

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE - UFAC PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA



## AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE TINTA INCORPORADA COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA

LUCAS LEONARDO LIMA RABIM

### LUCAS LEONARDO LIMA RABIM

## AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE TINTA INCORPORADA COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Dissertação apresentada ao Programa de Pósgraduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito para a obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Inovação Tecnológica**.

**Área de Concentração:** Ciência e Inovação Tecnológica

Linha de Pesquisa: Tecnologia dos Recursos Naturais (Nanotecnologia)

Orientador: Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria

Coorientador: Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

R116a Rabim, Lucas Leonardo Lima, 1995 -

Avaliação da ação antimicrobiana de tinta incorporada com nanopartículas de prata / Lucas Leonardo Lima Rabim; orientador: Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria e Co-orientador: Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez. – 2020.

63 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pósgraduação em Ciência Inovação e Tecnologia para a Amazônia, Rio Branco, 2020.

Inclui referências bibliográficas.

1. Tinta antimicrobiana. 2. Tinta à base d'água. 3. Nanopartículas de prata. I. Faria, Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de (orientador). II. Rodriguez, Anselmo Fortunato Ruiz (Co-orientador). III. Título.

CDD: 509



## UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE - UFAC PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA

## AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE TINTA INCORPORADA COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA

### LUCAS LEONARDO LIMA RABIM

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 30/01/2020

Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria Universidade Federal do Acre - Ufac

Orientador

Prof. Dr. José Genivaldo do Vale Moreira Universidade Federal do Acre - Ufac Membro da Banca Examinadora

> Prof. Dr. Mateus Bruno Barbosa Instituto Federal do Acre - Ifac Membro da Banca Examinadora

> > RIO BRANCO, AC 01/2020

#### **AGRADECIMENTOS**

À minha família, especialmente, meus pais, Gutemberg Rabim (in memoriam) e Luzia Rabim, pelo amor, respeito e suporte.

Ao meu bem, Yasmim Ribeiro, pelo apoio, compreensão e amor. E à Cristina Ribeiro, sua mãe, pela consideração e confiança.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria e ao meu coorientador Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez que me auxiliaram no desenvolvimento de minha pesquisa, com disponibilidade e recomendações.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos que possibilitou a minha dedicação exclusiva e, portanto, a viabilidade dessa pesquisa.

À Universidade Federal do Acre por ofertar o Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia (Stricto Sensu) de forma gratuita e com qualidade.

À coordenadora do curso, Profa. Dra. Clarice Maia Carvalho, que sempre demonstrou prezar pela qualidade desse Programa de Pós-Graduação, trabalhando em sua função para o aperfeiçoamento dos (as) discentes.

Ao Me. Anderson Luis Ramos, Ma. Geyse Souza Santos e Me. Marcelo Ramon da Silva Nunes, colegas de laboratório, pela colaboração no desenvolvimento das etapas de minha pesquisa e por compartilharem comigo seus aprendizados.

Aos amigos e às amigas que ganhei no decorrer do Mestrado, que acrescentaram a esse percurso muitas risadas e vínculos que desejo manter por muito tempo.

Aos meus professores e às minhas professoras que com excelência transmitiram os seus conhecimentos e ao secretário do curso Márcio Lima Dumont que me auxiliou em diversas situações.

A todos (as) aqueles (as) que colaboraram em algum momento da minha trajetória educacional.

### **RESUMO**

Esse estudo teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana de uma tinta acrílica a base d'água aditivada com nanopartículas de prata (AgNPs) em sua formulação. As AgNPs foram sintetizadas por redução química com nitrato de prata, borohidreto de sódio e os estabilizantes (PVA), polietilenoglicol polivinilpirrolidona (PVP), álcool polivinílico carboximetilcelulose sódica (CMC) nas concentrações 0,3% e 1,0%. A caracterização ocorreu por espectrofotometria UV-Vis, técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial zeta e microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MEV-FEG). As nanopartículas foram avaliadas por difusão em ágar por poço contra Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae e Candida albicans. A tinta foi incorporada com AgNPs em três concentrações, uma em branco e as demais nas proporções 10:03 e 09:06 (v/v) de tinta pela solução de nanopartículas. As avaliações antimicrobianas da tinta pelo teste disco-difusão foram contra os mesmos microrganismos e os filmes de tinta pintados em lâminas de vidro foram testados para K. pneumoniae, S. aureus e C. albicans. As AgNPs apresentaram tamanho médio de aproximadamente 100 nm para PVP 1,0%, CMC 0,3% e 1,0%, inferior a 50 nm para as demais e alta polidispersividade em todas. As nanopartículas sem estabilizante ou com CMC obtiveram maiores estabilidades. A maioria das AgNPs apresentaram inibição, exceto para a E. coli. O ensaio disco-difusão das tintas mostrou inibição somente para a C. albicans na concentração 02. Os filmes com adição de AgNPs apresentaram uma diminuição das colônias de *C. albicans* e nenhum efeito para as bactérias.

Palavras-chave: Tinta antimicrobiana. Tinta à base d'água. Nanopartículas de prata.

### **ABSTRACT**

This study aimed to evaluate the antimicrobial action of a waterborne acrylic paint with silver nanoparticles (AgNPs) in its formulation. The AgNPs were synthesized by chemical reduction with silver nitrate, sodium borohydride and the stabilizers polyvinylpyrrolidone (PVP), polyvinyl alcohol (PVA), polyethylene glycol (PEG) and sodium carboxymethylcellulose (CMC) in concentrations 0.3% and 1.0%. The characterization occurred by UV-Vis spectrophotometry, dynamic light scattering (DLS) technique, zeta potential and field emission scanning electron microscopy (SEM-FEG). The nanoparticles were evaluated by diffusion on agar per well against Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae and Candida albicans. The paint was incorporated with AgNPs in three concentrations, one in white and the others in the proportions 10:03 and 09:06 (v/v) of paint by the solution of nanoparticles. The antimicrobial evaluations of the paint by the disk diffusion test were against the same microorganisms and the paint films painted on glass slides were tested for K. pneumoniae, S. aureus and C. albicans. The AgNPs had an average size of approximately 100 nm for PVP 1.0%, CMC 0.3% and 1.0%, less than 50 nm for the others and high polydispersity for all nanoparticles. Nanoparticles without stabilizer or with CMC obtained greater stability. Most AgNPs showed inhibition, except for E. coli. The disc diffusion test of the paints showed inhibition only for C. albicans at concentration 02. Films with the addition of AgNPs showed a decrease in C. albicans colonies and no effect for bacteria.

**Keywords:** Antimicrobial paint. Waterborne paint. Silver nanoparticles.

### LISTA DE FIGURAS

Revisão	o da Literatura
]	Figura 01 – Ressonância Plasmônica de Superfície para nanoesfera 14
]	Figura 02 – Mecanismos de estabilização das partículas: (a) eletrostática (b) estérica
	16
Capítul	lo I
]	Figura 01 – Fluxograma do processo de seleção dos estudos para a revisão23
]	Figura 02 – Quantidade de artigos selecionados por ano24
Capítul	lo II
]	Figura 01 – Solução das diferentes sínteses: (a) P1, P2, P3 e P4, (b) P5, P6, P7 e (c) P8
e P9	37
]	Figura 02 – Espectros de absorbância de uma triplicata das soluções sem estabilizante
adiciona	al, PVA 0,3% e 1,0%, PVP 0,3% e 1,0%, PEG 0,3% e 1,0% e CMC 0,3% e 1,0%38
]	Figura 03 – Distribuição de tamanho das AgNPs medidas pela técnica de DLS para (a)
P1, (b) 1	P2, (c) P3, (d) P4, (e) P5, (f) P6, (g) P7, (h) P8 e (i) P940
]	Figura 04 – Imagens MEV-FEG das AgNPs preparadas (a) sem estabilizante adicional
(b) com	CMC 1%41
Capítul	lo III
]	Figura 01 – Espectros de UV-Vis das triplicatas de nanopartículas de prata50
]	Figura 02 – Distribuição de tamanho medidas por DLS51
]	Figura 03 – Imagem MEV-FEG das nanopartículas52
]	Figura 04 – Teste disco difusão para concentração 02 contra <i>C. albicans</i> 53
]	Figura 05 – Aparência das lâminas pintadas contra C. albicans para (a) concentração
01, (b) o	concentração 02 e (c) concentração 0355
]	Figura 06 – Aparência das lâminas pintadas na concentração 02 contra (a) S. aureus e
(b) <i>K</i> n	neumoniae e na concentração 03 contra (c) S. aureus e (d) K. pneumoniae

### LISTA DE QUADROS E TABELAS

### **TABELAS**

### Capítulo II

Tabela 01 – Valores das análises UV-Vis, DLS e Potencial Zeta das soluções sem
estabilizante adicional, PVA 0,3% e 1,0%, PVP 0,3% e 1,0%, PEG 0,3% e 1,0% e CMC 0,3%
e 1,0%39
Tabela $02$ – Valores do diâmetro da zona de inibição (mm) para $20~\mu L$ de solução, em
média e desvio padrão. si = sem inibição
Tabela 03 – Valores do diâmetro da zona de inibição (mm) para 50 $\mu L$ de solução, em
média e desvio padrão. si = sem inibição
Capítulo III
Tabela 01 - Valores do diâmetro da zona de inibição das AgNPs em média e desvio
padrão (mm). si = sem inibição
Tabela 02 – Valores do diâmetro da zona de inibição das tintas em média e desvio padrão
(mm). si = sem inibição
QUADROS
Capítulo I
Quadro 01 – Síntese das informações dos trabalhos
Quadro 02 – Tamanho das Nanopartículas
Capítulo II
Quadro 01 – Amostras sintetizadas e os respectivos estabilizantes
Capítulo III
Quadro 01 – Concentrações de adição testadas

### SUMÁRIO

1. INTRODUÇAO	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIA	12
2.1.1 Nanopartículas de Prata	13
2.1.2 Estabilização de sistemas coloidais	15
2.2 Tintas na Construção Civil	16
CAPÍTULO I	18
Tintas à base d'água com adição de nanopartículas com p antimicrobianas: Revisão Sistemática	ropriedades
RESUMO	19
ABSTRACT	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAIS E MÉTODOS	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
Atividade antibacteriana	28
Durabilidade da ação antimicrobiana	29
CONCLUSÕES	30
CAPÍTULO II	31
Síntese de nanopartículas de prata por redução química com estabilizantes	diferentes
RESUMO	32
ABSTRACT	32
INTRODUÇÃO	33
MATERIAIS E MÉTODOS	34
Materiais	34
Síntese das AgNPs	34

Caracterização das AgNPs	35
Teste antimicrobiano	36
RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
Síntese e caracterização das Nanopartículas de Prata	36
Avaliação da atividade antimicrobiana das Nanopartículas de Prat	ta42
CONCLUSÕES	43
CAPÍTULO III	44
Avaliação da atividade antimicrobiana de tinta incorporada com nano	partículas de
prata	
RESUMO	45
ABSTRACT	45
INTRODUÇÃO	46
MATERIAIS E MÉTODOS	47
Materiais	47
Síntese das AgNPs	48
Caracterização das AgNPs	48
Teste antimicrobiano das AgNPs	48
Incorporação de nanopartículas na tinta	49
Teste antimicrobiano da tinta	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
Caracterização das Nanopartículas de Prata	50
Avaliação da atividade antimicrobiana das Nanopartículas de Prat	ta52
Avaliação da atividade antimicrobiana da tinta com AgNPs	52
CONCLUSÕES	56
3. CONCLUSÕES GERAIS	58
4. REFERÊNCIAS	59

### 1. INTRODUÇÃO

O surto de doenças infecciosas causadas por bactérias patogênicas, o aumento da resistência a antibióticos e o risco à saúde de diversas doenças causadas por fungos que crescem em materiais na presença de umidade, estimularam a busca por novos agentes antimicrobianos nos últimos anos (RAI; YADAV; GADE, 2009; BELLOTTI et al., 2015).

Nesse mesmo período, uma revolução tecnológica comparada a revolução industrial do século XIX é realizada no campo da Nanociência e Nanotecnologia, com a expectativa de produtos inovadores em áreas importantes para a sociedade (MARTINS; TRINDADE, 2012). As nanopartículas metálicas, incluindo prata, óxido de cobre, óxido de zinco, dióxido de titânio, dentre outras, apresentam elevada atividade antimicrobiana e surgem como alternativas interessantes para materiais com ação biocida (OGUNSONA et al., 2019).

A aplicação de tintas ou coberturas antimicrobianas nas superfícies dos ambientes hospitalares, creches, asilos, cozinhas e prédios deteriorados podem reduzir a propagação e prevalência de doenças, assim como, os desconfortos gerados aos usuários (HANUS; HARRIS, 2013).

Diante do exposto, esses ambientes que demandam grande salubridade podem adquirir a característica antimicrobiana mediante o uso de tintas arquitetônicas aditivadas com nanopartículas de prata na sua composição, em superfícies sejam elas paredes, pisos, forros, etc (TORNERO et al., 2018).

Uma revisão sistemática foi empreendida para aprofundar e justificar a realização desse trabalho, dessa forma, foi possível identificar as tintas à base d'água aditivadas com nanopartículas antimicrobianas e elencar aspectos como o tipo das tintas, as nanopartículas comumente empregadas e a forma de avaliação da ação antimicrobiana.

As nanopartículas de um material, como nanopartículas de prata, apresentam diferentes métodos de síntese, na qual cada componente presente pode resultar em alterações nas propriedades do material, sendo os estabilizantes de grande relevância para o formato, distribuição de tamanho e estabilidade da nanopartícula (EL-NOUR et al., 2010; LIU et al., 2008). Nesse sentido, o Capítulo 02 teve como objetivo sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade antimicrobiana de nanopartículas produzidas por redução química e estabilizadas por diferentes polímeros.

O presente estudo teve como principal objetivo avaliar a ação antimicrobiana de uma tinta acrílica a base d'água aditivada com nanopartículas de prata em sua formulação, conforme apresentado no Capítulo 03 desse documento de dissertação.

### 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 NANOCIÊNCIA E NANOTECNOLOGIA

No final do último século, o estudo de materiais com dimensões extremamente pequenas, na escala nanométrica, passou a ter grande destaque no campo científico e tecnológico, consolidando a área de conhecimento intitulada como "Nanociência e Nanotecnologia" (ZARBIN, 2007).

O início da nanotecnologia no campo acadêmico está ligado ao cientista Richard Feynman, quando em 1959 promoveu a palestra intitulada por "There's Plenty of Room at the Bottom" e inseriu a ideia de manipular átomos e moléculas diretamente para construir materiais com propriedades superiores, em um processo de construção de baixo para cima, sugerindo que em um futuro não tão distante, toda a enciclopédia britânica poderia ser escrita na cabeça de um alfinete (ALMEIDA, 2017; BECHTOLD, 2011).

A base para a Nanociência e Nanotecnologia é o princípio de que as propriedades dos materiais, sejam elas óticas, elétricas, magnéticas, de transporte, catalíticas, dentre outras, dependem das dimensões das suas partículas, apresentando consideráveis alterações para dimensões inferiores ao tamanho crítico (ZARBIN, 2007). Dessa forma, um mesmo material possui características ou intensidade totalmente diferentes quando tem dimensões macroscópicas ou nanométricas.

A Organização Internacional de Normalização define como um nanomaterial aquele que possuir qualquer dimensão entre 1 e 100 nm e possui propriedades notáveis (DESHMUKH et al., 2018). Esses nanomateriais podem ser classificados em: nanobastões e nanofios quando apenas uma dimensão é inferior a 100 nm; nanotubos, nanofibras e nanoplaquetas quando duas dimensões são inferiores a 100 nm e nanopartículas (NPs), pontos quânticos e nanoesferas ocas quando três dimensões são inferiores a 100 nm (YOUSAF; ALI, 2007)

Uma consequência da redução do tamanho médio das partículas dos nanomateriais é o aumento da área superficial em relação ao volume. Por exemplo, enquanto um cubo de 1 cm de lado apresenta 6 cm² de área superficial para o volume de 1 cm³, cubos com aresta de 1 nm para o mesmo volume de 1 cm³ resultam em  $10^{21}$  cubos e área superficial total de 60.000.000 cm² (MARTINS; TRINDADE, 2012). O efeito da relação da área superficial é notado quando metais com tamanhos de grão em torno de 10 nm são aproximadamente sete vezes mais duros e tenazes que aqueles com tamanhos de centenas de nanômetros (GARCIA, 2011).

O avanço da pesquisa e fabricação de produtos com propriedades nanotecnológicas é considerável, promovendo a presença de nanomateriais em diversos campos, com destaque para: cosméticos (protetores e loções solares), têxteis antimicrobianos, compósitos magnéticos (nano-óxidos), cerâmicas (cerâmica fina), revestimentos (tintas e coberturas em geral), ferramentas de corte de alto desempenho, nanomedicina (armazenadores e transportadores de fármacos, testes biológicos, nanodispositivos, engenharia de tecidos), eletrônicos (microprocessadores, nanosensores), transportes (engenharia aeroespacial, combustíveis, estrutura dos veículos), energia e meio ambiente (fabricação, transmissão e armazenamento de energia, motores, efluentes indesejáveis) (GARCIA, 2011; YOUSAF; ALI, 2007).

O setor da construção civil, em geral mais conservador e com inclinação ao uso de materiais e técnicas tradicionais, também apresenta grande potencial para a aplicação de nanomateriais. O concreto e a argamassa podem ter suas propriedades melhoradas, através da adição de nanopartículas de óxido de metal, nanotubos e nanofibras de carbono; as superfícies de paredes, pisos e equipamentos podem assumir a função antimicrobiana com a adição, em tintas, de nanopartículas metálicas, nanocarbonos e pontos quânticos; as superfícies dos ambientes urbanos podem realizar a purificação do ar quando aditivadas com nanopartículas de dióxido de titânio; e muitos outros materiais e equipamentos comuns na construção podem incorporar os avanços da nanotecnologia (HANUS; HARRIS, 2013).

### 2.1.1 Nanopartículas de Prata

As nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam características importantes para diversas aplicações, como as propriedades óticas e antimicrobianas. O comportamento ótico das AgNPs e outros metais como ouro e cobre pode variar conforme o tamanho e a forma das nanopartículas presentes nas soluções coloidais, em decorrência dos elétrons livres na banda de condução (ANDRADE, 2013).

A propagação de ondas eletromagnéticas entre um metal e o meio dielétrico circundante resulta em um campo eletromagnético acoplado à oscilação coerentes dos elétrons da banda de condução, sendo que essas energias de oscilação são quantizadas e os quanta de energia são denominados plasmons de superfície (MARTINS; TRINDADE, 2012).

No momento em que a radiação eletromagnética é incidida na nanoesfera metálica, é induzido a formação de dipolos, os quais promovem a polarização da nanopartícula, ou seja, a nuvem de elétrons sofre um deslocamento em relação aos núcleos e as cargas positivas agem simultaneamente como uma força restauradora, fazendo os elétrons oscilarem coerentemente (MARTINS; TRINDADE, 2012). Essa ressonância dos elétrons livres quando em fase com a

radiação eletromagnética, é o fenômeno conhecido como Ressonância Plasmônica de Superfície e que explica a diferença de cores para soluções coloidais com o mesmo material (ANDRADE, 2013).

Nanoesfera metálica

Nuvem de elétrons

Figura 01 – Ressonância Plasmônica de Superfície para nanoesfera.

Fonte: Adaptado de Kelly et al, 2003.

Atualmente existe uma variedade de maneiras para sintetizar nanopartículas de prata, assim, a escolha da maneira de síntese depende das propriedades buscadas no material a ser obtido. As rotas sintéticas são classificadas em químicas, físicas, fotoquímicas e biológicas, apresentando como vantagens e desvantagens para cada método, por exemplo, a estabilidade, o diâmetro das partículas, a distribuição de tamanho, os custos e a escalabilidade para maior produção (LOPES, 2017).

A síntese por redução química é a forma de síntese mais tradicional, na qual citrato de sódio e borohidreto de sódio são usados como redutores dos íons de prata, assim como, polímeros como álcool polivinílico (PVA) e polietilenoglicol (PEG) podem ser redutores e também como estabilizantes (DURÁN et al., 2019). No método de redução, é possível variar o tipo do agente redutor, sua quantidade e concentração, a temperatura da reação, velocidade de agitação e duração do processo de redução (GARCIA, 2011). Em geral, essa rota de síntese apresenta alta reprodutibilidade e simplicidade, com controle das dimensões e distribuição de tamanho, porém em algumas rotas são empregados reagentes tóxicos e que geram subprodutos tóxicos (DURÁN et al., 2019).

Ao contrário dos métodos químicos, os métodos físicos não utilizam substâncias químicas tóxicas, são comumente rápidos, sem contaminação por solvente nos filmes finos preparados e também possuem uma boa uniformidade da distribuição de tamanho das nanopartículas, sendo os métodos mais comuns a evaporação-condensação e ablação por laser

(IRAVANI et al., 2014; LOPES, 2017). A preparação de nanopartículas de prata por método fotoquímico, utiliza a fotorredução de um precursor ou de íons de prata através do uso de intermediários ativados fotoquímicamente (LOPES, 2017).

A síntese biológica é economicamente e ecologicamente viável, sendo uma alternativa simples, de baixo custo, realizada sob temperatura e pressão ambientes e sem uso de estabilizantes externos, porém tem como dificuldades o escalonamento e o rendimento das nanopartículas (DURÁN et al., 2019). Esse processo de síntese também denominada verde, utiliza como agente redutor bactérias, fungos, algas e extratos de plantas (IRAVANI et al., 2014).

### 2.1.2 Estabilização de sistemas coloidais

As soluções coloidais são sistemas intermediários entre as soluções verdadeiras e os sistemas heterogêneos, sendo que as partículas dispersas no dispergente possuem tamanho entre 1nm a 1µm (BECHTOLD, 2011). A estabilidade das partículas que integram a suspensão é definida pelas forças de atração e repulsão entre elas, as quais variam conforme as características físico-químicas e da interface partícula-solvente (ALMEIDA, 2017).

As interações entre as partículas dependem da distância de separação, quantidade de partículas dispersas, influência de forças externas devidas ao campo de gravidade ou cisalhamento (JUNIOR; VARANDA, 1999). Em dispersões coloidais aquosas as principais forças envolvidas são: a interação repulsiva de duplas camadas de cargas da superfície das partículas; interação atrativa de van de Waals; interação estérica repulsiva de cadeias de polímeros adsorvidos nas partículas; interação atrativa de polímeros; interação de moléculas do solvente (solvatação) e interação hidrofóbica (JUNIOR; VARANDA, 1999).

A estabilidade coloidal pode ser obtida através da estabilização eletrostática, estabilização estérica e estabilização eletroestérica, conforme figura 02. A estabilização eletrostática ocorre quando a repulsão Coulombiana é capaz de superar as atrações de van der Waals, a adsorção de íons na superfície e os contra-íons formam uma dupla camada elétrica que promovem uma repulsão mútua entre as partículas (ANDRADE, 2013).

A estabilização estérica é obtida com a utilização de polímeros com cadeias longas, que são adsorvidas na superfície das nanopartículas e promovem a interpenetração das camadas e se ordenam paralelamente quando as partículas se aproximam, mantendo um impedimento físico entre elas (ALMEIDA, 2017). A estabilização eletroestérica é o resultado da combinação dos dois mecanismos.

Figura 02 – Mecanismos de estabilização das partículas: (a) eletrostática (b) estérica.

Fonte: Fonseca, 2005.

### 2.2 Tintas na Construção Civil

As tintas em geral possuem uma extensa variedade de produtos e normalmente são categorizadas conforme seus componentes básicos, finalidade, qualidade, dentre outros. Os componentes básicos das tintas são: resina, pigmento, aditivo e solvente. A resina é a parte não volátil da tinta e possui a função de aglomerar as partículas de pigmentos, além disso, o tipo de resina empregado define a nomenclatura da tinta, como por exemplo, vinílica, acrílica, epóxi ou poliuretânica (FAZENDA, 2009).

O pigmento é um material sólido com pequenas dimensões que permanece constituído ao filme de tinta após a secagem, conferindo cor a superfície e demais características da tinta, como o poder de cobertura. O aditivo é um elemento que é adicionado às tintas para melhorar suas propriedades, como a secagem, aplicabilidade, sedimentação, resistência a microrganismos, etc (FAZENDA, 2009). O solvente é um líquido volátil, na maioria das vezes com baixo ponto de ebulição, com a finalidade de solubilizar a resina (PILZ, 2004).

As tintas podem utilizar compostos orgânicos voláteis (COVs) ou água como solventes. Os solventes orgânicos, como aguarrás, xilenos, ésteres, álcoois, acetonas e glicóis, estão sendo cada vez menos utilizados na produção de tintas em razão dos danos que as suas emissões causam na atmosfera do planeta (MONTEIRO, 2007).

As tintas à base d'água representam hoje o produto de maior comercialização no mundo inteiro, isso se deve a sua facilidade de aplicação, custo-benefício e menor dano ao meio-ambiente (FAZENDA, 2009). As tintas à base d'água podem ser empregadas em diversas aplicações, em ambientes internos e externos, seladores de superfícies, em acabamento para madeira, metais, gesso, etc (PILZ, 2004).

Um tipo de tinta largamente aplicado nas edificações é a tinta acrílica à base d'água. A resina acrílica é obtida a partir da esterificação dos ácidos acrílico e metacrílico, com a formação

de homo ou copolímeros com vários álcoois, resultando em uma variedade de resinas termoplásticas (MONTEIRO, 2007). As tintas acrílicas são indicadas para ambientes internos e externos, secos ou com umidade e possuem como propriedades mais importantes o elevado brilho, dureza, flexibilidade, a boa resistência ao choque e à ação de agentes químicos e da radiação UV (MONTEIRO, 2007).

### CAPÍTULO I

### CAPÍTULO I - Tintas à base d'água com adição de nanopartículas com propriedades antimicrobianas: Revisão Sistemática

#### **RESUMO**

Esta pesquisa teve como objetivo identificar tintas à base d'água aditivadas com nanopartículas com propriedades antimicrobianas que podem ser aplicadas em ambientes que demandam melhores condições de higiene e salubridade. Trata-se de uma revisão sistemática desenvolvida pelo cumprimento das fases de planejamento, condução e análise dos resultados. Na etapa de planejamento foi elaborado um protocolo de pesquisa, o qual foi executado com a busca em bases de dados científicas, seleção dos trabalhos com critérios de inclusão e exclusão e a extração das informações de interesse, seguida pela análise dessas informações, dentre elas, o tipo de tinta à base d'água utilizado, a nanopartícula empregada, a avaliação da ação antimicrobiana das tintas e os resultados obtidos. Um total de 197 estudos foram identificados nas bases de dados, com a seleção de 12 desses para a revisão. A maioria das tintas à base d'água são do tipo acrílica e as nanopartículas mais empregadas foram as metálicas, sendo a maioria de prata. Os resultados dos ensaios de avaliação microbiológica dos trabalhos mostraram que, no mínimo, uma formulação de tinta em cada trabalho possui efeito antimicrobiano contra determinado microrganismo. Portanto, foi obtido o cenário das tintas à base d'água com incorporação de nanopartículas antimicrobianas que podem ser aplicadas em hospitais, creches, asilos, cozinhas, etc.

Palavras-chave: Tinta à base d'água. Nanopartículas antimicrobianas. Nanotecnologia

### **ABSTRACT**

This research aimed to identify antimicrobial nanoparticle additive waterborne paints that can be applied in environments that require better hygiene and health conditions. It is a systematic review developed by following the planning, conduction and analysis of the results. In the planning stage a research protocol was elaborated, which was executed with the search in scientific databases, the selection of the works with inclusion and exclusion criteria and the extraction of the information of interest, followed by the analysis of this information, among them, the type of waterborne paint used, the nanoparticle employed, the evaluation of the antimicrobial action of the paints and the results obtained. A total of 197 studies were identified in the databases, with 12 of these selected for review. Most waterborne paints are acrylic and the most commonly used nanoparticles were metallic, most of which were silver. The results of the microbiological evaluation tests of the work showed that at least one paint formulation in each work has antimicrobial effect against a given microorganism. Therefore, the scenario of waterborne paints with incorporation of antimicrobial nanoparticles that can be applied in hospitals, nurseries, nursing homes, kitchens, etc. was obtained.

Keywords: Waterborne paint. Antimicrobial nanoparticles. Nanotechnology

### INTRODUÇÃO

A presença de diversas partículas é comum aos ambientes fechados, entre elas, numerosos esporos de fungos, bactérias e fragmentos de material biológico (BRIMBLECOMBE, 2010). As paredes, os pisos e outras superfícies do ambiente fornecem um local bastante acessível para que bactérias patogênicas se instalem e proliferem (HANUS; HARRIS, 2013). Da mesma forma, fungos podem crescer aceleradamente em materiais de construção, móveis e outros substratos em edifícios que sofrem danos ou que apresentam alta umidade (LI; YANG, 2004).

Determinados contaminantes fúngicos representam um risco potencial à saúde dos ocupantes de edificações e, estudos epidemiológicos já mostraram que a exposição interna de longa duração a certos fungos, pode resultar em reação de hipersensibilidade e doenças crônicas (LI; YANG, 2004). Os esporos de fungos são considerados alérgenos e doenças como asma, rinite e pneumonite de hipersensibilidade podem estar relacionadas à sua exposição, além disso, subprodutos fúngicos como micotoxinas, B-glucanas ou talvez compostos orgânicos voláteis (VOCs) fúngicos, são potencialmente irritantes, tóxicos, teratogênicos, carcinogênicos e imunossupressores (LI; YANG, 2004).

Os casos de infeções nosocomiais têm crescido nas últimas décadas gerando enorme preocupação devido às dificuldades no tratamento desses pacientes e às elevadas taxas de mortalidade (HANUS; HARRIS, 2013). A infecção nosocomial é ainda mais crítica nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), onde o paciente está mais exposto ao risco de infecção, devido a sua condição clínica (LIMA; ANDRADE; HAAS, 2007). Em um estudo com 71 pacientes em UTI, 47 indivíduos (66,2%) apresentaram infecção hospitalar e taxa de mortalidade dos infectados igual a 57,5%, enquanto a taxa para aqueles sem infecção foi de 8,3% (LIMA; ANDRADE; HAAS, 2007). Percentuais similares foram encontrados em pesquisa realizada com 1.235 pacientes em UTIs, dentre os quais, 761 (61,6%) possuíam infecção hospitalar e taxa de mortalidade igual a 37,6% (264), enquanto os não infectados apresentaram 56 óbitos (13,2%) (SILVA et al., 2012).

As evidências científicas atuais revelam que as superfícies contaminadas desempenham papel importante na transmissão de bactérias como *Clostridium difficile, Enterococo Resistente* à *Vancomicina* (VRE), *Staphylococcus aureus resistente* à *meticilina* (MRSA), *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* (OTTER; YEZLI; FRENCH, 2011; WEBER et al., 2010). O potencial das superfícies dos ambientes hospitalares contribuírem para a transmissão de patógenos relacionados aos cuidados de saúde depende de várias causas, como a capacidade dos patógenos em permanecer viáveis em uma variedade de superfícies secas, a frequência de

toque nas superfícies pelos pacientes e profissionais de saúde e os níveis de contaminação (BOYCE, 2007). Bactérias como MRSA, VRE e *C. difficile* possuem a capacidade de permanecerem viáveis em superfícies secas por longos períodos, até meses, facilitando sua transmissão no ambiente (BOYCE, 2007).

Em vista disso, há um grande interesse na produção de superfícies comerciais higiênicas para o controle de infecções bacterianas, diminuição de doenças causadas por fungos, prevenção de perdas econômicas industriais causadas pela bioincrustação e melhora da funcionalidade e aparência estética das superfícies (DOMINGUEZ-WONG et al., 2014; HENDESSI et al., 2016; TORNERO et al., 2018).

Atualmente, há várias maneiras de obter superfícies higiênicas, sendo a incorporação de nanopartículas com ação antimicrobiana nas tintas uma estratégia que tem se apresentado eficaz (HENDESSI et al., 2016). A utilização das nanopartículas está crescendo devido suas pequenas dimensões e alta área superficial que proporcionam um maior contato com os microrganismos, além disso, a resistência aos antibióticos apresentada pelos microrganismos é insignificante para as nanopartículas, visto que o modo de ação das nanopartículas finalizam no contato com a parede celular e a destruição das células dos microrganismos (OGUNSONA et al., 2019).

Destacando a importância das tintas no controle de microrganismos em um ambiente, o objetivo da revisão sistemática foi identificar tintas à base d'água aditivadas com nanopartículas com propriedade antimicrobiana que podem ser aplicadas em ambientes que demandam melhores condições de higiene e salubridade.

### MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo se trata de uma revisão sistemática desenvolvida pelo cumprimento de três fases: planejamento, condução e análise dos resultados, seguindo as orientações definidas por Biolchini et. al. (2007) e Kitchenham (2004).

Conforme o protocolo elaborado na etapa de planejamento, cumpriu-se a busca dos artigos nas bases de dados: Science Direct, PubMed Central, Springer Link e Web of Science, utilizando a seguinte string de palavras-chave: (Coating OR Paint) AND (waterborne OR "water-based") AND (Antimicrobial OR Antibacterial OR Antifungal) AND Nanoparticles AND Hospital. As fontes selecionadas são bases de dados eletrônicas da área, com presença de mecanismos de busca, disponíveis via Web e que permitem o acesso pelo Portal Periódicos da CAPES.

Com a finalidade de encontrar os trabalhos relevantes, foram definidos os idiomas: língua inglesa e língua portuguesa, e os critérios de inclusão: 1. Trabalhos publicados e

disponíveis integralmente em bases de dados científicas; 2. Trabalhos publicados a partir de 2009; 3. Trabalhos na modalidade de artigos de pesquisa original ou short communication; 4. Trabalhos que abordam tintas à base d'água aditivadas com nanopartículas com propriedade antimicrobiana que podem ser aplicadas em ambientes que demandam melhores condições de higiene e salubridade. Os critérios de exclusão foram aqueles trabalhos: 1. Indisponíveis integralmente nas bases de dados pesquisadas; 2. Publicados anteriormente à 2009; 3. Nas demais modalidades de formato; 4. Que não contemplam o objetivo da pesquisa; 5. Duplicados (em mais de uma base de dados).

O processo de seleção dos artigos incluiu a leitura dos resumos para uma pré-avaliação, que determinou aqueles que foram excluídos, incluídos ou lidos integralmente em caso de dúvida. Todos os trabalhos foram documentados no "Formulário de Condução da Revisão", com a justificativa de inclusão ou exclusão, sendo que os artigos excluídos foram confirmados pela maioria dos autores.

Os dados dos artigos foram sistematizados em tabela no software Excel, com a extração de informações básicas (título, autores, periódico, data de publicação, resumo e base de dados encontrada) e os seguintes atributos: tipo de tinta à base d'água, nanopartícula empregada, avaliação da ação antimicrobiana das tintas e resultados encontrados. Em seguida, os dados foram organizados em quadros ou figuras, com posterior análise e discussão dos resultados.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca nas bases de dados, na qual foram empregados filtros de período de publicação (2009 a 2019) e de modalidade de trabalho (artigo de pesquisa original ou short communication) quando disponíveis na plataforma, resultou em um total de 197 registros. Após a aplicação dos critérios de exclusão, foram eliminados: 83 estudos em formatos diferentes daqueles de interesse, 91 artigos que não atendem o objetivo da pesquisa e 11 artigos duplicados. Dessa forma, resultaram 12 artigos que integraram a presente revisão sistemática (figura 01).

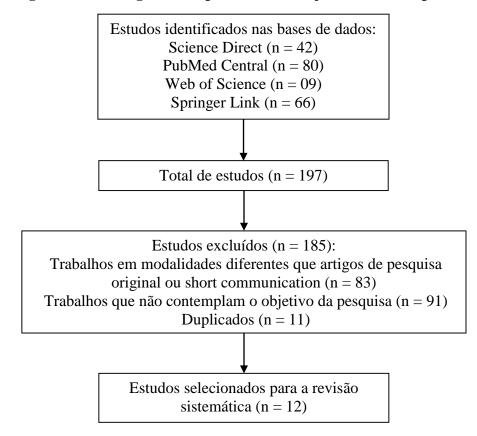


Figura 01 - Fluxograma do processo de seleção dos estudos para a revisão.

O número crescente de estudos nas últimas décadas sobre organismos que destroem as superfícies dos materiais de construção e das tintas, passaram a incluir, mais recentemente, pesquisas envolvendo a aplicação de nanomateriais para a melhoria das propriedades das tintas e de seu caráter antimicrobiano (KAISER; ZUIN; WICK, 2013). Nos estudos selecionados para a revisão sistemática, observa-se na figura 02 a ausência de trabalhos nos anos 2009, 2010 e 2011, e a pequena quantidade de estudos em 10 anos, apenas 12.

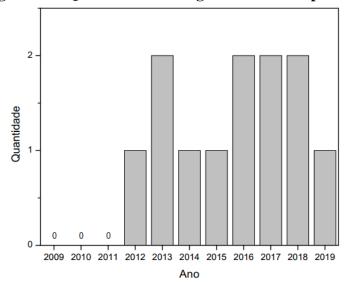


Figura 02 – Quantidade de artigos selecionados por ano.

O quadro 01 sintetiza os diferentes tipos de tinta à base d'água empregados, as nanopartículas com propriedades antimicrobianas incorporadas, os tipos de testes empregados para a avaliação da ação antimicrobiana das tintas e os microrganismos testados.

Quadro 01 – Síntese das informações dos trabalhos.

Tinta	Nanopartículas (NPs)	Teste/Avaliação da ação antimicrobiana da tinta	Microrganismos testados	Referência
Acrílica à base d'água	Pó de cerâmica de vidro com cristais de cuprita	Teste US EPA, teste virucida adaptado de Haldar (2007) e teste ASTM D2574	Bactérias Staphylococcus aureus, Klebsiella aerogenes, Pseudomonas aeruginosa e Escherichia coli; Norovírus murino	GROSS et al., 2019
Acrílica à base d'água	NPs de prata	Teste ASTM D5590 e observação dos filmes por microscopia eletrônica de varredura ambiental (ESEM)	Fungos Alternaria alternata e Chaetomium globosum; Bactérias Escherichia coli e Staphylococcus aureus	BARBERIA- ROQUE et al., 2018

Látex PVA à base d'água	NPs de Óxido de Zinco parcialmente revestidas com NPs de Prata	Ensaio ISO 22196:2007 e Teste de difusão em ágar.	Bactérias Listeria monocytogenes, Salmonella senftenberg, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus e esporos de Bacillus subtilis e o fungo Aspergillus niger;	TORNERO et al., 2018
Acrílica à base d'água	NPs comerciais metálicas (combinação de vários metais) e NPs de Óxido de Zinco	Ensaio de difusão em disco de Kirby-Bauer	Fungos Aspergillus flavus e Aspergillus fumigatus	AUYEUNG et al., 2017
Acrílica à base d'água	Partículas de Sílica e NPs de Prata.	Teste ASTM D5590 e observação dos filmes por microscopia eletrônica de varredura (SEM)	Fungos Alternaria alternata e Chaetomium globosum	ARRECHE et al., 2017
Poliuretânica à base d'água	Nanocompósitos de carvacrol encapsulados por nanotubos de halloysite (HNTs)	Teste de difusão em ágar, ensaio de viabilidade celular (coloração Baclight Live/Dead) e observação dos filmes por microscopia confocal de varredura a laser	Bactéria Aeromonas hydrophila	HENDESSI et al., 2016
Poliuretânica à base d'água	Lisozima	Ensaio de viabilidade celular (coloração Baclight Live/Dead)	Bactérias Escherichia coli e Staphylococcus aureus	LIU et al., 2016
Acrílica à NPs de prata, Cobre e Óxido de		Teste ASTM D5590 e observação dos filmes por microscopia eletrônica de varredura (SEM)	Fungos Alternaria alternata e Chaetomium globosum	BELLOTTI et al., 2015
Acrílica à de Titânio decoradas com NPs de Prata		Teste adaptado de ASTM G22-76 e norma JIS Z2801	Bactérias Escherichia coli e Staphylococcus aureus resistente à meticilina	DOMINGUEZ- WONG et al., 2014
Acrílica à base d'água	NPs de prata	Teste STAS 12719	Bactérias Staphylococcus aureus e Bacillus cereus	GURAN et al., 2013
Acrílica à base d'água	NPs de Dióxido de titânio	Teste de contagem de células em placas	Bactérias Staphylococcus aureus, Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa	ZUCCHERI et al., 2013

Comercial não especificada à base d'água	Vanadato de prata	Teste de difusão em ágar	Bactéria Staphylococcus aureus resistente à meticilina	HOLTZ et al., 2012
---	----------------------	-----------------------------	--	-----------------------

As tintas utilizadas nos estudos foram aquelas com resinas acrílicas, poliuretânicas e látex PVA (vinílica). As tintas látex PVA, que incluem emulsões de poli (acetato de vinila), são mais restritas às formulações de produtos de baixo valor por apresentarem propriedades inferiores à tinta acrílica, que apresentam melhor poder de cobertura, nivelamento, resistência e custo inferior, tornando-a largamente empregada (PILZ, 2004). As tintas poliuretânicas são tintas especiais, com propriedades melhoradas, como resistência química, aderência e durabilidade.

As nanopartículas metálicas foram largamente empregadas nos estudos selecionados, estando presente em 11 deles, restando apenas a Lisozima, visto que nanotubos de halloysite (HNTs) são nanopartículas tubulares ocas de silicato de alumínio usadas para o encapsulamento (HENDESSI et al., 2016) e que nanocristais de cuprita são óxidos de cobre (Cu<sub>2</sub>O) (GROSS et al., 2019). Dentre as nanopartículas metálicas, as de prata são as mais comuns, sejam elas usadas como aditivo de forma isolada ou em combinação com outro nanomaterial, isso se deve ao reconhecido efeito antimicrobiano da prata. O quadro 02 mostra que a maioria das nanopartículas apresentam tamanho médio inferior à 100 nm, chegando ao mínimo de 5 nm de diâmetro com as NPs de prata do estudo do Holtz et al. (2012).

Ouadro 02 – Tamanho das Nanopartículas.

Quanto of turning day i (unopur violand)			
Nanopartículas (NPs)	Tamanho das nanopartículas	Referência	
Pó de cerâmica de vidro	Cerâmica de vidro com cobre - 2.5 μm a 5.0 μm	GROSS et al.,	
com cristais de cuprita	Cristais de Cuprita - tamanho médio de 300 nm	2019	
NPs de prata	Prata (Equisetum giganteum) - 12,0 ± 0,6 nm	BARBERIA- ROQUE et al., 2018	
NPs de Óxido de Zinco parcialmente revestidas com NPs de Prata	Zinco e Prata - tamanho médio de 35 nm	TORNERO et al., 2018	
NPs comerciais metálicas (combinação	Metálicas - tamanho médio de 7 nm	AUYEUNG et	
de vários metais) e de Óxido de Zinco	Óxido de Zinco - tamanho médio de 477 nm	al., 2017	
Partículas de Sílica e NPs de Prata	Sílica – 50 nm a 0,3 μm com aglomerados NPs de 10 e 20 nm	ARRECHE et al., 2017	
TVI 5 GC I Tata	Prata - Aproximadamente 10 nm	ai., 2017	

Nanocompósitos de carvacrol encapsulados por nanotubos de halloysite (HNTs)	Indefinido	HENDESSI et al., 2016
Lisozima	Indefinido	LIU et al., 2016
	Prata (sem irradiação de luz UV) - tamanho médio de 10 nm	
NPs de prata, Cobre e Óxido de Zinco	Prata (com irradiação de luz UV) - tamanho médio de 62 nm	BELLOTTI et al., 2015
	Cobre - Tamanho médio de 20 nm	
	Zinco - 40 a 50 nm	
NPs de Dióxido de	Dióxido de Titânio - tamanho médio de 279 nm	DOMINGUEZ-
Titânio decoradas com NPs de Prata	Prata - tamanho médio de 16,2 nm	WONG et al., 2014
NPs de prata	40 a 60 nm	GURAN et al., 2013
NPs de Dióxido de titânio	Tamanho médio de 22 nm	ZUCCHERI et al., 2013
Vanadato de prata	Nanofios de vanadato de prata - comprimento micrométrico e largura de 20 a 60 nm	HOLTZ et al., 2012
	NPs de Prata - 5 a 40 nm	2012

### Atividade antifúngica

A atividade antifúngica das tintas à base d'água com nanopartículas incorporadas foi observada contra diferentes fungos, como: *Alternaria alternata, Chaetomium globosum, Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger*.

Arreche et al. (2017), através do teste ASTM D5590, constataram que as amostras de tinta acrílica com aditivos siliciosos que continham também prata apresentaram um menor crescimento de fungos e maior efeito de inibição, com um crescimento moderado contra o *A. alternata* e vestígios de crescimento (<10%) contra o *C. globosum*. A observação dos filmes por microscopia eletrônica de varredura (SEM) mostrou que a germinação de esporos e o desenvolvimento de hifas após 04 semanas foram inibidos somente nos aditivos com prata.

Os fungos *A. alternata* e *C. globosum* também tiveram o seu desenvolvimento inibido pela tinta acrílica com adição de: nanopartículas de prata sintetizada a partir do extrato da planta *Equisetum giganteum* (BARBERIA-ROQUE et al., 2019), nanopartículas de prata sintetizadas quimicamente com e sem radiação de luz UV e nanopartículas de cobre, no entanto, as NPs de óxido de zinco não foram eficazes (BELLOTTI et al., 2015).

Nanopartículas comerciais metálicas (compostas por alumínio, silício, prata, cobre, titânio, oxigênio e carbono) e de óxido de zinco incorporadas em tinta acrílica testadas por

Ensaio de difusão em disco de Kirby-Bauer contra as duas linhagens de fungos *Aspergillus*, *flavus* e *fumigatus*, apresentaram halo de inibição significativo quando incubadas sob luz fluorescente e nenhum resultado no escuro, indicando uma ativação das NPs pela luz (AUYEUNG et al., 2017).

Diferente das tintas antifúngicas que eram acrílicas, citadas anteriormente, Tornero et al. (2018) adicionaram NPs de óxido de zinco parcialmente revestidas com NPs de Prata (ZnO-Ag) em tinta látex PVA. O teste de difusão em ágar apresentou halo de inibição contra o fungo *Aspergillus niger* e o seu efeito máximo para uma menor quantidade de ZnO-Ag ocorreu quando combinado com biocidas tradicionais.

### Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana das tintas à base d'água com nanopartículas incorporadas foi observada contra diferentes bactérias, como: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus resistente à meticilina, Klebsiella aerogenes, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Aeromonas hydrophila, Listeria monocytogenes, Salmonella senftenberg e Bacillus subtilis.

A tinta aditivada com nanopartículas de prata do extrato *Equisetum giganteum* também foi observada contra bactérias, as *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A leitura dos filmes por microscopia eletrônica de varredura ambiental (ESEM), mostrou um crescimento bacteriano na tinta controle (padrão) e nenhum crescimento nos filmes aditivados para ambas bactérias (BARBERIA-ROQUE et al., 2019).

As bactérias *E. coli* e *S. aureus* foram as mais testadas contra os filmes de tinta. Na dispersão catiônica a base d'água de poliuretano-acrilato à base de óleo de mamona curável por UV e lisozima modificada de ligação dupla, obteve-se um revestimento altamente eficiente em matar *S. aureus* (91,3%) e *E. coli* (62,9%) por degradação da parede celular em duas horas, conforme ensaio de viabilidade celular (coloração Baclight Live/Dead) (LIU et al., 2016).

Nos estudos de Zuccheri et al. (2013) e Gross et al. (2019), as tintas acrílicas aditivadas, respectivamente, com NPs de dióxido de titânio e pó de cerâmica de vidro com cristais de cuprita, apresentaram efeitos antimicrobianos contra *E. coli, S. aureus* e *P. aeruginosa*. O filme de dióxido de titânio em concentração de 2% em volume mostrou enorme atividade bactericida fotocatalítica ativada por lâmpada fluorescente. O teste US EPA para a tinta com pó de cerâmica vidro-cobre na concentração de 26 g/L exibiu redução maior ou igual a 99,9%, em duas horas, nas contagens de colônias das bactérias mencionadas e também da *K. aerogenes*. Gross et al (2019) testaram ainda a tinta contra o Norovírus murino pelo teste virucida adaptado de Haldar

(2007) e como conservante em lata de emulsões de tinta pelo teste ASTM D2574 contra *P. aeruginosa* e *K. aerogenes*, em ambos os testes os resultados foram eficazes.

Nanopartículas de dióxido de titânio também mostraram efeito antibacteriano quando decoradas por NPs de prata e adicionadas em tinta comercial acrílica. As superfícies de vidro pintadas com essa tinta aditivada mostraram inibição na superfície de contato contra E. coli, enquanto no ensaio da norma JIS Z2801, houve uma redução significativa das unidades formadoras de colônias (UFC) de E. coli e Staphylococcus aureus resistente à meticilina, em condições de alta umidade relativa (DOMINGUEZ-WONG et al., 2014). Em uma tinta comercial acrescida de vanadato de prata na concentração de 1% (m/v), a bactéria S. aureus resistente à meticilina apresentou zona de inibição de 4 mm, enquanto a tinta comercial controle não apresentou inibição (HOLTZ et al., 2012).

A ação antibacteriana das nanopartículas de prata foi reafirmada por Guran et al. (2013) quando usadas como aditivos da tinta acrílica em diferentes concentrações, resultando em inibição entre 87 e 99% para o *S. aureus* e valor semelhante para o *Bacillus cereus*. Além disso, NPs de prata revestindo parcialmente NPs de óxido de zinco, nas concentrações de 0,15% e 0,30% em uma tinta látex PVA, podem inibir significativamente o crescimento de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella senftenberg*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (TORNERO et al., 2018).

Diferentemente dos demais trabalhos, Hendessi et al. (2016) buscaram o efeito antimicrobiano a partir do uso de carvacrol, componente ativo do óleo essencial de tomilho e o encapsulou com nanotubos de halloysite (HNT). O filme de poliuretano com HNT e carvacrol apresentou halo de inibição contra a bactéria *Aeromonas hydrophila* e no ensaio de viabilidade celular foi demonstrada a capacidade desses filmes em matá-las, devido a liberação sustentada de carvacrol.

### Durabilidade da ação antimicrobiana

As tintas aditivadas com nanopartículas, de modo geral, apresentaram efeito antimicrobiano contra diferentes bactérias, fungos e um vírus, porém, é importante destacar o efeito a longo prazo do filme para garantir sua efetividade nos ambientes de interesse. Os filmes preparados a 45 dias com nanotubos de halloysite carregados com carvacrol apresentaram o mesmo efeito antimicrobiano, do mesmo modo que, tintas acrílicas com Pó de cerâmica de vidro com cristais de cuprita ou partículas de sílica com NPs de Prata mostraram conservação do seu efeito em 6 meses após a aplicação (ARRECHE et al., 2017; GROSS et al., 2019; HENDESSI et al., 2016).

A lixiviação das NPs e a resistência à limpeza são fatores que podem comprometer significativamente a vida útil da tinta. Os resultados dos estudos de Bellotti et al. (2015), Dominguez-Wong et al. (2014) e Guran et al. (2013) indicaram que não houve lixiviação, seja pela ausência de um halo de inibição ao redor dos filmes ou da detecção do pico das NPs na água de lavagem. Além disso, filmes submetidos a 06 ciclos de lavagem com 4 h cada ou 48 ciclos que representam 4 anos de limpeza mantiveram seu desempenho antimicrobiano (GROSS et al., 2019; GURAN et al., 2013).

### **CONCLUSÕES**

A partir do levantamento e análise dos 12 trabalhos selecionados foi possível identificar os tipos de tintas à base d'água empregados, as nanopartículas com efeito antimicrobiano empregadas, os testes de avaliação da ação antimicrobiana, os microrganismos testados e o resultado do material.

A maioria das tintas à base d'água são do tipo acrílica e as nanopartículas mais empregadas foram as metálicas, com destaque para a prata. Os ensaios que avaliaram os filmes contra os diferentes microrganismos mostraram que em todos os trabalhos ao menos uma formulação da tinta possui efeito antimicrobiano.

O artigo de revisão sistemática apresenta como principal contribuição o panorama da aplicação das nanopartículas em tintas à base d'água e sua possibilidade de aplicação em ambientes que demandam melhores condições de higiene e salubridade, sendo relevante para o emprego em ambientes hospitalares, creches, asilos, prédios com umidade, dentre outros.

### CAPÍTULO II

SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR REDUÇÃO QUÍMICA COM DIFERENTES ESTABILIZANTES

### CAPÍTULO II - Síntese de nanopartículas de prata por redução química com diferentes estabilizantes

### **RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata produzidas por redução química e estabilizadas por diferentes polímeros. As nanopartículas de prata foram sintetizadas pelo método de redução química com o nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) como material precursor e o borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) como agente redutor, além dos agentes estabilizantes polivinilpirrolidona (PVP), álcool polivinílico (PVA), polietilenoglicol (PEG) e carboximetilcelulose sódica (CMC). As nanopartículas foram caracterizadas por espectrofotômetro UV-Vis, técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial Zeta e microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MEV-FEG). A avaliação da ação antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em ágar por poço contra as bactérias Escherichia coli (ATCC 25922), Klebsiella pneumoniae (ATCC 4352), Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Streptococcus pneumoniae (ATCC 49619) e contra o fungo Candida albicans (ATCC 24433). Todas as sínteses realizadas com variação do estabilizante formaram nanopartículas de prata, com tamanho médio inferior a 50 nm para todas elas, exceto aquelas com PVP 1,0% e CMC 0,3% e 1,0% com tamanhos próximos a 100 nm. Todas as nanopartículas sintetizadas apresentaram alta polidispersividade e apenas aquelas com CMC e sem estabilizante adicional mostraram elevada estabilidade. Como esperado para essa rota de síntese, as nanopartículas apresentaram formato esférico. No ensaio poço difusão, as bactérias K. pneumoniae, S. aureus, S. pneumoniae e o fungo C. albicans tiveram seu crescimento inibidos pela maioria das variações de nanopartículas de prata, com exceção da *E. coli* que não apresentou inibição para todas.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata. Estabilizantes. Nanotecnologia

#### **ABSTRACT**

The present work aimed to synthesize, characterize and evaluate the antimicrobial activity of silver nanoparticles produced by chemical reduction and stabilized by different polymers. Silver nanoparticles were synthesized by the chemical reduction method with silver nitrate (AgNO<sub>2</sub>) as precursor material and sodium borohydride (NaBH<sub>4</sub>) as reducing agent, in addition to stabilizers polyvinylpyrrolidone (PVP), polyvinyl alcohol (PVA), polyethylene glycol (PEG) and sodium carboxymethylcellulose (CMC). The nanoparticles were characterized by UV-Vis spectrophotometer, dynamic light scattering technique (DLS), Zeta potential and field emission scanning electron microscopy (SEM-FEG). Evaluation of antimicrobial action was determined by the agar well diffusion method against the bacteria Escherichia coli (ATCC 25922), Klebsiella pneumoniae (ATCC 4352), Staphylococcus aureus (ATCC 25923), and Streptococcus pneumoniae (ATCC 49619) and against the fungus Candida albicans (ATCC 24433). All syntheses performed with stabilizer variation formed silver nanoparticles, with an average size of less than 50 nm for all, except those with PVP 1.0% and CMC 0.3% and 1.0% with sizes close to 100 nm. All synthesized nanoparticles showed high polydipersity and only those with CMC and no additional stabilizer showed high stability. As expected for this synthesis route, the nanoparticles were spherical in shape. In the well diffusion assay, the bacteria K. pneumoniae, S. aureus, S. pneumoniae and the fungus C. albicans had their growth inhibited by most variations of silver nanoparticles, except for E. coli which did not show inhibition for all.

**Keywords:** Silver nanoparticles. Stabilizers. Nanotechnology

### INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é um campo de pesquisa com grande relevância na atualidade, abordando o design, a síntese e a manipulação de partículas em escalas nanométricas, sendo definidos como nanomateriais aqueles com dimensões entre 1 e 100 nm (IRAVANI et al., 2014). As nanopartículas metálicas devido suas propriedades físicas, químicas e biológicas consideravelmente diferentes daquelas em escala macro (decorrente da relação entre a elevada área superficial e o volume) estimularam um número substancial de pesquisas (EL-NOUR et al., 2010). Dentre as nanopartículas metálicas, destacam-se as nanopartículas de prata, que apresentam boa condutividade, estabilidade química, características elétricas e óticas únicas e propriedades antibacterianas e antifúngicas, sendo empregadas em diversos setores, como ciências médicas, indústria alimentícia e de tintas (BARBERIA-ROQUE et al., 2019; KHODASHENAS; GHORBANI, 2015).

As propriedades das nanopartículas de prata são influenciadas, significativamente, pelo seu formato e dimensão. Dessa forma, vários métodos com o esforço de controlar sua morfologia foram desenvolvidos, como a redução química, eletroquímica, deposição a laser, irradiação com raios gama, irradiação por feixe de elétrons e métodos hidrotérmicos (LI et al., 2012). A síntese mais comum é a de redução química com agentes redutores orgânicos ou inorgânicos, como citrato de sódio, ascobato, borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>), hidrogênio elementar, processo do poliol, reativo de tollens, N,N-Dimetilformamida (DMF) e copolímeros de polietilenoglicol (PEG), que reduzem os íons de prata em prata metálica (IRAVANI et al., 2014).

O formato e a dimensão das nanopartículas de prata dependem das condições do processo de síntese, como a temperatura, concentração do precursor da prata, o pH da solução, a razão entre o estabilizante e precursor da prata, dos diferentes agentes redutores usados e do método de síntese (KHODASHENAS; GHORBANI, 2015). Além disso, a funcionalização da superfície é um outro fator importante nas propriedades das nanopartículas, no qual as modificações superficiais apropriadas estão relacionadas com o emprego de estabilizantes para controlar a agregação, sedimentação e oxidação das nanopartículas (BURKOWSKA-BUT; SIONKOWSKI; WALCZAK, 2014).

As nanopartículas em soluções, geralmente, constituem um sistema coloidal pouco estável, com a tendência em diminuírem sua alta energia superficial com a agregação ou aglomeração (MADKOUR; BUMAJDAD; AL-SAGHEER, 2019). Como as distâncias interpartículas são pequenas, as nanopartículas adjacentes tendem a se atrair através das forças de Van der Waals na ausência de forças repulsivas, uma forma de garantir a estabilidade das

nanopartículas é com a presença de um agente estabilizante sobre sua superfície (MADKOUR; BUMAJDAD; AL-SAGHEER, 2019).

Os compostos poliméricos são um dos compostos químicos usados como estabilizantes na produção de nanopartículas, como polivinilpirrolidona (PVP), álcool polivinílico (PVA), polietilenoglicol (PEG) e carboximetilcelulose sódica (CMC), que apresentam resultados para a redução da agregação de nanopartículas de prata e não proporcionaram efeito citotóxico em células humanas, sendo largamente usadas em campos de aplicação biomédica, de alimentos e cosméticos (BURKOWSKA-BUT; SIONKOWSKI; WALCZAK, 2014; PINZARU et al., 2018; VERKHOVSKII et al., 2019).

Apesar do uso de estabilizantes poliméricos ser comum para a síntese de nanopartículas, ainda há uma carência de trabalhos comparando diferentes estabilizantes para idêntica rota de síntese. À vista disso, esse trabalho teve como objetivo sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata produzidas por redução química e estabilizadas por diferentes polímeros.

### MATERIAIS E MÉTODOS

### **Materiais**

Os reagentes nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) (Sigma-Aldrich) e borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) (Aldrich), os estabilizantes polivinilpirrolidona (PVP) (Himedia), álcool polivinílico (PVA) (Aldrich), polietilenoglicol (PEG) (Synth) e carboximetilcelulose sódica (CMC) (Zibo Hailan) foram utilizados para a síntese das nanopartículas. A água utilizada para a preparação das soluções foi ultrapurificada pelo equipamento Master System 2000 Gehaka. Antes da execução dos experimentos, toda a vidraria foi limpa com potassa alcoólica e água destilada.

### Síntese das AgNPs

As nanopartículas de prata foram sintetizadas pelo método de redução química com o nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) como material precursor e o borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) como agente redutor, conforme Junior et al. (2012) e Solomon et al. (2007). Evidencia-se que 75 mL de uma solução de NaBH<sub>4</sub> na concentração 0,002M foi adicionada a um Erlenmeyer de 250 mL, e esse recipiente permaneceu em banho de gelo por 15 minutos antes da reação. A redução da prata ocorreu através do gotejamento de 25 mL de solução de AgNO<sub>3</sub> na concentração 0,001M no Erlenmeyer com NaBH<sub>4</sub>, sob agitação magnética vigorosa e banho de gelo.

Os estabilizantes PVP, PVA, PEG e CMC foram empregados na síntese das nanopartículas nas concentrações 0,3% e 1,0% e proporção de 1:2 com a solução AgNO<sub>3</sub>, conforme quadro 01. Portanto, 12,5 mL de solução 0,3% ou 1,0% do estabilizante foi adicionada ao Erlenmeyer e misturada com a solução NaBH<sub>4</sub>, antes do banho de gelo. O restante do processo de síntese não teve diferenças em relação àquela com apenas borohidreto de sódio e nitrato de prata. Todas as variações de síntese de AgNPs foram realizadas em triplicata para garantir sua reprodutibilidade. A concentração final de prata na solução P1 é de 26,97 μg/mL e para aquelas com estabilizantes é 23,97 μg/mL.

Quadro 01 – Amostras sintetizadas e os respectivos estabilizantes.

	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
Amostra	Estabilizante
P1	Sem estabilizante adicional
P2	PVA 0,3%
P3	PVA 1,0%
P4	PVP 0,3%
P5	PVP 1,0%
P6	PEG 0,3%
P7	PEG 1,0%
P8	CMC 0,3%
P9	CMC 1,0%

Fonte: Resultado da pesquisa.

### Caracterização das AgNPs

As soluções finais da síntese foram avaliadas por um espectrofotômetro UV-Vis, modelo UV-1650PC da Shimadzu, na região de absorbância de 300 a 600nm para a confirmação da presença de nanopartículas metálicas e sua estimativa de tamanho. A técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) foi usada para a medir diâmetro hidrodinâmico (Z-average), a distribuição de tamanho e a polidispersividade (PDI). O equipamento utilizado para a técnica DLS, o Zetasizer nano-ZS90 da Malvern, também mensurou o potencial Zeta para a observação da estabilidade. A análise DLS e potencial Zeta foram realizadas em triplicata para cada solução preparada.

Com a finalidade de confirmar o formato das nanopartículas, as amostras P1 e P9 foram analisadas por microscopia eletrônica. As amostras foram depositadas sobre tela de cobre 400 mesh recoberta com filme de carbono. As imagens foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (MEV-FEG) JEOL JSM-7100F com um detector de elétrons transmitidos (STEM) Deben Gen5 com tensão de aceleração de elétrons de 30 kV.

#### Teste antimicrobiano

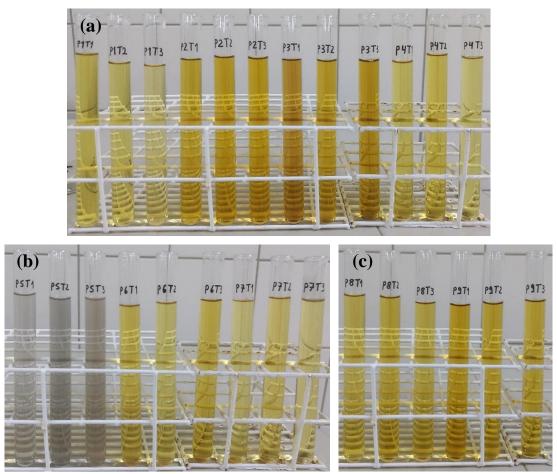
A atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em ágar por poço, adaptado de NCCLS (2003), contra as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619) e contra o fungo *Candida albicans* (ATCC 24433). As bactérias e a *C. albicans* foram cultivadas à 37 °C no meio Luria-Bertani por 4 a 6 h e tiveram suas suspensões ajustadas na turbidez 0,5 na escala Mc Farland para as bactérias e 1,0 para o fungo. Em seguida, placas de Petri com ágar Mueller Hinton ou Sabouraud Dextrose foram inoculadas com as bactérias e *C. albicans*, respectivamente, por um swab estéril. Com o auxílio de um molde, poços foram realizados nas placas de Petri e preenchidos com 20 μL e 50 μL das soluções de nanopartículas de prata. Posteriormente, as placas foram incubadas por 24 h na estufa à 37 °C. As soluções que apresentaram inibição ao redor do poço, tiveram seus halos medidos em milímetros com auxílio de uma régua milimetrada. Todas os testes foram realizados em triplicata.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

## Síntese e caracterização das Nanopartículas de Prata

As soluções coloidais resultantes do processo de síntese das nanopartículas de prata apresentaram diferentes tonalidades de amarelo em todas as variações de estabilizantes, exceto para as nanopartículas com PVP a 1,0% (P5) que mostraram cor cinza, conforme a figura 01. A cor amarela sinaliza para a formação de nanopartículas de prata, sendo característica em formatos esféricos e tamanhos reduzidos, diferentemente do cinza em escala macroscópica (JUNIOR et al., 2012). Essa alteração nas cores das soluções é resultante da interação entre as ondas eletromagnéticas e os elétrons da banda de condução do metal, no efeito conhecido como Ressonância Plasmônica de Superfície, e que está relacionado com o tamanho médio das partículas (MARTINS; TRINDADE, 2012). A solução com PVP a 1,0% sugere que as nanopartículas possuem maior tamanho e uma estabilidade inferior que as demais soluções, inclusive com visível agregação do material.

Figura 01 – Solução das diferentes sínteses: (a) P1, P2, P3 e P4, (b) P5, P6, P7 e (c) P8 e P9.



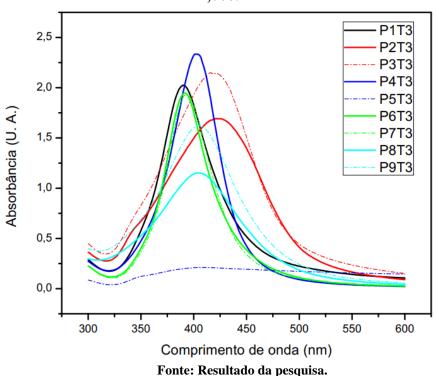
Fonte: Resultado da pesquisa.

A espectroscopia UV-Vis é uma das técnicas mais utilizadas para a caracterização de nanopartículas devido à grande sensibilidade para a presença de nanopartículas de prata, que apresentam um pico de absorção intenso na faixa de 350 a 450 nm, em consequência da Ressonância Plasmônica de Superfície (RASHID; BHUIYAN; QUAYUM, 2013). Na análise dos espectros de UV-Vis das soluções é possível observar uma banda com maior absorbância próxima a 400 nm em todas as amostras, demonstrando a formação de nanopartículas de prata (figura 02).

No que se refere ao tamanho das nanopartículas, esse pode ser estimado a partir do comprimento de onda dos picos ( $\lambda_{m\acute{a}x}$ ), onde  $\lambda_{m\acute{a}x}$  inferiores a 420 nm sugerem partículas com diâmetros menores que 50 nm (SOLOMON et al., 2007). Os valores dos comprimentos de onda para as variações de estabilizante estão presentes na tabela 01, apontando que as nanopartículas sintetizadas apresentam diâmetros inferiores ou próximos a 50 nm.

A intensidade do pico da solução P5T3 é baixa e sinaliza que há um número inferior de nanopartículas de prata, provavelmente por efeito da agregação. Essa situação corrobora com o aspecto visual já mencionado para a adição de PVP a 1%. Cabe destacar que as soluções com PVA (P2T3 e P3T3) e CMC (P8T3 e P9T3) possuem curvas com caldas mais abertas, ou seja, com maior largura à meia altura, resultando em uma faixa de distribuição de tamanho mais ampla (ANDRADE, 2013).

figura 02 – Espectros de absorbância de uma triplicata das soluções sem estabilizante adicional, PVA 0,3% e 1,0%, PVP 0,3% e 1,0%, PEG 0,3% e 1,0% e CMC 0,3% e 1,0%.



Os resultados das soluções obtidos através do Zetasizer, como o diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersividade (PDI) e potencial Zeta ( $\zeta$ ), estão presentes na tabela 01. Com exceção das soluções com estabilizante PVP 1,0% ou CMC 0,3% e 1,0%, todas apresentaram diâmetro hidrodinâmico menor que 50 nm, em concordância com a estimativa de tamanho baseada na análise UV-Vis.

Tabela 01 – Valores das análises UV-Vis, DLS e Potencial Zeta das soluções sem estabilizante adicional, PVA 0,3% e 1,0%, PVP 0,3% e 1,0%, PEG 0,3% e 1,0% e CMC 0,3% e 1.0%.

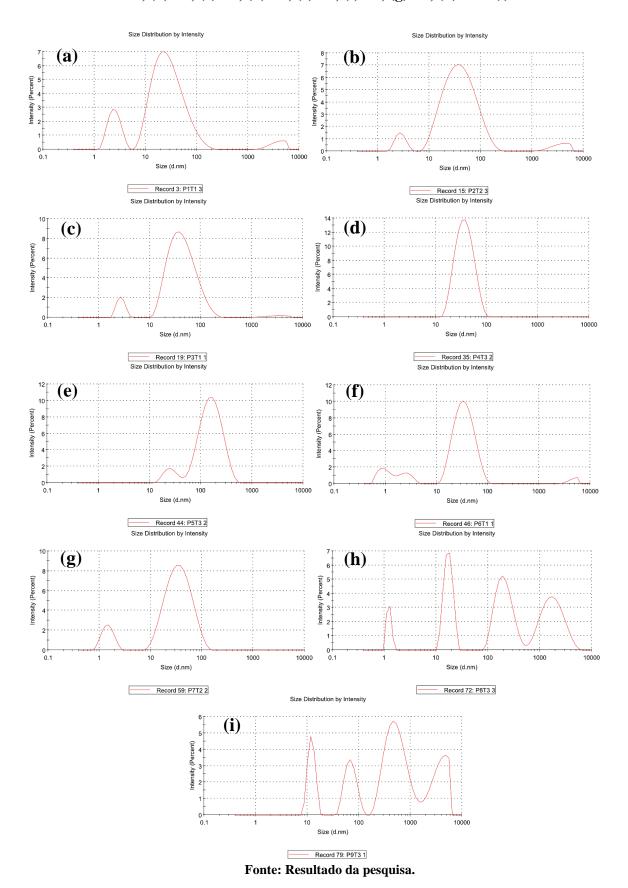
		0,5 /0 € 1,6	770•	
Solução	λmáx (nm) (N = 3)	Diâmetro hidrodinâmico (nm) $(N = 9)$	PDI (N = 9)	Potencial Zeta (mV) (N = 9)
P1	$391,7 \pm 2,8$	$13,9 \pm 2,0$	$0,539 \pm 0,244$	$-25,3 \pm 3,5$
P2	$421,7 \pm 2,2$	$26,7 \pm 4,8$	$0,513 \pm 0,040$	-15,7 ± 1,1
Р3	$416,0 \pm 0$	$21,4 \pm 2,0$	$0,583 \pm 0,030$	$-11,5 \pm 2,0$
P4	$402,7 \pm 0,6$	$29.7 \pm 3.4$	$0,312 \pm 0,128$	$-7.9 \pm 1.6$
P5	$413,2 \pm 3.7$	$104,0 \pm 3,6$	$0,389 \pm 0,044$	$-10.9 \pm 1.5$
P6	$391,5 \pm 0,4$	$20.9 \pm 3.0$	$0,592 \pm 0,106$	$-15,3 \pm 1,6$
P7	$393,3 \pm 1,0$	$20,0 \pm 3,3$	$0,580 \pm 0,111$	$-16,4 \pm 2,5$
P8	$404,3 \pm 0,6$	$78,4 \pm 40,5$	$0,852 \pm 0,082$	$-36,3 \pm 13,5$
P9	$405,7 \pm 0,5$	$113,2 \pm 22,1$	$0,933 \pm 0,073$	$-59,1 \pm 5,7$

Fonte: Resultado da pesquisa.

O diâmetro hidrodinâmico medido na técnica DLS não se resume ao núcleo metálico das nanopartículas, como nas medições por microscópios, mas também inclui as substâncias adsorvidas na superfície das nanopartículas (como estabilizantes) e a espessura da dupla camada elétrica que se move junto com a nanopartícula (TOMASZEWSKA et al., 2013).

O índice de polidispersividade (PDI) mede a amplitude da distribuição de tamanho ou o grau de aglomeração da amostra, variando de 0 a 1 (KAUR; GOYAL; KUMAR, 2018). Amostras com valores de PDI altos são mais polidispersas, enquanto valores baixos representam amostras monodispersas, e em casos de valores maiores que 1 a amostra é tão polidispersa que não é adequada para DLS (KAUR; GOYAL; KUMAR, 2018). O índice de polidispersividade (PDI) para nanopartículas de prata monodispersas é menor que 0,140 (TOMASZEWSKA et al., 2013). Dessa forma, todas as nanopartículas sintetizadas são polidispersas e adequadas para DLS, visto que os valores de PDI variam de 0,312 ± 0,128 para solução com PVP 0,3% até 0,933 ± 0,073 para solução com CMC 1,0%. A distribuição de tamanho das nanopartículas mensuradas pela técnica DLS presentes na figura 03, exemplificam os valores de PDI.

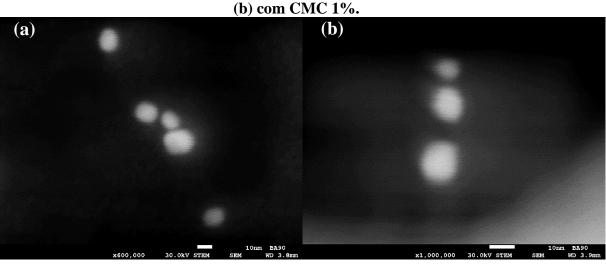
Figura 03 – Distribuição de tamanho das AgNPs medidas pela técnica de DLS para (a) P1, (b) P2, (c) P3, (d) P4, (e) P5, (f) P6, (g) P7, (h) P8 e (i) P9.



A estabilidade coloidal está relacionada com o valor do Potencial Zeta, no qual partículas com valores superiores a +30 mV ou inferiores a -30 mV apresentam altos graus de estabilidade (TUAN et al., 2015). Desse modo, as nanopartículas com estabilizante CMC 0,3% ou 1,0% que haviam apresentado um diâmetro médio e faixa de distribuição de tamanho relativamente maiores que as demais, exibiram elevada estabilidade coloidal. A situação de baixa estabilidade ocorre com os demais estabilizantes PVA, PVP e PEG, uma vez que a solução P1 com apenas AgNO<sub>3</sub> e NaBH<sub>4</sub> apresentou maior estabilidade, com ζ igual a -25,3 ± 3,5 mV. É importante destacar que a rota de síntese inicial (P1) inclui um excesso de borohidreto de sódio para que desempenhe a função de redutor da prata, mas também de estabilizante (JUNIOR et al., 2012; SOLOMON et al., 2007b; SONG et al., 2009). GARCIA (2011) ao comparar a estabilidade de nanopartículas sintetizadas por redução química com borohidreto de sódio e diferentes estabilizantes (PVP, PVA e CMC), também observou maior estabilidade para carboximetilcelulose sódica.

O formato das nanopartículas é de grande interesse, pois as propriedades dos materiais dependem do tamanho das nanopartículas, interações com o estabilizante e o meio circundante, do método de preparação, mas também do formato das nanopartículas (KHODASHENAS; GHORBANI, 2015). As imagens da figura 04 obtidas pelo microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo para nanopartículas sem estabilizante adicional (P1) e com carboximetilcelulose a 1,0% (P9) mostram partículas no formato esférico, em conformidade com Junior et al. (2012) e Solomon et al. (2007).

Figura 04 – Imagens MEV-FEG das AgNPs preparadas (a) sem estabilizante adicional,



Fonte: Resultado da pesquisa.

#### Avaliação da atividade antimicrobiana das Nanopartículas de Prata

A atividade antimicrobiana definida pelo ensaio de difusão em ágar por poço para soluções com 20 μL e 50 μL são apresentadas na tabela 02 e 03, respectivamente. Os valores do halo de inibição para poços preenchidos com 20 μL de solução de nanopartículas foram nulos contra as bactérias gram-negativas *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. As bactérias gram-positivas apresentaram inibição de crescimento na presença das AgNPs, principalmente a *Staphylococcus aureus*, porém, para as amostras com PVP a 1,0%, PEG 0,3% e 1,0% e CMC 0,3%, não houve inibição para *Streptococcus pneumoniae*. Os resultados contra as bactérias gram-negativas foram menos satisfatórios que as gram-positivas, da mesma forma que os trabalhos de Sadeghi et al. (2012) e Xu et al. (2006).

Tabela 02 – Valores do diâmetro da zona de inibição (mm) para 20 μL de solução, em

média e desvio padrão. si = sem inibição.

Amostra	Escherichia coli	Klebsiella pneumoniae	Staphylococcus aureus	Streptococcus pneumoniae	Candida albicans
P1			$\frac{aureus}{12,7 \pm 1,9}$	$6.0 \pm 4.3$	$8.0 \pm 0.0$
	S1	S1			
P2	si	si	$10.7 \pm 0.9$	$7,3 \pm 5,2$	$11,3 \pm 0,9$
P3	si	si	$12,0 \pm 1,6$	$6,3 \pm 4,5$	$12,0 \pm 0,0$
P4	si	si	$11,3 \pm 0,9$	$6.0 \pm 4.3$	$8,7 \pm 0,9$
P5	si	si	$4,0 \pm 0,0$	si	$6,0 \pm 1,6$
P6	si	si	$10,0 \pm 1,6$	si	$5,3 \pm 1,9$
P7	si	si	$11,3 \pm 0,9$	si	$4,7 \pm 0,9$
P8	si	si	$14,7 \pm 1,9$	si	$10,0 \pm 0,0$
P9	si	si	$14,0 \pm 0,0$	$6,7 \pm 4,7$	$11,7 \pm 0,5$

Fonte: Resultado da pesquisa.

As bactérias foram novamente testadas pelo mesmo ensaio com 50 μL de solução. As nanopartículas sem estabilizante adicional (P1), PVA 0,3% (P2), PVA 1,0% (P3), PEG 1,0% (P7), CMC 0,3% (P8) e CMC 1,0% (P9) passaram a ter efeito inibitório contra a *Klebsiella Pneumoniae*. Contra a bactéria gram-positiva *Streptococcus pneumoniae*, apenas as nanopartículas sem estabilizante adicional (P1), CMC 0,3% (P8) e CMC 1,0% (P9) melhoraram seus resultados. Além disso, para a *Staphylococcus aureus* todas as soluções diminuíram o tamanho dos seus halos de inibição.

As nanopartículas de prata sintetizadas também mostraram efeito fungicida contra o fungo *Candida albicans* para todas as amostras. A partir dos resultados dos halos de inibição, as nanopartículas sem estabilizante adicional (P1), com CMC 0,3% (P8) e CMC 1,0% (P9) são as que tiveram melhor atividade antimicrobiana no geral.

Tabela 03 – Valores do diâmetro da zona de inibição (mm) para 50 μL de solução, em média e desvio padrão. si = sem inibição.

Escherichia Klebsiella Staphylococcus Streptococcus Amostra pneumoniae pneumoniae coli aureus P1  $7,3 \pm 2,5$  $11,3 \pm 1,9$ si  $6,7 \pm 1,9$ P2  $6.0 \pm 4.3$ si si  $6,7 \pm 1,9$ P3 si  $8,7 \pm 0,9$ si  $5,3 \pm 3,8$ P4 si si si  $6,7 \pm 1,9$ P5 si si si si P6 si si si  $4.0 \pm 3.3$ **P7**  $5,3 \pm 3,8$ si si  $4.0 \pm 3.3$ P8 si  $10.0 \pm 0.0$  $10.7 \pm 2.5$  $6.7 \pm 1.9$ P9  $9.3 \pm 0.9$ si  $12,7 \pm 3,8$  $5,3 \pm 3,8$ 

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### **CONCLUSÕES**

A rota de síntese com NaBH<sub>4</sub>, PVA, PVP, PEG e CMC formaram nanopartículas de prata em todas elas, com variações de tamanho, polidispersividade, estabilidade e ação antimicrobiana. No geral, as nanopartículas apresentaram tamanhos inferiores a 50 nm, e para aquelas com PVP 1,0% e CMC 0,3% e 1,0%, tamanhos em torno de 100 nm. Todas as variações de síntese resultaram soluções polidispersas e quanto a estabilidade coloidal, apenas aquelas sem estabilizante adicional (P1) e CMC 0,3% e 1,0% tiveram altos graus de estabilidade. O formato esférico das nanopartículas é confirmado para a síntese sem estabilizante adicional (P1) e com CMC 1,0% (P9), mostrando que o estabilizante não alterou o formato da nanopartícula. A atividade antimicrobiana das soluções com nanopartículas de prata em baixas concentrações foi comprovada pelo teste poço difusão contra as bactérias *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e o fungo *Candida albicans*. A *Escherichia coli* não sofreu inibição na concentração testada.

CAPÍTULO III

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE TINTA INCORPORADA COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA

# CAPÍTULO III - Avaliação da atividade antimicrobiana de tinta incorporada com nanopartículas de prata

## **RESUMO**

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana de uma tinta acrílica à base d'água incorporada com nanopartículas de prata (AgNPs). As nanopartículas (NPs) foram sintetizadas por redução química a partir dos reagentes nitrato de prata (AgNO<sub>2</sub>), borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) e estabilizante carboximetilcelulose sódica (CMC). As NPs foram caracterizadas por espectroscopia UV-Vis, técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial Zeta e microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MEV-FEG). A incorporação de AgNPs na tinta acrílica comercial aconteceu em 03 concentrações diferentes, sendo uma amostra em branco e as demais nas proporções 10:03 e 09:06 (v/v) de tinta por solução de NPs de prata sintetizadas. As avaliações antimicrobianas das nanopartículas e das tintas aditivadas foram realizadas, respectivamente, pelo método de difusão em ágar por poço e por disco contra os microrganismos Escherichia coli (ATCC 25922), Klebsiella pneumoniae (ATCC 4352), Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Streptococcus pneumoniae (ATCC 49619) e Candida albicans (ATCC 24433). A avaliação antimicrobiana dos filmes de tinta pintados em lâminas de vidro foi determinada contra K. pneumoniae (ATCC 4352), S. aureus (ATCC 25923) e C. albicans (ATCC 24433). As NPs de prata apresentaram diâmetro hidrodinâmico de 113,2 ± 22,1 nm, alta polidispersividade, formato esférico e halo de inibição para todos os microrganismos testados, exceto E. coli. O teste disco-difusão das tintas apresentou inibição apenas para C. albicans na concentração 02. Os filmes exibiram uma diminuição das colônias de C. albicans para as concentrações com AgNPs e nenhum efeito contra os demais microrganismos.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata. Tinta antimicrobiana. Nanotecnologia

#### ABSTRACT

This research aimed to evaluate the antimicrobial action of a waterborne acrylic paint incorporated with silver nanoparticles (AgNPs). The nanoparticles (NPs) were synthesized by chemical reduction from the reagentes silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>), sodium borohydride (NaBH<sub>4</sub>) and sodium carboxymethylcellulose stabilizer (CMC). The NPs were characterized by UV-Vis spectroscopy, dynamic light scattering technique (DLS), zeta potential and field emission scanning electron microscopy (SEM-FEG). The incorporation of AgNPs in the commercial acrylic paint happened in 03 different concentrations, one sample being blank and the others in the proportions 10:03 and 09:06 (v/v) of paint by synthesized silver NPs solution. The antimicrobial evaluations of the nanoparticles and the added paints were carried out, respectively, by the agar diffusion method per well and by disc against the microorganisms Escherichia coli (ATCC 25922), Klebsiella pneumoniae (ATCC 4352), Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Streptococcus pneumoniae (ATCC 49619) and Candida albicans (ATCC 24433). The antimicrobial evaluation of paint films painted on glass slides was determined against K. pneumoniae (ATCC 4352), S. aureus (ATCC 25923) and C. albicans (ATCC 24433). The silver NPs had a hydrodynamic diameter of  $113.2 \pm 22.1$  nm, high polydispersity, spherical shape and inhibition halo for all tested microorganisms, except E. coli. The disc diffusion test of the paints showed inhibition only for C. albicans at concentration 02. The films showed a decrease in C. albicans colonies for concentrations with AgNPs and no effect against other microorganisms.

**Keywords:** Silver nanoparticles. Antimicrobial paint. Nanotechnology

# INTRODUÇÃO

As tintas empregadas nos ambientes internos e externos das construções em geral, denominadas tintas arquitetônicas ou imobiliárias, são compostas por resina, pigmentos, solventes e aditivos que ao serem aplicadas no substrato formam um filme opaco e aderente com o objetivo de decorar os espaços e proteger as superfícies (FAZENDA, 2009). As tintas imobiliárias têm grande destaque no setor de tintas no Brasil, representando 82,7% do volume total produzido em 2018 (ABRAFATI, 2020).

No momento atual, há uma demanda por tintas arquitetônicas com avançadas propriedades antimicrobianas devido aos novos desafios da saúde pública. O emprego inadequado de antibióticos e quimioterápicos vem resultando no aumento de microrganismos resistentes à essas drogas, tornando os pacientes das unidades de saúde, principalmente aqueles em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), mais vulneráveis em adquirir infecções nosocomiais e com maiores índices de mortalidade (ANDRADE; LEOPOLDO; HAAS, 2006; OLIVEIRA et al., 2010). Uma pesquisa com 638 pacientes atendidos em UTI por um período de 12 meses, mostrou que 68 casos (12,98%) foram identificados com infecção por bactérias multirresistentes e apresentaram taxa de mortalidade de 50% (ANDRADE; LEOPOLDO; HAAS, 2006). Em outro grupo com 1235 pacientes também tratados em UTIs brasileiras, 761 (61,6%) apresentaram infecção no dia do estudo e taxa de mortalidade de 37,6%, além disso, os indivíduos infectados tiveram um tempo de permanência na UTI e no hospital significativamente superior em comparação aos não infectados (SILVA et al., 2012).

Os organismos resistentes presentes nas unidades hospitalares são transmitidos de pessoa para pessoa através das mãos dos profissionais da saúde, dos equipamentos utilizados pelo paciente e por superfícies contaminadas no ambiente de cuidado à saúde, portanto, a desinfecção adequada das superfícies hospitalares é uma forma de evitar a propagação das doenças (STRICH; PALMORE, 2017). Esses microrganismos possuem particularidades que impulsionam a sua contaminação, como a viabilidade por longos períodos de tempo, inclusive em superfícies secas que tornam o ciclo de transmissão duradouro (STRICH; PALMORE, 2017).

Outra circunstância de risco à saúde das pessoas é a formação de fungos nas superfícies de ambientes internos, os quais apresentam permanência prolongada pelos usuários em muitas situações. Os fungos causam doenças alérgicas, respiratórias e infecciosas através do contato ou inalação de esporos e micotoxinas, sendo encontrados aderidos à superfície dos materiais ou aerossolizados e poluindo o ar interno (LI; YANG, 2004).

O avanço da nanotecnologia e a sua aplicação para o aperfeiçoamento das qualidades dos materiais em geral tornaram as nanopartículas de prata um dos materiais mais pesquisados e com um vasto campo de emprego. Essas nanopartículas apresentam propriedades interessantes quanto à estabilidade química, maleabilidade, flexibilidade, elevada condutividade elétrica e térmica, atividade catalítica, relativo baixo custo de produção e notável ação antimicrobiana contra bactérias, vírus, fungos e protozoários (DURÁN, 2019).

A ação antibacteriana das nanopartículas de prata pode resultar em inativação celular, causada pela interação da prata com o enxofre das proteínas e aminoácidos, e em inibição das atividades enzimáticas, devido à interação do íon prata liberado pelas nanopartículas com o fósforo do DNA (DESHMUKH, 2018). As nanopartículas de prata também podem danificar a membrana bacteriana, através do acúmulo na sua superfície seguido pela penetração nas bactérias, formando fossas, alterando a permeabilidade e vazando o conteúdo bacteriano (ZHENG et al., 2018). Além disso, severos danos celulares podem ser gerados por radicais livres derivados do oxigênio, as Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) (LEMIRE; HARISSON; TURNER, 2013).

Dada a importância da busca por novos biocidas como aditivos em tintas imobiliárias para o controle da transmissão de doenças, esse trabalho teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana de tinta acrílica à base d'água incorporada com nanopartículas de prata.

## MATERIAIS E MÉTODOS

#### **Materiais**

A síntese das nanopartículas empregou os reagentes nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) (Sigma-Aldrich) e borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) (Aldrich) e o estabilizante carboximetilcelulose sódica (CMC) (Zibo Hailan). Antes da execução dos experimentos, toda a vidraria foi limpa com potassa alcoólica e água destilada.

A tinta utilizada na pesquisa é uma tinta comercial brasileira do tipo acrílica standard e cor fosco marrom (chocolate), composta por resina a base de dispersão aquosa de copolímero estireno acrílico, glicóis, tensoativos etoxilados e carboxilados, pigmentos isentos de metais pesados, cargas inertes e água. A tinta apresenta peso específico de 1,350 a 1,450 g/cm³, compostos orgânicos voláteis (com exceção da água) em 15,5 g/L, viscosidade entre 95-105 UK e concentração de sólidos por peso de 55-60%. Água ultra purificada pelo equipamento Master System 2000 Gehaka foi usada como solvente nas soluções da síntese e preparação da tinta.

## Síntese das AgNPs

O processo de síntese das nanopartículas de prata foi realizado por redução química, de acordo com Junior et al. (2012) e Solomon et al. (2007), no qual o nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) age como o material precursor e o borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) como o agente redutor.

Inicialmente, foi adicionado em um Erlenmeyer de 250 mL um volume de 75 mL de solução de NaBH<sub>4</sub>, com concentração 0,002M, e 12,5 mL de solução 1,0% de carboximetilcelulose sódica (CMC). O recipiente foi colocado em banho de gelo por 15 minutos. Sob agitação magnética vigorosa e banho de gelo, ocorreu a redução da prata com o gotejamento de 25 mL de solução 0,001M de AgNO<sub>3</sub> no Erlenmeyer com NaBH<sub>4</sub> e CMC. A síntese ocorreu em triplicata para garantir sua reprodutibilidade.

#### Caracterização das AgNPs

A confirmação da produção de nanopartículas e a estimativa dos seus tamanhos se deu pelos espectros ultravioleta-visível (UV-Vis) medidos na região de 300 a 600 nm por um espectrofotômetro UV-Vis, modelo UV-1650PC da Shimadzu.

A determinação do diâmetro hidrodinâmico (Z-average), da distribuição de tamanho e índice da polidispersividade (PDI) das nanopartículas foram realizadas pela técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) com o Zetasizer nano-ZS90 da Malvern, equipamento que também mediu o potencial Zeta para a verificação da estabilidade. Esses parâmetros medidos pelo Zetasizer foram realizados em triplicata para cada uma das três soluções preparadas.

Para a análise do formato das nanopartículas, imagens foram geradas por um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (MEV-FEG) JEOL JSM-7100F com um detector de elétrons transmitidos (STEM) Deben Gen5 com tensão de aceleração de elétrons de 30 kV. As amostras foram depositadas sobre tela de cobre 400 mesh recoberta com filme de carbono.

#### Teste antimicrobiano das AgNPs

A atividade antimicrobiana das nanopartículas foi determinada pelo método de difusão em ágar por poço, adaptado de NCCLS (2003), contra as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619) e contra o fungo *Candida albicans* (ATCC 24433). As bactérias e a *C. albicans* foram cultivadas à 37 °C no meio Luria-Bertani por 4 a 6 h e

tiveram turbidez ajustada na escala Mc Farland em 0,5 para as bactérias e 1,0 para o fungo. Em seguida, placas de Petri com ágar Mueller Hinton ou Sabouraud Dextrose foram inoculadas por um swab estéril com as bactérias e a C. *albicans*, respectivamente. Com o auxílio de um molde, poços foram realizados nas placas de Petri e preenchidos com 20 μL e 50 μL das soluções de nanopartículas de prata. Em seguida, essas placas foram incubadas por 24 h na estufa à 37 °C. As soluções que apresentaram inibição ao redor do poço, tiveram seus halos medidos em milímetros com auxílio de uma régua milimetrada. Os testes foram realizados em triplicata.

#### Incorporação de nanopartículas na tinta

A adição das nanopartículas de prata na tinta acrílica à base d'água aconteceu em diferentes concentrações para que fosse possível avaliar o efeito das nanopartículas na ação antimicrobiana da tinta e dos filmes secos. A determinação das concentrações foi definida em proporções de medidas de volume, conforme o quadro 01. Haja vista a rota de síntese das nanopartículas e a proporção de adição da solução de AgNPs, a quantidade de prata nas concentrações 02 e 03 são 5,53 μg/mL e 9,59 μg/mL, respectivamente. A concentração 01 foi definida como amostra em branco, sem adição de nanopartículas.

Quadro 01 - Concentrações de adição testadas.

Amostra	Composição	Medidas de volume	
Concentração 01	Tinta acrílica	10	
Concentração 01	Água	03	
Concentração 02	Tinta acrílica	10	
Concentração 02	Solução de NPs de prata	03	
Concentração 02	Tinta acrílica	09	
Concentração 03	Solução de NPs de prata	06	

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### Teste antimicrobiano da tinta

A atividade antimicrobiana da tinta foi determinada pelo método de difusão em ágar por disco, conforme NCCLS (2003), contra as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619) e contra o fungo *Candida albicans* (ATCC 24433). As bactérias e a *C. albicans* foram cultivadas à 37 °C no meio Luria-Bertani por 4 a 6 h e tiveram turbidez ajustada na escala Mc Farland em 0,5 para as bactérias e 1,0 para o fungo. Em seguida, placas de Petri com ágar Mueller Hinton ou Sabouraud Dextrose foram inoculadas por um swab estéril com as bactérias e a *C. albicans*, respectivamente. Discos de papel de 6 mm de diâmetro receberam uma alíquota de 50 μL da tinta na concentração testada e, logo após, foram colocados na superfície das placas

de cultura. Essas placas foram incubadas por 24 h na estufa à 37 °C. As soluções que apresentaram inibição ao redor dos discos, tiveram seus halos medidos em milímetros com auxílio de uma régua milimetrada. Todos os testes foram realizados em quintuplicata.

A avaliação dos filmes de tinta contra as bactérias *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e o fungo *Candida albicans* (ATCC 24433) consistiu em adaptação da metodologia empregada por Holtz et al. (2012). Para a aplicação da tinta nas 03 concentrações formuladas, utilizou-se como substrato lâminas de vidro com dimensões de 26x76 mm, as quais foram pintadas com rolo de espuma de 5 cm. Após a secagem dos filmes, eles foram inseridos em placas de Petri com ágar Mueller Hinton (bactérias) ou Sabouraud Dextrose (fungo). Houve a inoculação dos microrganismos por um swab estéril e as placas foram incubadas por 24 horas à 37 °C. Por último, realizou-se a comparação do crescimento dos microrganismos nas diferentes lâminas de vidro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Caracterização das Nanopartículas de Prata

Os espectros UV-Vis resultantes das soluções sintetizadas apresentam picos de absorbância máxima em  $405,7 \pm 0,5$  nm, conforme a figura 01. Esses valores são característicos de nanopartículas e confirmam a sua formação. Além disso, é perceptível que os picos apresentam uma largura à meia altura maior, o qual se deve à alta polidispersividade das nanopartículas (AGNIHOTRI; MUKHERJI; MUKHERJI, 2014).

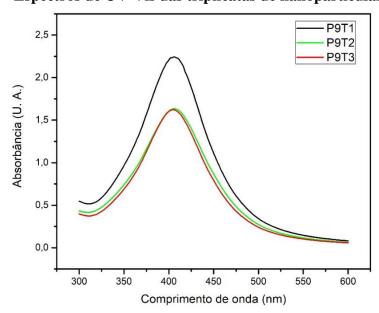


Figura 01 – Espectros de UV-Vis das triplicatas de nanopartículas de prata.

Fonte: Resultado da pesquisa.

As soluções apresentaram nanopartículas de prata com diâmetro hidrodinâmico igual a 113,2 ± 22,1 nm, porém uma considerável parcela desse tamanho pode decorrer da camada do estabilizante CMC. Em trabalhos nos quais a medição do tamanho de nanopartículas estabilizadas por polímeros foi realizada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e DLS, houve uma diferença considerável dos diâmetros medidos em cada, visto que a MET é capaz de mensurar apenas o núcleo metálico, enquanto a DLS inclui o revestimento polimérico (ARAGÃO, et al., 2016; HILEUSKAYA, et al., 2020).

Figura 02 – Distribuição de tamanho medidas por DLS.

Fonte: Resultado da pesquisa.

A distribuição de tamanho das nanopartículas é irregular e polidispersa, conforme figura 02. O índice de polidispersividade varia entre 0 e 1, sendo os valores próximos a 1 para amostras polidispersas e próximos a 0 para monodispersas (KAUR; GOYAL; KUMAR, 2018). Reafirmando a análise UV-Vis, as nanopartículas exibiram PDI igual a  $0.933 \pm 0.073$ .

As amostras produziram um potencial zeta negativo de -59,1  $\pm$  5,7 mV, sugerindo uma estabilização eletrostática por efeito do estabilizante CMC que revestiu as nanopartículas. De acordo com TUAN et al. (2015), valores de potencial zeta superiores a +30 mV ou inferiores a -30 mV representam uma elevada estabilidade coloidal, dessa forma, as nanopartículas estabilizadas com CMC são consideravelmente estáveis. A imagem de MEV-FEG das AgNPs mostra o seu formato esférico, resultado esperado para síntese por redução química com AgNO $_3$  e NaBH $_4$  (JUNIOR et al., 2012; SOLOMON et al., 2007). Portanto, o estabilizante não alterou o formato das nanopartículas.

10mm BA90 x850,000 30.0kV STEM SEM WD 3.9mm

Figura 03 – Imagem MEV-FEG das nanopartículas.

Fonte: Resultado da pesquisa.

## Avaliação da atividade antimicrobiana das Nanopartículas de Prata

A verificação da atividade antimicrobiana pelo teste de difusão em ágar por poço resultou nos halos de inibição da tabela 01. Percebe-se que alterando o volume entre 20  $\mu$ L e 50  $\mu$ L da solução de mesma concentração de AgNPs, há uma resposta diferente para os microrganismos, com exceção da *E. coli* que não apresentou inibição em nenhuma amostra. A ação fungicida das AgNPs foi testada apenas com 20  $\mu$ L de solução, o qual apresentou halo de 11,7  $\pm$  0,5 mm.

Tabela 01 – Valores do diâmetro da zona de inibição das AgNPs em média e desvio padrão (mm). si = sem inibição.

` '	3
20 μL de solução	50 μL de solução
si	si
si	$9,3 \pm 0,9$
$14,0 \pm 0,0$	$5,3 \pm 3,8$
$6,7 \pm 4,7$	12,7 ± 3,8
$11,7 \pm 0,5$	-
	si     si     14,0 ± 0,0     6,7 ± 4,7

Fonte: Resultado da pesquisa.

## Avaliação da atividade antimicrobiana da tinta com AgNPs

Os resultados do ensaio de disco difusão da tinta estão na tabela 02. A tinta acrílica à base d'água comercial sem adição de nanopartículas (concentração 01) não mostrou ação inibitória contra os microrganismos, assim como as concentrações 02 e 03, exceto para a *Candida albicans* na concentração 02 (figura 04).

Tabela 02 – Valores do diâmetro da zona de inibição das tintas em média e desvio padrão (mm). si = sem inibição.

		\ /			
Amostra	Escherichia coli	Klebsiella pneumoniae	Staphylococcus aureus	Streptococcus pneumoniae	Candida albicans
Concentração 01	si	si	si	si	si
Concentração 02	si	si	si	si	$6,4 \pm 1,5$
Concentração 03	si	si	si	si	si

Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 04 – Teste disco difusão para concentração 02 contra C. albicans.



Fonte: Resultado da pesquisa.

Os resultados da avaliação dos filmes de tinta contra a *K. pneumoniae, S. aureus* e *C. albicans* podem ser visualizados na figura 05 e 06. Observou-se sobre os filmes que houve o mesmo crescimento bacteriano de *K. pneumoniae* e *S. aureus* e no restante das placas de petri, independentemente da concentração testada. Sobre as lâminas de vidro pintadas nas concentrações 5,53 µg/mL e 9,59 µg/mL de AgNPs e inoculadas com *C. albicans*, foram formadas colônias menores e em quantidade inferior em comparação com as outras superfícies da placa.

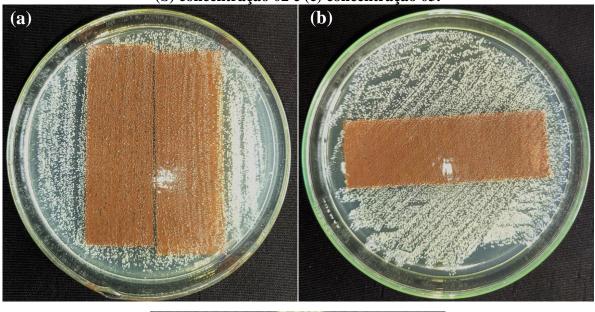
No estudo de Holtz et al. (2012) ao analisar a atividade antibacteriana da tinta comercial à base d'água aditivada em 1% (m/v) de vanadato de prata nanoestruturado, verificou-se claramente a formação de um halo de inibição ao redor da placa de vidro pintada contra *Staphylococcus aureus* Meticilina-Resistente. Portanto, ainda que seja possível notar uma diminuição das colônias de *C. albicans* sobre as lâminas de vidro, não houve a formação de halo de inibição ao seu redor ou a completa ausência de colônias na sua superfície,

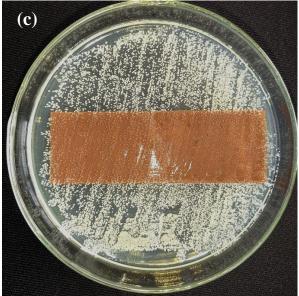
impossibilitando concluir que os filmes de tinta são completamente fungicidas nessas concentrações.

É importante destacar que a concentração de prata empregada na formulação das tintas foi baixa, sendo 5,53 μg/mL para a concentração 02 e 9,59 μg/mL para concentração 03. A adição por Holtz et al. (2012) de aditivo (1g/100mL) representa uma concentração aproximadamente 2.000 vezes maior que a testada neste trabalho. O crescimento dos microrganismos *Listeria monocytogenes, Salmonella senftenberg, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* e *Aspergillus niger* foram inibidos significativamente em tinta látex PVA aditivada, com NPs de prata revestindo parcialmente NPs de óxido de zinco, nas concentrações 0,15% e 0,30% (TORNERO et al., 2018). Fiori et al. (2017) também obteve excelente atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em tintas acrílicas aditivadas em 0,4%, 0,8% e 1,2% de nanopartículas de óxido de zinco. A bioresistência fúngica de tinta acrílica à base d'água com nanopartículas de prata apresentou maior eficiência em concentrações mais elevadas de nanopartículas, além disso, não houve halo de inibição ao redor do vidro pintado, indicando a ausência de lixiviação do material (BELLOTTI et al., 2015).

Desse modo, novas formulações de tinta com maiores concentrações das nanopartículas de prata sintetizadas devem ser realizadas, visto que essas nanopartículas apresentaram inibição de crescimento contra os microrganismos *K. pneumoniae, S. aureus, S. pneumoniae* e *C. albicans*. O presente trabalho não realizou a incorporação de AgNPs em maiores concentrações na tinta devido à inviabilidade de separação das nanopartículas da solução coloidal resultante da síntese. Essa limitação da pesquisa se deve à indisponibilidade de uma ultracentrífuga na região da pesquisa ou de outros meios adequados para a purificação.

Figura 05 – Aparência das lâminas pintadas contra *C. albicans* para (a) concentração 01, (b) concentração 02 e (c) concentração 03.





Fonte: Resultado da pesquisa.

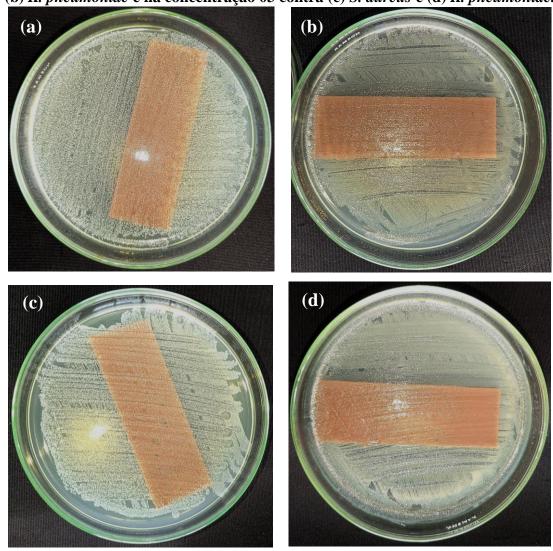


Figura 06 – Aparência das lâminas pintadas na concentração 02 contra (a) S. aureus e (b) K. pneumoniae e na concentração 03 contra (c) S. aureus e (d) K. pneumoniae.

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### CONCLUSÕES

As nanopartículas de prata sintetizadas por redução química e estabilizadas com CMC apresentaram diâmetro hidrodinâmico de 113,2 ± 22,1 nm, distribuição de tamanho irregular e polidispersa, elevada estabilidade e formato esférico. A solução coloidal de nanopartículas mostrou ação antimicrobiana contra *Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae* e o fungo *Candida albicans*, ao contrário dos demais microrganismos, a *Escherichia coli* não sofreu inibição. As diferentes concentrações de tintas formuladas foram testadas contra esses mesmos microrganismos, porém houve a formação de halo de inibição apenas para *C. albicans* na concentração 02. Os filmes de tinta secos com adição de nanopartículas apresentaram uma diminuição das colônias de *C. albicans* e nenhuma

inibição para *S. aureus e K. pneumoniae*. Esse trabalho permitiu investigar o efeito biocida de AgNPs em baixas concentrações em tinta comercial acrílica à base d'água e perceber que, provavelmente, a obtenção de uma tinta com alta eficiência antimicrobiana requer concentrações maiores de adição de nanopartículas de prata. Para estudos futuros sugere-se que além de avaliar o efeito biocida dos filmes, sejam observadas possíveis alterações nas propriedades dos filmes e a toxicidade das concentrações.

## 3. CONCLUSÕES GERAIS

Pesquisas realizadas com tintas à base d'água aditivadas com nanopartículas antimicrobianas são, em maioria, de tinta acrílicas e nanopartículas metálicas, principalmente de prata. Além disso, essas tintas aditivadas apresentaram atividade antimicrobiana em alguma formulação preparada.

As nanopartículas de prata sintetizadas pelo método de redução química com borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) sob diferentes estabilizantes apresentaram diferenças de tamanho, polidispersividade, estabilidade e ação antimicrobiana. Os tamanhos variaram entre inferiores a 50nm, para a maioria das nanopartículas formadas, até próximo de 100nm para as com estabilizante PVP 1,0% e CMC 0,3% e 1,0%. Todas sínteses resultaram em nanopartículas polidispersas, além disso, somente as com CMC e sem estabilizante adicional mostraram elevada estabilidade. Houve atividade antimicrobiana para as bactérias K*lebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e o fungo *Candida albicans* e nenhuma inibição para a *Escherichia coli*.

A investigação da atividade antimicrobiana da tinta acrílica à base d'água incorporada com nanopartículas de prata mostrou que nas concentrações testadas houve inibição de crescimento apenas para o fungo *Candida albicans*.

Novos estudos devem ser realizados com sínteses em concentrações mais altas de nanopartículas de prata, visto que a maioria dos trabalhos relatam adições entre 0,1% e 1,0%. Além disso, recomenda-se a investigação do motivo da diferença de inibição para os microrganismos no teste de difusão em ágar por poço com 20 µL e 50 µL e a aplicação de outras técnicas de avaliação da ação antimicrobiana para as nanopartículas e os filmes de tinta.

As pesquisas relacionadas às etapas finais do desenvolvimento de um produto, como ensaios de qualidade e resistência da tinta, escalabilidade da síntese das nanopartículas, viabilidade financeira e estudos de toxicidade dos filmes de tinta para os humanos também são necessárias, garantindo como resultado um produto seguro e viável à comunidade.

# 4. REFERÊNCIAS

ABRAFATI. O setor de tintas no Brasil. Disponível em: < https://www.abrafati.com.br/o-setor-de-tintas-no-brasil/>. Acesso em 19 jan. 2020.

AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S.; MUKHERJI, S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. **RSC Advances**, v. 4, p. 3974-3983, 2014.

ALMEIDA, E. S. Biossíntese e caracterização de nanopartículas de prata por Fusarium oxysporum [Dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2017.

ANDRADE, D.; LEOPOLDO, V. C.; HAAS, V. J. Ocorrência de Bactérias Multiresistentes em um Centro de Terapia Intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, v. 18, n. 1, p. 27-33, 2006.

ANDRADE, F. A. Preparação e caracterização de nanopartículas de prata e de nanocompósitos poliméricos antimicrobianos [Tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2013.

ARAGÃO, A. P.; OLIVEIRA, T.M.; QUELEMES, P.V.; PERFEITO, M. L. G.; ARAÚJO, M. C.; SANTIAGO, J. A. S.; CARDOSO, V. S.; QUARESMA, P.; LEITE, J. R. S. A.; SILVA, D. A. Green synthesis of silver nanoparticles using the seaweed Gracilaria birdiae and their antibacterial activity. **Arabian Journal of Chemistry**, p. 1-7, 2016.

ARRECHE, R.; BELOTTI, N.; DEYÁ, C.; VÁZQUEZ, P. Assessment of waterborne coatings formulated with sol-gel/Ag related to fungal growth resistance. **Progress in Organic Coatings**, v. 108, p. 36–43, 2017.

AUYEUNG, A.; CASILLAS-SANTANA, M. A.; MARTÍNEZ-CASTAÑÓN, G. A.; SLAVIN, Y. N.; ZHAO, W.; ASNIS, J.; HÄFELI, U. O.; BACH, H. Effective Control of Molds Using a Combination of Nanoparticles. **PLOS ONE**, p. 1–13, 2017.

BARBERIA-ROQUE, L.; GÁMEZ-ESPINOSA, E.; VIERA, M.; BELLOTTI, N. Assessment of three plant extracts to obtain silver nanoparticles as alternative additives to control biodeterioration of coatings. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 141, p. 52–61, 2019.

BECHTOLD, M. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata e aplicação como agente biocida em tinta poliuretânica hidrossolúvel [Dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2011.

BELLOTTI, N.; ROMAGNOLI, R.; QUINTERO, C.; DOMÍNGUEZ-WONG, C.; RUIZ, F.; DEYÁ, C. Nanoparticles as antifungal additives for indoor water borne paints. **Progress in Organic Coatings**, v. 86, p. 33–40, 2015.

BIOLCHINI, J. C. A.; MIAN, P. G.; NATALI, A. C. C.; CONTE, T. U.; TRAVASSOS, G. H. Scientific research ontology to support systematic review in software engineering. **ADVANCED ENGINEERING INFORMATICS**, v. 21, p. 133–151, 2007.

BOYCE, J. M. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. **Journal of Hospital Infection**, v. 65, p. 50–54, 2007.

BRIMBLECOMBE, P. Environmental health and safety in buildings. In: HALL, M. R. (Ed.). . **Materials for Energy Efficiency and Thermal Comfort in Buildings**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2010. p. 148–172.

BURKOWSKA-BUT, A.; SIONKOWSKI, G.; WALCZAK, M. Influence of stabilizers on the antimicrobial properties of silver nanoparticles introduced into natural water. **Journal of** 

- **Environmental Sciences**, v. 26, n. 3, p. 542–549, 2014
- DESHMUKH, S. P.; PATIL, S.M.; MULLANI, S.B.; DELEKAR, S.D. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. **Materials Science & Engineering C**, p. 1–12, 2018.
- DOMINGUEZ-WONG, C.; LOREDO-BECERRA, G. M.; QUINTERO-GONZÁLEZ, C. C.; NORIEGA-TREVIÑO, M. E.; COMPEÁN-JASSO, M. E.; NIÑO-MARTÍNEZ, N.; DEALBA-MONTERO; RUIZ, F. Evaluation of the antibacterial activity of an indoor waterborne architectural coating containing Ag/TiO2 under different relative humidity environments. **Materials Letters**, v. 134, p. 103–106, 2014.
- DURÁN, N.; ROLIM, W. R.; DURÁN, M.; FÁVARO, W. J.; SEABRA, A. B. Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos. **Química Nova**, v. 42, n. 2, p. 206–213, 2019.
- EL-NOUR, K. M. M. A.; EFTAIHA A,; AL-WARTHAN, A..; AMMAR, R. A. A. Synthesis and applications of silver nanoparticles. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 3, n. 3, p. 135–140, 2010.
- FAZENDA, J. M. R. Tinta: ciência e tecnologia. 4. ed. São Paulo: Blucher, 2009.
- FIORI, J. J.; SILVA, L.L.; PICOLLI, K.C.; TERNUS, R.; ILHA, J.; DECALTON, F.; MELLO, J.M.M.; RIELLA, H.G.; FIORI, M.A. Zinc Oxide Nanoparticles as Antimicrobial Additive for Acrylic Paint. **Materials Science Forum**, v. 899, p. 248-253, 2017.
- FONSECA, G. S. Nanopartículas de Irídio em Líquidos Iônicos: Síntese, Caracterização e Aplicação em Reações de Hidrogenação Catalítica [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.
- GARCIA, M. V. D. Síntese, caracterização e estabilização de nanopartículas de prata para aplicações bactericidas em têxteis [Dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2011.
- GROSS, T. M.; LAHIRI, J.; GOLAS, A.; LUO, J.; VERRIER F.; KURZEJEWSKI, J. L.; BAKER, D. E.; WANG, J.; NOVAK, P. F.; SNYDER, M. J. Copper-containing glass ceramic with high antimicrobial efficacy. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2019.
- GURAN, C.; PICA, A.; FICAI, D.; FICAI, A.; COMANESCU, C. Antimicrobial coatings obtaining and characterization. **Bulletin of Materials Science**, v. 36, n. 2, p. 183–188, 2013.
- HALDAR, J.; WEIGHT, A. K.; KLIBANOV, A. M. Preparation, application and testing of permanent antibacterial and antiviral coatings. **Nature Protocols**, v. 2, n. 10, p. 2412–2417, 2007.
- HANUS, M. J.; HARRIS, A. T. Nanotechnology innovations for the construction industry. **Progress in Materials Science**, v. 58, n. 7, p. 1056–1102, 2013.
- HENDESSI, S.; SEVINIS, E. B.; UNAL, S.; CEBECI, F. C.; MENCELOGLU, Y. Z.; UNAL, H. Antibacterial sustained-release coatings from halloysite nanotubes/waterborne polyurethanes. **Progress in Organic Coatings**, v. 101, p. 253–261, 2016.
- HILEUSKAYA, K. LADUTSKA, A.; KULIKOUSKAYA, V.; KRASKOUSKI, A.; NOVIK, G.; KOZEROZHETS, I.; KOZLOVSKIY, A.; AGABEKOV, V. 'Green' approach for obtaining stable pectin-capped silver nanoparticles: physico-chemical characterization and antibacterial activity. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 585, 2020.
- HOLTZ, R. D.; LIMA, B. A.; FILHO, A. G. S.; BROCCHI, M.; ALVES, O. L. Nanostructured silver vanadate as a promising antibacterial additive to water-based paints. **Nanomedicine:**

- Nanotechnology, Biology, and Medicine, v. 8, n. 6, p. 935–940, 2012.
- IRAVANI, S.; KORBEKANDI, H.; MIRMOHAMMADI, S. V.; ZOLFAGHARI, B. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. **School of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. December, p. 385–406, 2014.
- JÚNIOR, J. F. Tintas Acrílicas com Nanopartículas de Óxido de Zinco com Atividade Antimicrobiana e o Efeito da Radiação Ultravioleta sobre as Propriedades do Filme [Tese]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2016.
- JUNIOR, J. J.; VARANDA, L. C. O mundo dos colóides. **Química Nova na Escola**, n. 9, p. 9-13, 1999.
- JUNIOR, M. A. M. SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. C.; NOGUEIRA, A. F. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Quimica Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872–1878, 2012
- KAISER, J.; ZUIN, S.; WICK, P. Is nanotechnology revolutionizing the paint and lacquer industry? A critical opinion. **Science of the Total Environment**, v. 442, p. 282–289, 2013.
- KAUR, A.; GOYAL, D.; KUMAR, R. Surfactant mediated interaction of vancomycin with silver nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 449, p. 23–30, 2018.
- KELLY, K. L. CORONADO, E.; ZHAO, L. L.; SCHATZ, G. C. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 107, p. 668–677, 2003.
- KHODASHENAS, B.; GHORBANI, H. R. Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. **Arabian Journal of Chemistry**, 2015.
- KITCHENHAM, B. Procedures for Performing Systematic Reviwes. **Joint Technical Report Software**. Staffordshire e Sydney; 2004. Keele University Technical Report TR/SE-0401.
- LEMIRE, J. A.; HARRISON, J. J.; TURNER, R. J. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. **Nature Reviews**, v. 11, p. 371-384, 2013.
- LI, D.-W.; YANG, C. S. Fungal Contamination as a Major Contributor to Sick Building Syndrome. **Advances in Applied Microbiology**, v. 55, p. 31–112, 2004.
- LI, K.; JIA, X.; TANG, A.; ZHU, X.; MENG, H.; WANG, Y. Preparation of Spherical and Triangular Silver Nanoparticles by a Convenient Method. **Integrated Ferroelectrics**, v. 136, p. 9–14, 2012
- LIMA, M. E.; ANDRADE, D. DE; HAAS, V. J. Avaliação Prospectiva da Ocorrência de Infecção em Pacientes Críticos de Unidade de Terapia Intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, n. 3, p. 342–347, 2007.
- LIU, K.; SU, Z.; MIAO, S.; MA, G.; ZHANG, S. UV-curable enzymatic antibacterial waterborne polyurethane coating. **Biochemical Engineering Journal**, v. 113, p. 107–113, 2016.
- LIU, X.; ZHANG, F.; HUANG, R.; PAN, C.; ZHU, J. Capping Modes in PVP-Directed Silver Nanocrystal Growth: Multi-Twinned Nanorods versus Single-Crystalline Nano-Hexapods & DESIGN 2008. **Crystal Growth & Design**, v. 8, n. 6, p. 1916–1923, 2008.
- LOPES, J. R. Síntese de nanopartículas de prata (NPsAg) em soluções aquosas de fibroína de seda e gelatina [Dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2017.
- MADKOUR, M.; BUMAJDAD, A.; AL-SAGHEER, F. To what extent do polymeric stabilizers affect nanoparticles characteristics? **Advances in Colloid and Interface Science**,

- v. 270, p. 38–53, 2019.
- MARTINS, M. A.; TRINDADE, T. Os nanomateriais e a descoberta de novos mundos na bancada do químico. **Quimica Nova**, v. 35, n. 7, p. 1434–1446, 2012.
- MONTEIRO, G. M. M. Análise de Revestimentos Orgânicos por Espectroscopia de Infravermelho [dissertação]. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa; 2007.
- NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Eighth Edition. NCCLS document M2-A8. v. 23, n.1, 2003.
- OGUNSONA, E. O.; MUTHURAJ, R.; OJOGBO, E.; VALERO, O.; MEKONNEN, T. H. Engineered nanomaterials for antimicrobial applications: A review. **Applied Materials Today**, 2019.
- OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S.; DÍAZ, M. E. P.; IQUIAPAZA, R. A. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. **Revista Latino-americana de Enfermagem**, v. 18, n. 6, p. 1-10, 2010.
- OTTER, J. A.; YEZLI, S.; FRENCH, G. L. The Role Played by Contaminated Surfaces in the Transmission of Nosocomial Pathogens. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 32, n. 7, p. 687–699, 2011.
- PILZ, C. F. Influência das propriedades da resina nas propriedades de uma tinta base água [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2004.
- PINZARU, I.; CORICOVAC, D.; DEHELEAN, C.; MOACA, E. A.; MIOC, M.; BADERCA, F.; SIZEMORE, I.; BRITTLE, S.; MARTI, D.; CALINA, C. D.; TSATSAKIS, A. M.; SOICA, C. Stable PEG-coated silver nanoparticles A comprehensive toxicological profile. v. 111, p. 546–556, 2018.
- RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 76–83, 2009.
- RASHID, M. U.; BHUIYAN, K. H.; QUAYUM, M. E. Synthesis of Silver Nano Particles (Ag-NPs) and their uses for Quantitative Analysis of Vitamin C Tablets. **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 1, p. 29–33, 2013.
- SADEGHI, B.; GARMAROUDI, F. S.; HASHEMI, M.; NEZHAD, H. R.; NASROLLAHI, A.; ARDALAN, S.; ARDALAN, S. Comparison of the anti-bacterial activity on the nanosilver shapes: Nanoparticles, nanorods and nanoplates. **Advanced Powder Technology**, v. 23, n. 1, p. 22–26, 2012.
- SILVA, E.; JUNIOR, L. D.; FERNANDES, H. S.; MORENO, R.; VINCENT, J. Prevalência e desfechos clínicos de infecções em UTIs brasileiras: subanálise do estudo EPIC II. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 24, n. 2, p. 143–150, 2012.
- SOLOMON, S. D.; BAHADORY, M.; JEYARAJASINGAM, A. V.; RUTKOWSKY, S. A.; BORITZ, C. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. **Journal of Chemical Education**, v. 84, n. 2, p. 322–325, 2007.
- SONG, K. C.; LEE, S. M.; PARK, T. S.; LEE, B. S. Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 26, n. 1, p. 153-155, 2009.
- STRICH, J. R.; PALMORE, T.N. Preventing Transmission of Multidrug-Resistant Pathogens in the Intensive Care Unit. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 31, n. 3, p. 535-550, 2017.

- TOMASZEWSKA, E.; SOLIWODA, K.; KADZIOLA, K.; TKACZ-SZCZESNA, B.; CELICHOWSKI, G.; CICHOMSKI, M.; SZMAJA, W.; GROBELNY, J. Detection Limits of DLS and UV-Vis Spectroscopy in Characterization of Polydisperse Nanoparticles Colloids. **Journal of Nanomaterials**, v. 2013, p. 1–10, 2013.
- TORNERO, A. C. F.; BLASCO, M. G.; AZQUETA, M. C.; ACEVEDO, C. F.; CASTRO, C. S.; LÓPEZ, S. J. R. Antimicrobial ecological waterborne paint based on novel hybrid nanoparticles of zinc oxide partially coated with silver. **Progress in Organic Coatings**, v. 121, n. March, p. 130–141, 2018.
- TUAN, T. Q.; HAO, P. V.; QUYNH, L. M.; LUONG, N. H.; HAI, N. H. Preparation and Properties of Silver Nanoparticles by Heat-combined Electrochemical Method. **VNU Journal of Science: Mathematics Physics**, v. 31, n. 2, p. 36–44, 2015.
- VERKHOVSKII, R.; KOZLOVA, A.; ATKIN, V.; KAMYSHINSKY, R.; SHULGINA, T.; NECHAEVA, O. Physical properties and cytotoxicity of silver nanoparticles under different polymeric stabilizers. **Heliyon**, p. 1–13, 2019.
- XU, X.; YANG, Q.; WANG, Y.; YU, H.; CHEN, X.; JING, X. Biodegradable electrospun poly(L-lactide) fibers containing antibacterial silver nanoparticles. **European Polymer Journal**, v. 42, p. 2081–2087, 2006.
- WEBER, D. J.; RUTALA, W. A.; MILLER, M. B.; HUSLAGE, K.; SICKBERT-BENNETT, E. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health careassociated pathogens: Norovirus, Clostridium difficile, and Acinetobacter species. **American Journal of Infection Control**, v. 38, n. 5, p. S25–S33, 2010.
- YOUSAF, S. A.; ALI, S. Why Nanoscience and Nanotechnology? What is there for us? **Journal of Faculty of Engineering & Technology**, p. 11–20, 2007.
- ZARBIN, A. J. G. Química de (Nano) Materiais. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1469–1479, 2007.
- ZHENG, K.; SETYAWATI, M. I.; LEONG, D. T.; XIE, J. Antimicrobial silver nanomaterials. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 357, p. 1-17, 2018.
- ZUCCHERI, T.; COLONNA, M.; STEFANINI, I.; SANTINI, C.; GIOIA, D. D. Bactericidal activity of aqueous acrylic paint dispersion for wooden substrates based on TiO2 nanoparticles activated by fluorescent light. **Materials**, v. 6, n. 8, p. 3270–3283, 2013.