



Síntese de nanopartículas de prata e avaliação de sua toxicidade em comparação à prata iônica

Soraya Moreno Palacio¹, Rubine Andressa Ihabuinski², Elvio Antonio de Campos³

¹Mestrado em Engenharia Química/UNIOESTE (soraya_palacio@yahoo.com.br)

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná (rubinendressa@gmail.com)

³ Mestrado em Engenharia Química/UNIOESTE (elvioantonio@uol.com.br)

Resumo

Os nanomateriais estão presentes na sociedade e são cada vez mais utilizados, sendo a nanoprata um dos mais relevantes. Porém, há estudos que indicam que ela pode causar danos ao meio ambiente e aos seres vivos, incluindo os seres humanos. O objetivo deste trabalho foi sintetizar partículas de nanoprata e avaliar sua toxicidade em comparação aos íons prata (Ag^+) em solução, utilizando-se o bioensaio com sementes de alface. (*Lactuca sativa*). Nos ensaios, a nanoprata mostrou-se mais prejudicial ao desenvolvimento da planta que os íons de prata, tanto na germinação relativa quanto para o crescimento das raízes e radículas.

Palavras-chave: Nanoprata. Prata iônica. Toxicidade.

Área Temática: Impactos Ambientais

Abstract

*Nanomaterials are present in society and are increasingly used, is of greater relevance to nanosilver. However, some studies suggest it may cause damage to the environment and living beings, including humans. The objective of this study was to synthesize particles of nanosilver and evaluate their toxicity compared to silver ions (Ag^+) in solution, using the lettuce seed bioassay (*Lactuca sativa*). In tests, the nanosilver was more detrimental to plant growth than ions of silver, both in germination and relative growth of roots and rootlets.*

Key words: Nanosilver. Ionic silver. Toxicity.

Theme Area: Environmental impacts



1 Introdução

Os nanomateriais têm ganhado cada vez mais importância, visto as crescentes pesquisas na área e as aplicações desses materiais. Isso acontece porque as propriedades (sejam elas elétricas, catalíticas, óticas, etc.) atribuídas aos materiais dependem muito do tamanho de suas partículas, e manifestam-se a partir de um tamanho mínimo (o tamanho crítico). Em síntese, um nanocomposto é aquele que tem pelo menos uma dimensão na escala nanométrica e que seja inferior ao tamanho crítico, de modo que alguma propriedade seja alterada (ZARBIN, 2007).

Em função de suas diversas aplicações, consideram-se como principais usos os cosméticos (em protetores solares, nanoemulsões que têm características como textura que agradam mais os consumidores); os nanomateriais de carbono; aqueles usados para descontaminação ambiental (são aplicados como catalisadores para degradação de compostos orgânicos); aqueles usados para desinfecção, além de outras aplicações na medicina, como o estudo para liberação programada de fármacos (PASCHOALINO *et al*, 2010).

Devido ao uso frequente de nanomateriais, torna-se importante avaliar a sua toxicidade tanto para o meio ambiente quanto para o ser humano, pois, sendo partículas extremamente pequenas, a capacidade de deslocamento por todo o meio ambiente é considerável, o que as tornam disponíveis tanto na atmosfera, no meio aquático, bem como no solo. (PASCHOALINO *et al*, 2010).

Dessa forma, os organismos vivos estão expostos às nanopartículas, podendo ocorrer sua inalação, o contato com os tecidos epiteliais externos, assim como absorção ao nível celular e a ingestão involuntária, ocorrências que podem ser prejudiciais ao seu bem-estar. (PASCHOALINO *et al*, 2010).

A principal forma de exposição dos organismos vivos às nanopartículas é por meio da inalação. Além dos problemas gerados no sistema respiratório (inflamações, depósito nos alvéolos, asma, etc.), tais materiais podem chegar até a corrente sanguínea, e serem transportadas a outros órgãos, como exemplo o coração e o cérebro, causando danos a esses órgãos. (COSTA, 2009).

Em relação à absorção pelos tecidos externos, estudos sugerem que em tecidos saudáveis, os nanomateriais não conseguiram adentrar. Contudo, pouco foi pesquisado na área em por devido à ausência de voluntários. Em alguns peixes, a absorção se dá pelas guelras e tem a capacidade de causar inflamações nas mesmas, assim como diminuição da atividade da ATPase nas guelras e no intestino. (SHETLER, 2009).

Entre todas as nanopartículas pesquisadas, a nanoprata é a mais utilizada, e suas aplicações vem do início do século XX, dada sua ação bactericida sobre vários microorganismos, e também sobre alguns tipos de vírus, conforme Key e Mass (2001). Outros metais também foram pesquisados com o intuito de verificar sua capacidade de afetar microorganismos, como cádmio, chumbo, ferro, ouro, zinco, mercúrio, sendo este último o mais prejudicial aos seres humanos e a prata considerada menos tóxica para células animais. (BERNI NETO *et al*, 2008).

Contudo, o uso prolongado de prata iônica e nanoprata pode culminar a uma doença chamada Argíria, que é caracterizada pelo acúmulo de sais de prata na epiderme e nos órgãos internos, dando ao indivíduo aparência azulada. Por esse e demais motivos, em 1975 ela foi descartada oficialmente da Farmacopéia dos EUA. (COSTA, 2009).

Em comparação à prata iônica, a ação bactericida da nanoprata é ainda maior pois sendo um metal pesado, reage com grupos tióis (-SH) das proteínas que se encontram na membrana celular bacteriana, e causam a diminuição da permeabilidade da membrana levando ainda à morte do microorganismo. (COSTA, 2009).

As células dos mamíferos, por sua vez, não possuem grupos (-SH) em suas membranas para reagirem com a nanoprata, e dessa maneira as nanopartículas não conseguem



3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

adentrar nas células. (COSTA, 2009).

No entanto, Braydich-Stolle *et al.* (2005) verificaram a toxicidade sobre gametócitos, demonstrando que a prata coloidal era mais prejudicial ao desenvolvimento até mesmo que nanopartículas de cádmio. Eles apontaram também que células adultas são mais afetadas que outras linhas celulares, e nanopartículas de prata de aproximadamente 15 nm de diâmetro restringem a atividade das mitocôndrias (no ciclo energético, responsáveis por converter nutrientes em ATP). Neste caso, a nanoprata encontrada em implantes médicos poderia ser muito tóxica aos ossos e outros tecidos que entrassem em contato.

Costa (2009), em sua pesquisa sobre atuação da nanoprata em ratos, descobriu que os tecidos que possuem muitas mitocôndrias (como cérebro, ossos, coração, fígado, etc.) são mais suscetíveis à ação do nanomaterial, assim como a atividade da creatina quinase (proteína que possui grupos tióis) também foi reduzida.

No meio ambiente aparecimento de nanoprata, incluindo nos sistemas aquáticos é fruto do seu emprego cada vez maior nas indústrias, em produtos como embalagens de alimentos, fármacos, produtos de uso médico-hospitalar, cosméticos, materiais de uso no setor agrícola, entre outros. E, juntamente à sua utilização, há o descarte desses materiais, muitas vezes de forma inadequada, ou ainda, por serem materiais relativamente novos, não se sabe exatamente qual seu destino correto de forma que não cause riscos. (PASCHOALINO *et al.*, 2010).

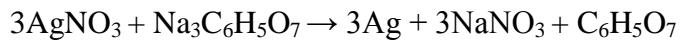
Nesta perspectiva, o impacto da nanoprata no meio ambiente carece de maiores estudos, inclusive são necessárias mais informações acerca da sua toxicidade (seja para os seres humanos, demais seres vivos ou todo o meio ambiente) e níveis seguros de exposição, para posterior desenvolvimento de tecnologias que possam controlar e tratar efluentes desse gênero no meio ambiente.

Tentando conhecer os efeitos da nanoprata, propôs-se uma forma de síntese e a avaliação da toxicidade da mesma em comparação com os efeitos do íon Ag⁺, utilizando o bioensaio de germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*).

2 Metodologia

2.1 Síntese da nanoprata

A síntese da prata nanoparticulada foi adaptada do método proposto por Turkevich *et al* (1951) e Monteiro (2009). A reação consiste na redução de íons prata (AgNO₃) com auxílio do citrato de sódio (Na₃C₆H₅O₇), nas concentrações de 0,001 mol L⁻¹ e 0,034 mol L⁻¹ (com pH entre 8,0 e 8,5), respectivamente, conforme reação abaixo:



Nesta reação, o citrato de sódio tem o papel de agente estabilizante da nanoprata no meio, evitando que ele retorne à sua forma iônica.

Num balão de fundo chato, 100 mL da solução de nitrato de prata foram aquecidos até 97°C. Então, foram adicionados 20 mL da solução de citrato de sódio. Esta mistura continuou sob aquecimento a 97°C e agitação magnética por aproximadamente 10 minutos, momento em que há o surgimento da coloração amarelo âmbar, que indica qualitativamente a obtenção da prata coloidal.

A síntese foi comprovada pelo espectro de absorção ultravioleta/visível (UV/Vis) na região de 300 a 800 nm.



2.2 Testes de germinação com sementes de alface

O método utilizado nos ensaios de toxicidade foi baseado na metodologia descrita por Sobrero e Ronco (2004). A técnica consiste na comparação do percentual de germinação das sementes de alface obtidas nas diluições: 1, 3, 10, 30 e 100% de solução de nanoprata e da solução de prata iônica ($0,001 \text{ mol L}^{-1}$), com adição de água dura reconstituída preparada segundo APHA (1998). O teste foi realizado em triplicata e a água dura foi utilizada como controle negativo.

Foram preparadas placas de Petri de 100 mm de diâmetro, as quais continham papel de filtro (Whatman, nº 3, de 90 mm de diâmetro). Cada placa foi saturada com 2,5 mL de cada diluição, evitando a formação de bolhas de ar entre a placa e o papel filtro. Neste meio, foram colocadas, com auxílio de uma pinça, 20 sementes com espaço suficiente entre elas para permitir o crescimento das raízes. As placas foram tampadas, acondicionadas em sacos plásticos fechados (impedindo a perda de umidade) e levadas à incubadora, por 120 horas à temperatura de 22 °C. O comprimento das raízes e radículas foram medidas em mm com auxílio de um paquímetro.

Como mais um parâmetro da toxicidade, calculou-se ainda a germinação relativa (GR), pela equação 1:

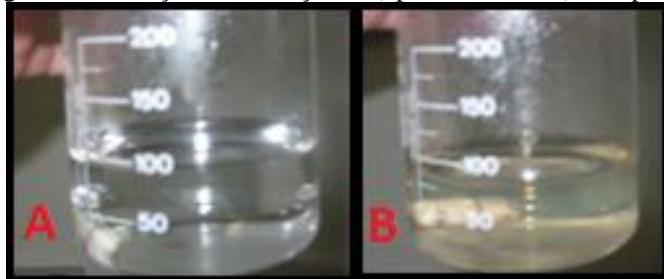
$$\% \text{ GR} = \frac{\text{nº de sementes que germinaram na amostra}}{\text{nº de sementes que germinaram no controle}} \times 100 \quad (1)$$

3 Resultados e discussão

3.1. Síntese da nanoprata

A síntese da nanoprata por meio da redução foi acompanhada em duas etapas, primeiramente de forma qualitativa, conforme figura 1.

Figura 1- Colorações das soluções: A) prata iônica e B) nanoprata.



A figura 1A apresenta a coloração da solução contendo prata iônica e a figura 1B mostra a obtenção da nanoprata que é identificada pelo aparecimento da cor amarela âmbar ao final da reação, conforme descrito por Monteiro (2009).

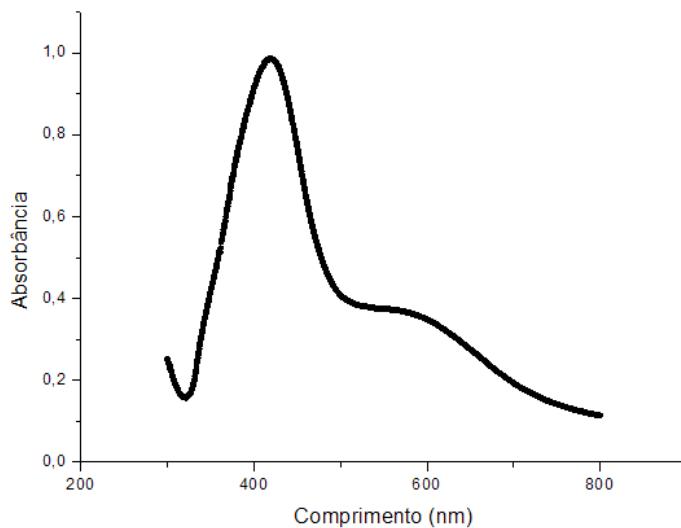
Em seguida, a síntese foi comprovada com o auxílio do espectro de absorção UV-Vis, com o aparecimento de uma banda na região de 430 nm (característico da nanoprata), descrito por Costa (2009), e que pode ser visualizado na figura 2.



3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

Figura 2 - Espectro característico da nanoprata



Segundo Das *et al* (2009) as bandas apresentadas no espectro (figura 2) sugerem diferentes tamanhos de nanopartículas, e Oldenburg (2011) afirma que bandas finas na região de comprimento de onda de 430 nm indicam partículas de 10 até 50 nm. Bandas largas (comprimento de onda próximo de 500 nm) atestam a presença de nanopartículas maiores, entre 50 e 100 nm. Bandas abaixo do comprimento de onda de 400 nm sugerem a presença de partículas menores de 10 nm.

3.2 Testes de toxicidade

Avaliou-se a toxicidade de acordo com o método descrito por Sobrero e Ronco (2004). Na Tabela 1 encontram-se os valores de germinação relativa (GR) das amostras, em porcentagem, calculado através da equação 1.

Tabela 1 - Germinação relativa das sementes.

Percentual de solução	Germinação relativa (%)	Ag ⁺
	Nanoprata	
1%	89	98
3%	76	89
10%	73	85
30%	71	79
100%	67	68

De acordo com a tabela 1, observou-se que a germinação relativa foi maior para as sementes expostas ao íon prata do que para a nanoprata, a germinação foi decrescente com o aumento da concentração do agente tóxico para ambas as soluções verificando assim o efeito de toxicidade aguda.

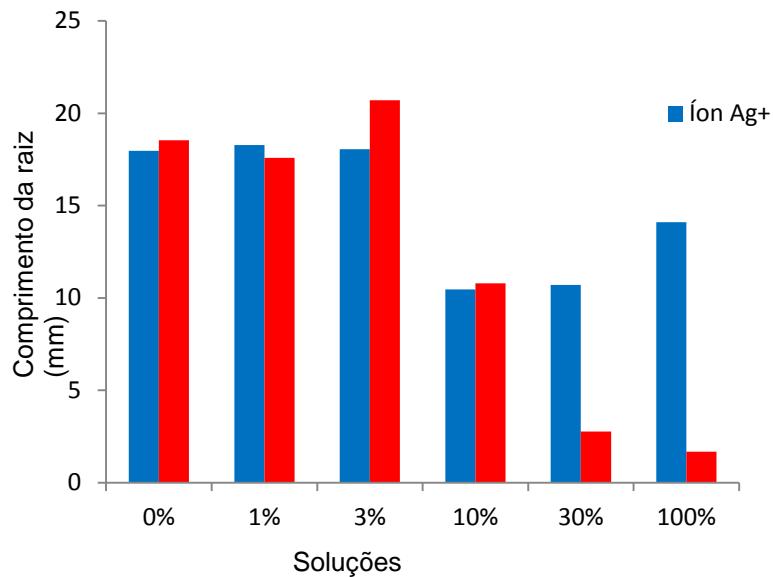
Em relação ao efeito sob o crescimento relativo das raízes, o mesmo pode ser observado na figura 3. Concentrações que não apresentaram toxicidade aguda, mas desenvolveram toxicidade crônica para o desenvolvimento da planta, de modo a inibir ou retardar seu crescimento.



3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

Figura 3 – Efeito das soluções sobre o crescimento das raízes.

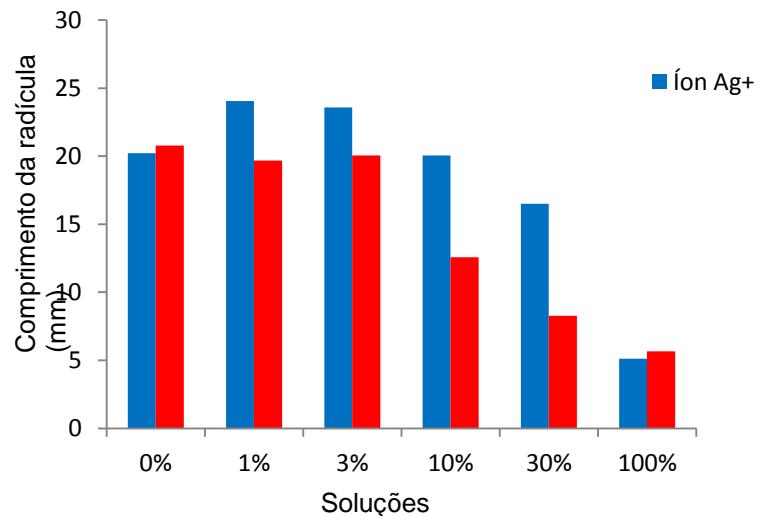


Comparativamente, a solução de nanoprata foi mais prejudicial que a solução de íons prata, o que é confirmado pela grande diferença na concentração de 100%, o crescimento médio foi de 1,7 mm, e 14,1 mm respectivamente, o que também é comprovado na concentração de 30% (2,8 mm e 10,7 mm, respectivamente).

Pelo gráfico, aparentemente na concentração de 3% observa-se que a variação no crescimento foi maior que o controle negativo, para ambas as soluções. No entanto, verificando o desvio padrão do crescimento amostras $18,1 \pm 4,2$ mm para prata iônica e $20,7 \pm 4,1$ mm para nanoprata, ambas estão próximas, e podem até mesmo ter comprimento menor que o controle negativo.

Já o efeito sobre as radículas pode ser visto na figura 4.

Figura 4 - Efeito das soluções sobre o crescimento das radículas.



Observa-se na figura que a prata coloidal é potencialmente mais prejudicial, notando-se as menores taxas de crescimento entre as concentrações de 1% e 30 %. Para a concentração de 100% considerando novamente o desvio padrão do comprimento médio das radículas ($5,1 \pm 2,2$ mm para a prata iônica e $5,7 \pm 1,7$ mm para a nanoprata), praticamente não há a



3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

diferença no crescimento das mesmas.

4 Conclusão

Os ensaios permitiram comparar a toxicidade da nanoprata e dos íons de prata para sementes de alface (*Lactuca sativa*). Os testes indicaram que a nanoprata é mais tóxica, seja na toxicidade aguda, com menor germinação relativa das sementes de alface expostas à nanoprata, assim como na toxicidade crônica, acompanhado pelo menor crescimento das raízes e das radículas em comparação às sementes expostas à prata iônica.

5 Referências

APHA- American Public Health Association. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, Whashington D.C.: AWWA, 1998, 20 ed.

BERNI NETO, E. et al. “Síntese de nanopartículas de prata para aplicação na sanitização de embalagens”, **Comunicado Técnico Embrapa**, v.1, n. 1,2008, p.1-4.

BRAYDICH-STOLLE, L. ; HUSSAIN, S.; SCHALAGER, J.J.; HOFFMAN, J. “*In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells*”. **Toxicological Sciences**, V. 88, n. 1,2005, p.412-419.

PIMENTEL, D.; BERGER, B.; FILIBERTO, D.; NEWTON, M. et al. “*Water Resources: Agricultural and Environmental Issues*”. **Bioscience**, v. 54, n. 10, Outubro de 2004, pg. 909-918.

COSTA, C. S. **Efeito in vitro de nanopartículas de prata em creatina quinase e cadeia respiratória celular**. Tese de Mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 1998, 73 p.

DAS, R. et al. “*Preparation of silver nanoparticles and their characterization*”. **Journal of Nanotechnology Online**, junho, p.1-6.

KEY, F. S.; MASS, G. **Ions, atoms and charged particles**, [online] Disponível em: <<http://www.silver-colloids.com/Papers/IonsAtoms%26ChargedParticles.PDF>> [Acessado: 10.Agos. 2011].

MONTEIRO, D. R. **Análise da incorporação de nanopartículas de prata a uma resina acrílica para base protética**. Tese de Mestrado, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2009, 98 p.

OLDENBURG, S. J. **Silver Nanoparticles: Properties and Applications**. Disponível em: <<http://www.sigmadralich.com/materials-science/nanomaterials/silver-nanoparticles.html#char>> [Acessado: 07. Nov.2011].

PASCHOALINO, M. et al. “*Os nanomateriais e a questão ambiental*”. **Química Nova**, v. 33, n. 2, 2010, p.421-430.



3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente

Bento Gonçalves – RS, Brasil, 25 a 27 de Abril de 2012

SHETLER, G. **Fish kill: Nanosilver mutates fish embryos.** Disponível em: <<http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=nanotechnology-silver-nanoparticles-fishmalformation>> [Acessado: 11.Agos.2011]

SOBRERO, M. et al. “*Ensayo de toxicidad aguda com semillas de lechuga*”. IN: **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**, Chile: Facultad de Ciencias Fisicas y Matemáticas, 2004.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P.; HILLIER, J. “*A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold*”. **Discussion Faraday Society**, v. 11, 1976, p.55-75.

ZARBIN, A. “*Química de (nano)materiais*”, **Química Nova**, v. 30, n. 6, 2007, p.1469-1479.