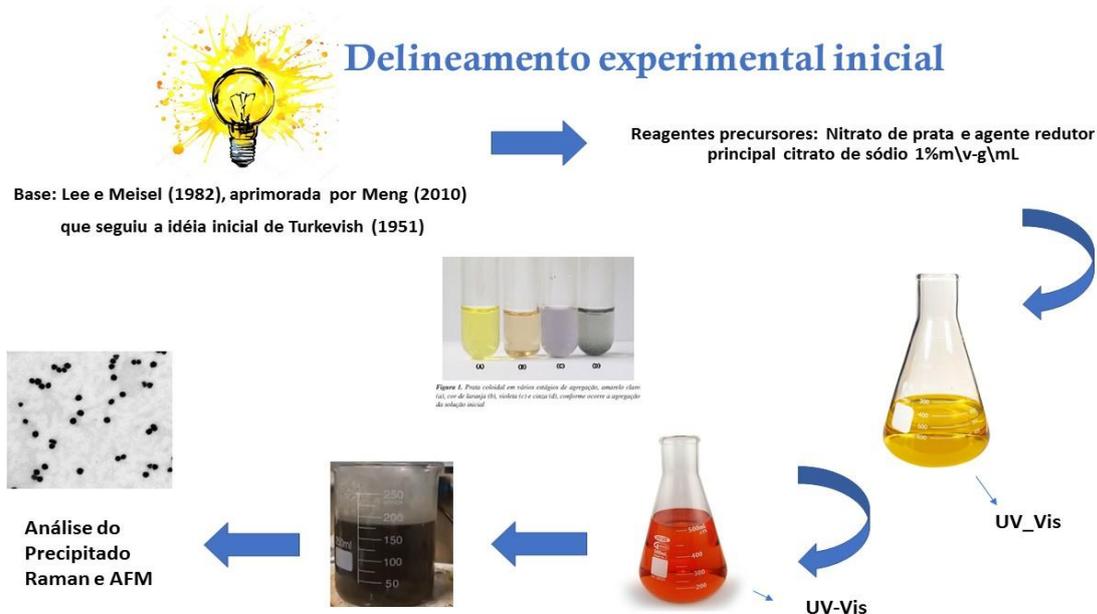


Figura 2: Delineamento experimental da Metodologia otimizada de obtenção das nanopartículas de prata -AgNPs

Microscopia de análise das nanopartículas de prata obtida no precipitado por Raman

Foi usado para análise um aparelho Raman marca Witec-focus innovations-modelo alpha300 (www.witec.de) cujo preparo envolveu “plain Si supplied by wit ec” operando em um comprimento de onda de 785nm de comprimento de onda e intensidade de laser máxima do tipo output, a objetiva usada para a observação da análise de aumento 100x NA0.95, o diâmetro de pinhole durante a operação foi de 100micrômetros em um tempo de integração usado de 50ms e grating de 600g/mm. O centro espectral de 950 rel 1/cm e filtro Raman do tipo Raman EdgeFilter com investigated line 1st order SiLine e medida de alto pico de 2000cts com tempo de integração usado para as nanopartículas de prata de 1 segundo usando a metodologia de análise foi realizada pelo pontual das amostras.

Microscopia de Força Atômica (AFM) marca Topometrix-Pronex-UFRJ para análise do precipitado

Para as condições de análise está sendo usado um aparelho marca Witec focus innovations-modelo alpha 300- edital Pronex.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção da solução de nanopartícula de prata e análise por UV-Vis: após a precipitação por redução do citrato a partir do nitrato de prata a solução foi analisada por UV-Vis durante fases das diferentes colorimetria obtida que consiste em análise das soluções na faixa ampla do espectro de 300 a 600nm e de acordo com a literatura o espectro identificar do pico comprovante da obtenção da nanopartícula estaria em cerca de 300 a 350nm . As 3 soluções foram analisadas e, em especial a

da formação do precipitado de cor acinzentada e, em todas o espectro UV-Vis obtido esteve por volta de 300 à 400nm. De acordo com Oliveira, 2014 o espectro identificador das nanopartículas de prata estão na faixa de 300 a 600nm e mais especificamente os pontos entre 300 a 400 identificam-as de maneira mais direcionada.

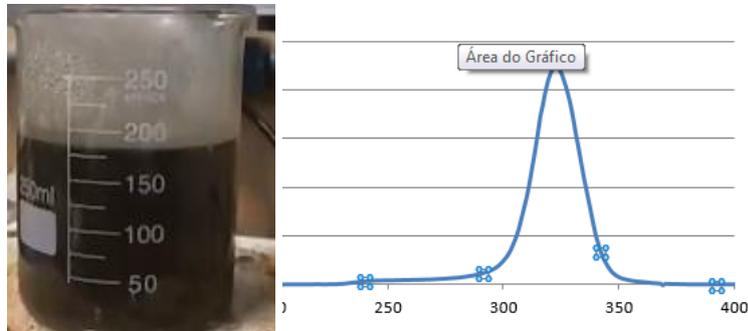


Figura3: espectro UV-Vis obtida da solução de nanopartícula de prata-AgNPs

Obtenção do precipitado: após a fase de síntese o precipitado foi recolhido após a imersão de um biomaterial filme inerte na solução de nanoprata obtida. Em seguida o mesmo foi seco em estufa a 50°C overnight. Em seguida o mesmo foi analisado por Raman e no momento vem sendo analisado por AFM.



Figura 4: Precipitado obtido sobre o filme

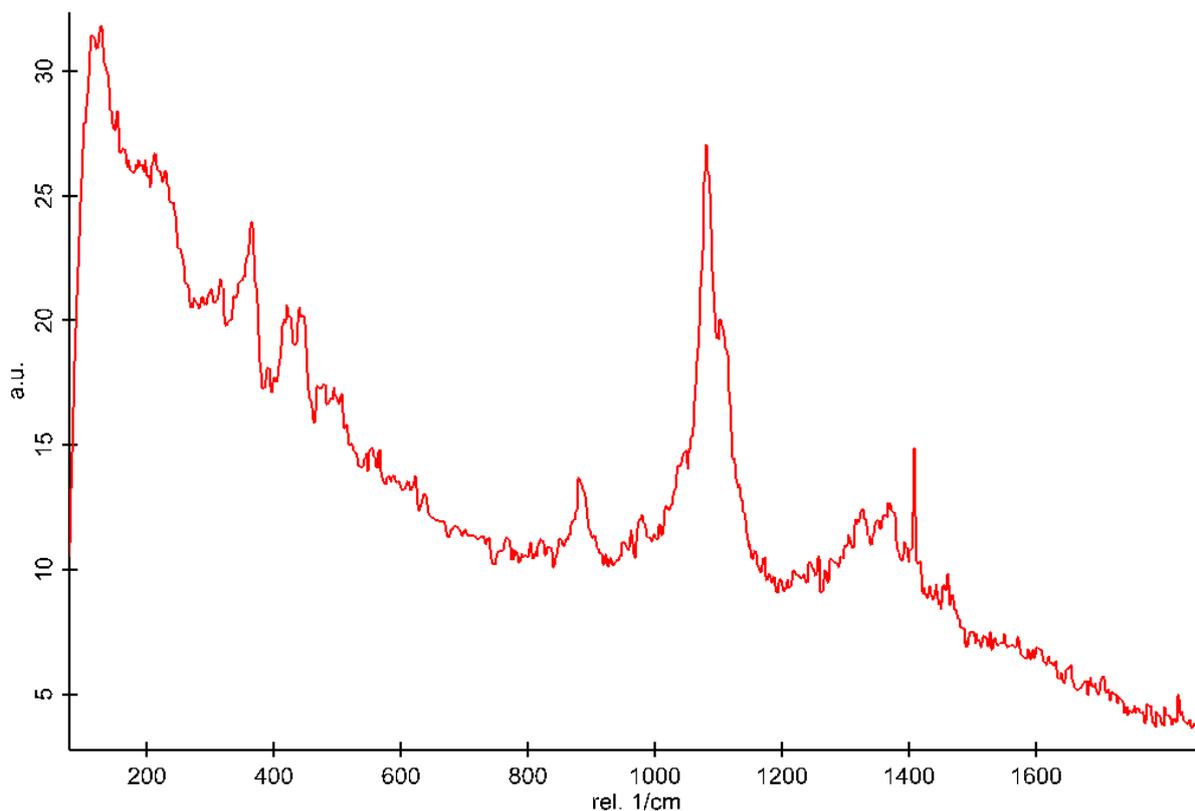


Figura 5: Espectro Raman obtido do precipitado da síntese de nanopartículas de prata

De acordo com a literatura, os efeitos de intensificação como o espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS) se apresenta como ferramenta poderosa para estudo e caracterização de monocamadas adsorvidas na superfície de metais como Ag, Au e Cu, uma vez que a intensificação do sinal Raman é da ordem de 10^6 (Faria, 2016). Assim podemos identificar a presença da prata nos filmes cobertos pelo precipitado das nanopartículas de prata obtidas (AgNPs) fazendo um paralelo com a presença das bandas características no espectro Raman presente. Além disso a literatura mostra semelhanças na construção de substratos SERS para a Ag no espectro Raman obtidos para a prata com semelhanças ao espectro em que coincide com a região espectral de luz visível. Em comparação ao trabalho de (Fonseca, 2016) em que delimita regiões de consideradas e ditas como as de qualidade no espectro Raman para a prata vimos que em especial na varredura de 200 a 1000 os espectros se assemelham e estão inclusas nesta região dita como a de qualidade espectral para a prata.

Os resultados e discussão para as análises de AFM ainda serão mostradas pois no momento ainda estamos ensaiando-os.

3 CONCLUSÃO

Os autores concluem que a metodologia desenvolvida e adaptada a partir da base da síntese clássica de nanopartículas de prata demonstrou ser viável, eficiente e de relativo baixo custo. Outros agentes de redução à verde em substituição ao citrato de sódio tem demonstrado ser viável, entretanto, optamos pelo método citrato a fim de obter o maior número possível de parâmetro controle durante a síntese de

nanopartículas de prata. As AgNPs abaixo de 100nm foram possíveis de serem identificadas pelo processo de conversão proposto na Literatura por Oliveira, 2014 analisadas por UV-Vis onde há uma relação direta da leitura óptica obtida com a relação de tamanho e presença das nanopartículas de prata presente na solução. A análise de espectro Raman foi possível identificar a presença dos espectros relativo a prata indicando o caminho correto a seguir na etapa de síntese e a posteriori. Análises de AFM ainda vem sendo conduzidas.

Agradecimentos

Agradecimentos à CAPES pelo auxílio financeiro, ao Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da UFF e UFRJ pelo suporte de infra-estrutura.

REFERÊNCIAS

- 1 Faria, B. E. F.F., Produção e caracterização de nanopartículas de prata estabilizadas com polissacarídeos da goma do cajueiro, dissertação de mestrado Faculdade de Medicina, UNB, 2016
- 2 Sharma, K. V, Yngard RA, Lin Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Adv. Colloid Interface Sci. , (2009)145 83-96
- 3 Parashar, U. K, Kumar V, Bera T, Saxena PS, Nath G, Srivastava SK, Giri R, Srivastava A. Study of mechanism of enhanced antibacterial activity by green synthesis of silver nanoparticles. Nanotechnology (2011) 22
- 4 Shameli, K., Bian Ahmad, M., Zamanian, A., Sangpour, P., Shabanzadesh, P., Abdollahi, Green biosynthesis of silver nanoparticles using Curcuma longa tuber powder, (2012) 7: 5603–5610
- 5 Shameli K, Ahmad MB, Wan Yunus WMZ, et al. Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV-irradiation method and evaluation of antibacterial activity. Int J Nanomedicine; (2010), 5:875–887
- 6 Filgueiras, A. L., estudo in vitro do potencial antibacteriano de nanopartículas de prata, associadas à quitosana e antibióticos e das interações com a superfície metálica por espectroscopia Raman intensificada por superfície, dissertação de mestrado em Química da UFJF, 2013
- 7 Oliveira, J. F. A., Funcionalização de nanopartículas de prata com antibióticos beta-lactâmicos: uma alternativa a resistência bacteriana. Dissertação de mestrado. Campinas, 2014
- 8 Fonseca, B. G., Estudo da interação entre peptídeos derivados de triptofano e nanopartículas metálicas. Dissertação de mestrado em Química da UFJF, 2016