



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA - RENORBIO

Síntese Verde de Nanocompósitos de Palygorskita/Nanopartículas de Prata/Goma de Cajueiro (Pal/AgNPs/GC) para uso como agente antibacteriano com vistas a aplicações biotecnológicas

CRISTIANY MARINHO ARAÚJO

TERESINA-PI
DEZEMBRO/2019

CRISTIANY MARINHO ARAÚJO

Síntese Verde de Nanocompósitos de Palygorskita/Nanopartículas de Prata/Goma de Cajuiro (Pal/AgNPs/GC) para uso como agente antibacteriano com vistas a aplicações biotecnológicas

Trabalho submetido ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - RENORBIO, Ponto Focal - Piauí, Universidade Federal do Piauí - UFPI, como parte dos requisitos à para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia em Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Eiras

**TERESINA-PI
DEZEMBRO/2019**

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Divisão de Processos Técnicos

A663s Araújo, Cristiany Marinho

Síntese Verde de Nanocompósitos de Palygorskita /
Nanopartículas de prata / goma de cajueiro (PAL /AgNPs / GC)
para uso como agente antibacteriano com vistas a aplicações
biotecnológicas / Cristiany Marinho Araújo – 2019.

209 f.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Rede Nordeste de
Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2019.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. “ Carla Eiras “

1. Biotecnologia. 2. Agente Antibacteriano. I. Título.

CDD 660.6

FOLHA DE APROVAÇÃO

ALUNA: CRISTIANY MARINHO ARAÚJO

TÍTULO DO PROJETO: “Síntese Verde de Nanocompósitos de Palygorskita/Nanopartículas de Prata/Goma de Cajueiro (Pal/AgNPs/GC) para uso como agente antibacteriano com vistas a aplicações biotecnológicas”.

PROFESSORA ORIENTADORA: Profa. Dra. Carla Eiras.

BANCA EXAMINADORA	CONCEITO	ASSINATURA
BANCA EXAMINADORA:	CONCEITO	ASSINATURA
Profa. Dra. Carla Eiras - UFPI (Presidente)	<u>Satisfatório</u>	<u>Carla Eiras</u>
Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva - UFPI (Examinadora)	<u>Satisfatório</u>	<u>Durcilene Alves da Silva</u>
Prof. Dr. José Milton Elias de Matos- UFPI (Examinador)	<u>Satisfatório</u>	<u>José Milton Elias de Matos</u>
Prof. Dr. Luiz Carlos Bertolino - CETEM-RJ (Examinador)	<u>Satisfatório</u>	<u>Luiz Carlos Bertolino</u>
Prof. Dr. Paulo Ronaldo Sousa Teixeira- IFPI (Examinador)	<u>Satisfatório</u>	<u>Paulo Ronaldo Sousa Teixeira</u>

DATA DA AVALIAÇÃO: 10/12/2019

HORÁRIO: 14:00 h

LOCAL: Auditório da Pós-Graduação de Engenharia de Materiais – Centro de Tecnologia Ciências dos Materiais, CT, UFPI, em Teresina-PI.

À minha mãe (Maria de Fátima), meus irmãos (Júnior e João Pedro), meu esposo (Antonio) e aos meus filhos (Felipe Gabriel e Pedro Miguel), minha base e meu alicerce.

AGRADECIMENTOS

Ao longo de nossas vidas, Deus sempre coloca “anjos da guarda” que nos ajudam e auxiliam ao alcançar nossos objetivos. Quero expressar aqui meus sinceros agradecimentos:

↪ *À Deus, toda a minha gratidão, por estar presente em minha vida, me guiando, iluminando, encorajando e sendo minha fortaleza.*

↪ *À minha mãe, Maria de Fátima Marinho, pelo exemplo de dedicação, amor, apoio, incentivo e ajuda ao longo da minha vida. Sua presença é uma benção de Deus.*

↪ *Ao meu esposo, Antônio, pelo amor, apoio, companheirismo, amizade e incentivo.*

↪ *Aos meus filhos, Felipe Gabriel e Pedro Miguel, meus amores e razões da minha vida.*

↪ *Aos meus irmãos, Kleber Júnior e João Pedro, pela amizade, companheirismo e apoio.*

↪ *À minha avó, Laura Marinho (in memoriam) pelo seu amor, apoio e carinho. Quantas saudades!*

↪ *À todos os meus familiares, tios (as), primos (as) e sobrinhas, por se fazerem presentes em minha vida e pelo apoio.*

↪ *Aos amigos que conquistei ao longo da vida.*

↪ *À minha amiga, Ana Marreiro, por ser presente, sempre me apoiando e com palavras amigas durante essa caminhada. Você foi um presente de Deus em minha vida.*

↪ *À minha orientadora, Prof^a Dra. Carla Eiras, muito obrigada, por toda ajuda, incentivo, apoio e por acreditar na realização desse projeto.*

↪ *À todos (as) aqueles (as) que fazem ou fizeram parte Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Novos materiais e Sistemas Sensores – MatSens, Ana, Emanuel, Rafael Rodrigues, Karla, Railson Machado, Wollia, Kayo, Emanuel, Éster, Clara, Joziel, Regilma, Ermandes, Leandro, Islaine e Wanderson pela ajuda, apoio e momentos de alegrias ao longo*

dessa jornada. Em especial, ao Moisés Santana, pela sua amizade, apoio e ajuda nesse trabalho, muito obrigada pela sua disponibilidade e atenção.

↪ Ao professor Dr. Luiz Carlos Bertolino, colaborador deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos e respeito.

↪ Ao professor Dr. Humberto Medeiros Barreto e a técnica Carla Adriana Rodrigues de Sousa Brito pela ajuda com os testes microbiológicos.

↪ Ao professor Dr. Lívio César Cunha Nunes pela orientação e ajuda na redação da patente dessa pesquisa.

↪ Aos funcionários do LIMAV, em especial Edgar, Kelson, Kílson, e Raimundo.

↪ À Universidade Federal do Piauí (UFPI) por meio do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (RENORBIO) pela contribuição para o meu crescimento profissional, intelectual e humano.

↪ Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Renorbio).

↪ Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, campus Parnaíba e Teresina Zona Sul pelo apoio e dispensa concedida para a realização do doutorado.

↪ Aos professores do curso de Licenciatura em Química e demais professores do IFPI, campus Parnaíba pela ajuda e apoio, em especial, Janiciara Botelho, Raimunda Carvalho, Bartholomeu Araújo, Vilma Dias e Gilvana Parente.

↪ Aos professores do curso técnico de Saneamento ambiental pela ajuda e apoio para a concretização desse trabalho.

↪ E, finalmente agradeço a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desse sonho.

À todos meu muito obrigada!

“Aí sim, lá na chegada, onde o fim é evidente, é que a gente percebe que foi tudo de repente, e aprende na despedida que o sentido da vida é sempre seguir em frente”.

(Poeta Bráulio Bessa)

RESUMO

A busca por novos materiais nanoestruturados com atividade antimicrobiana e, que surjam como alternativa em aplicações biotecnológicas tem sido destaque na atualidade. Tal fato deve-se ao aumento nos últimos anos de cepas bacterianas cada vez mais resistentes a agentes antibacterianos e antibióticos convencionais. Dentro deste contexto, o emprego de recursos naturais no desenvolvimento destes materiais nanoestruturados torna-se interessante por se tratar de uma oportunidade para agregar valor a um produto regional, abundante, de baixo custo e ainda pouco explorado comercialmente, como é o caso do argilomineral palygorskita (Pal). Dessa forma, o objetivo dessa pesquisa foi o desenvolvimento de um nanocompósito utilizando a palygorskita (Pal), nanopartículas de prata (AgNPs) e goma de cajueiro (GC) para aplicações como agente antibacteriano. No sentido de analisar a originalidade do trabalho, foi realizada uma pesquisa de prospecção científica e tecnológica nas bases científicas da *Web of Science*, *Scopus* e *Scielo*, bem como, nos bancos de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial – INPI, Escritório Europeu de Patentes – *Espacenet* e Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos – *USPTO*, o que demonstrou que o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC obtidos via síntese verde para aplicação como agente antibacteriano é algo inovador, visto que não foi encontrado nenhum relato na literatura com abordagem semelhante. Dessa forma, as AgNPs foram sintetizadas via síntese verde, utilizando o sal precursor nitrato de prata (AgNO_3) e polissacarídeos naturais exsudados da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) sendo estas caracterizadas pelas técnicas de Espectroscopia na Região do Ultravioleta-visível (UV-vis), Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), Potencial zeta e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM), confirmando a formação com sucesso das AgNPs de formato esférico e seu revestimento com a goma de cajueiro (GC). A Pal passou por tratamentos físicos e químicos para a remoção de impurezas e matéria orgânica. A Pal e o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram caracterizados por Difração de Raios – X (DRX), Área superficial (S_{BET}), Análises Térmicas, Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). Tais técnicas comprovaram a redução de impurezas na palygorskita, como também a formação do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC. Foi avaliada também a atividade antibacteriana da Pal, das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC pelo método de contato direto contra cepas de *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e *Escherichia coli* (Gram-negativa). Tais resultados mostraram que o nanocompósito obtido apresentou os maiores efeitos de inibição tanto para as bactérias de *S. aureus* (85,3%), quanto para as bactérias de *E. coli* (70,2%). O nanocompósito de Pal/AgNPs/GC também não apresentou toxicidade frente à *Artemia salina*. Desse modo, os nanocompósitos de Pal/AgNPs/GC são considerados promissores com grande potencial de aplicação como agente antibacteriano.

Palavras-chave: Nanocompósitos, síntese verde, palygorskita, nanopartículas de prata, agente antibacteriano.

ABSTRACT

The search for new nanostructured materials with antimicrobial activity and that appear as an alternative in biotechnological applications has been highlighted today. This fact is due to the increase in recent years of bacterial strains increasingly resistant to antibacterial agents and conventional antibiotics. Within this context, the use of natural resources in the development of these nanostructured materials is interesting because it is an opportunity to add value to a regional product, abundant, of low cost and still little explored commercially, as is the case of palygorskite clay (Pal). Thus, the objective of this research was the development of a nanocomposite using palygorskite (Pal), silver nanoparticles (AgNPs) and cashew gum (GC) for applications as an antibacterial agent. In order to analyze the originality of the work, a research of scientific and technological prospecting was carried out in the scientific bases of the Web of Science, Scopus and Scielo, as well as in the patent banks of the *National Institute of Industrial Property - INPI*, *European Patent Office - Espacenet* and the *United States Patent and Trademark Office - USPTO*, which demonstrated that the Pal/AgNPs/GC nanocomposite obtained through green synthesis for application as an antibacterial agent is somewhat innovative, since no report has been found in the literature with an approach similar. Thus, AgNPs were synthesized via green synthesis, using the silver nitrate precursor salt (AgNO_3) and natural polysaccharides exuded from cashew gum (*Anacardium occidentale L.*), which are characterized by Spectroscopy techniques in the Ultraviolet-visible (UV) Region-vis), Dynamic Light Scattering (DLS), zeta potential and Transmission Electron Microscopy (TEM), confirming the successful formation of spherical shaped AgNPs and their coating with cashew gum (GC). Pal has undergone physical and chemical treatments to remove impurities and organic matter. The Pal and the Pal/AgNPs/GC nanocomposite were characterized by X-Ray Diffraction (XRD), Surface Area (S_{BET}), Thermal Analysis, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM), Dispersive Energy Spectroscopy (EDS) and Transmission Electron Microscopy (TEM). Such techniques proved the reduction of impurities in the palygorskite, as well as the formation of the Pal/AgNPs/GC nanocomposite. The antibacterial activity of Pal, AgNPs and the nanocomposite of Pal/AgNPs/GC was also evaluated by the method of direct contact against strains of *Staphylococcus aureus* (Gram-positive) and *Escherichia coli* (Gram-negative). Such results showed that the obtained nanocomposite had the greatest inhibition effects both for *S. aureus* bacteria ($85.3\% \pm 1.62$) and for *E. coli* bacteria ($70.2\% \pm 1.34$). The Pal/AgNPs/GC nanocomposite also showed no toxicity against *Artemia salina*. Thus, Pal/AgNPs/GC nanocomposites are considered promising with great potential for application as an antibacterial agent.

Keywords: Nanocomposites, green synthesis, Palygorskite clay, Silver nanoparticles, antibacterial agent.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Fundamentação Teórica

Figura 1 – Comparação de tamanhos de nanomateriais com outros materiais comuns	33
Figura 2 – Áreas de aplicações da Nanotecnologia	34
Figura 3 – Representação dos tipos de nanomateriais baseados em sua dimensionalidade	35
Figura 4 – Tipos de nanopartículas metálicas e suas principais aplicações biotecnológicas	36
Figura 5 – Representação da síntese de nanopartículas pelos métodos <i>Top-down</i> e <i>Bottom-up</i>	37
Figura 6 – Representação esquemática do processo de síntese de nanopartículas de prata, utilizando como agentes redutores o borohidreto de sódio (NaBH_4) e o citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	38
Figura 7 – Mecanismo de estabilização de nanopartículas metálicas	38
Figura 8 – Esquema representativo do efeito da <i>Ressonância de plasmon de superfície localizada</i>	40
Figura 9 – Banda de ressonância plasmônica de superfície para nanoesferas de Ag, Au e Cu	41
Figura 10 – Espectros eletrônicos e cores de soluções coloidais de prata em quatro estágios de agregação: (a) solução amarela clara, (b) cor de laranja, (c) violeta e (d) cinza.....	43
Figura 11 – Esquema do mecanismo da ação de íons Ag^+ e AgNPs em célula bacteriana	45
Figura 12 – Esquema da formação de nanopartículas de prata	47
Figura 13 – (A) Exsudato obtido de Cajueiro e (B) Goma de cajueiro	53
Figura 14 – Unidades de monossacarídeos presentes na goma de cajueiro	54

Figura 15 – Estrutura provável de fragmento da goma de cajueiro	55
Figura 16 – Unidades estruturais de argilominerais: (a) tetraedros de óxido de silício, (b) octaedros de hidróxido de alumínio e magnésio e (c) esquema da estrutura cristalina de uma esmectita	60
Figura 17 – Esquema estrutural de uma argila 1:1 e 2:1.....	62
Figura 18 – Mapa do estado do Piauí, destacando as cidades de Guadalupe e Teresina – PI	63
Figura 19 – Representação da estrutura da Palygorskita	64
Figura 20 – Estrutura microscópica obtida por MEV da Palygorskita.....	65

CAPÍTULO 2

Mapeamento tecnológico sobre o uso de nanocompósitos de palygorskita/nanopartículas de prata como agente bactericida em aplicações biotecnológicas

Figura 1 – Quantidade de artigos científicos publicados por ano utilizando os termos “ <i>Palygorskite</i> ” ou “ <i>Attapulgate</i> ” na base de periódicos <i>Scopus</i> no período de janeiro/2008 a Fevereiro/2019	92
Figura 2 – Áreas que mais publicaram artigos com os termos “ <i>Palygorskite</i> ” ou “ <i>Attapulgate</i> ” na base de periódicos <i>Scopus</i> no período de janeiro/2008 a Fevereiro/2019.....	93
Figura 3 – Os 20 países que mais publicaram artigos científicos com os termos “ <i>Palygorskite</i> ” ou “ <i>Attapulgate</i> ” de Janeiro/2008 a Fevereiro/2019 utilizando dados fornecidos pela base de periódicos <i>Scopus</i>	94
Figura 4 – Porcentagem de depositantes no banco de patentes do INPI utilizando as Palavras chave <i>Palygorskite</i> OR <i>Attapulgate</i>	98
Figura 5 – Quantidade de patentes na base do INPI, utilizando as Palavras “ <i>Palygorskita</i> ” ou “ <i>Atapulgita</i> ” de acordo com os códigos da Classificação Internacional de Patentes (CIP)	99

CAPÍTULO 3

Nanocompósitos de Palygorskita/Nanopartículas de Prata (Pal/AgNPs/GC) via síntese verde para aplicações bactericidas.

Figura 1 – Fluxograma do processo de purificação da Palygorskita	118
Figura 2 – Esquema da síntese das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC	119
Figura 3 – (a) Mudança de coloração da solução incolor de AgNO ₃ para amarelo indicando a formação de suspensão coloidal das AgNPs via síntese verde e (b) Espectro de absorção UV-Vis das AgNPs à base de goma de cajueiro, a seta no gráfico indica a absorbância máxima em 409 nm	125
Figura 4 - Histograma mostrando a distribuição do tamanho hidrodinâmico médio das AgNPs, com maior frequência de tamanho em torno de 3,8 nm (sd ± 0,95)	127
Figura 5 - Potencial Zeta das AgNPs	128
Figura 6 - Imagens das AgNPs via síntese verde por Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) (a, b e c) e Histograma de distribuição de tamanhos (d)	130
Figura 7 – Difratoograma de raios – X da (a) Pal <i>in natura</i> e (b) Pal purificada e (c) Nanocompósito de Pal/AgNPs/GC	132
Figura 8 – Imagens obtidas por MEV da Pal <i>in natura</i> com as seguintes magnitudes de ampliação: (a) 20.000x; (b) 50.000x; (c) 100.000x; (d) 200.000x	134
Figura 9 – Imagens obtidas por MEV da Pal purificada com as seguintes magnitudes de ampliação: (a) 20.000x; (b) 30.000x; (c) 100.000x; (d) 200.000x	135
Figura 10 – (a) Imagem da Pal <i>in natura</i> e (b) Espectro de EDS da Pal <i>in natura</i>	136
Figura 11 – (a) Imagem da Pal purificada e (b) Espectro de EDS da Pal purificada	137
Figura 12 – Imagens de TEM do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC	139

Figura 13 – Espectros de FTIR (a) das AgNPs via síntese verde, (b) do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC, (c) da Goma de Cajueiro (GC) e (d) da Pal	141
Figura 14 – Curvas TG/DTG da Palygorskita	144
Figura 15 – Curvas TG/DTG do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC	145
Figura 16 – Curvas TG/DTG da Goma de cajueiro (GC)	145
Figura 17 – Curvas DSC da Pal, do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC e da Goma de cajueiro (GC)	149
Figura 18 – (a) Cepa padrão da bactéria <i>E. coli</i> (ATCC 25.922), (b) Efeito inibitório da palygorskita frente à cepa padrão da bactéria <i>E. coli</i> , (c) Cepa padrão da bactéria <i>S. aureus</i> (ATCC 25.923) e (d) Efeito inibitório da palygorskita frente à cepa padrão da bactéria <i>S. aureus</i>	151
Figura 19 – (a) Cepa padrão da bactéria <i>E. coli</i> (ATCC 25.922), (b) Efeito inibitório das nanopartículas de prata (AgNPs) frente à cepa padrão da bactéria <i>E. coli</i> (c) Cepa padrão da bactéria <i>S. aureus</i> (ATCC 25.923) e (b) Efeito inibitório das AgNPs frente à cepa padrão da bactéria <i>S. aureus</i>	152
Figura 20 – (a) Cepa padrão da bactéria <i>E. coli</i> (ATCC 25.922), (b) Efeito inibitório do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC frente à cepa padrão da bactéria <i>E. coli</i> , (c) Cepa padrão da bactéria <i>S. aureus</i> (ATCC 25.923) e (b) Efeito inibitório do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC frente à cepa padrão da bactéria <i>S. aureus</i>	155

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Fundamentação Teórica

Tabela 1 – Algumas características da goma de cajueiro do Brasil	56
Tabela 2 – Algumas Aplicações da goma de cajueiro	56
Tabela 3 – Algumas aplicações da Palygorskita	66

CAPÍTULO 2

Mapeamento tecnológico sobre o uso de nanocompósitos de palygorskita/nanopartículas de prata como agente bactericida em aplicações biotecnológicas

Tabela 1 – Quantidade de artigos encontrados nas bases científicas: <i>Scopus</i> , <i>Web of Science</i> e <i>Scielo</i> , utilizando as Palavras chave “ <i>Palygorskite</i> ” OR “ <i>Attapulгите</i> ” e suas combinações	91
Tabela 2 – Número de Patentes encontradas nas buscas realizadas nos bancos de dados: Espacenet, USPTO e INPI, utilizando as Palavras chave “ <i>Palygorskite</i> ” OR “ <i>Attapulгите</i> ”.....	97

CAPÍTULO 3

Nanocompósitos de Palygorskita/Nanopartículas de Prata (Pal/AgNPs/GC) via síntese verde para aplicações bactericidas

Tabela 1 – Elementos presentes na estrutura da Pal <i>in natura</i> obtidos por EDS	138
Tabela 2 - Elementos presentes na estrutura da Pal purificada obtidos por EDS	139
Tabela 3 – Valores de área superficial específica da Pal <i>in natura</i> , Pal	

purificada e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC	141
Tabela 4 - Relação dos eventos TG/DTG da Pal e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC	149
Tabela 5 - Efeito inibitório sobre o crescimento bacteriano pela Pal, AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC sobre cepas padrão do tipo <i>E. coli</i> (ATCC 25922) e <i>S. aureus</i> (ATCC 25923).....	152
Tabela 6 - Resultados dos testes de toxicidade contra <i>A. salina</i> das amostras de Pal purificada e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC realizados em triplicata	158

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag	Prata
Ag₂CO₃	Carbonato de prata
Ag(NH₃)²⁺	Íon diamino prata
Ag(NH₃)₂OH	Reagente de Tollens
AgNO₃	Nitrato de prata
AgNPs	Nanopartículas de prata
Ag₃PO₄	Fosfato de prata
AIPEA	Associação Internacional de Estudos para Argilas
<i>A. salina</i>	<i>Artemia salina</i>
ATPG	Atapulgita
Au	Ouro
AuNPs	Nanopartículas de ouro
BHI	Brain Heart Infusion Broth
BIOTEC	Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia
BR	Brasil
Cd	Cádmio
CETEM	Centro de Tecnologia Mineral
C₆H₅Na₃O₇	Citrato de sódio
C₃H₇NO	Dimetilformamida
C₆H₈O₆	Ácido ascórbico
C₂H₆O₂	Etilenoglicol
C₆H₆O₂	Hidroquinona
Co	Cobalto
CuNPs	Nanopartículas de cobre
Cr	Cromo

DLS	Espalhamento Dinâmico da Luz
DL₅₀	Dose Letal 50%.
DRX	Difração de Raios X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTG	Análise Termogravimétrica Derivada
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva
EPO	<i>European Patent Office</i> / Instituto Europeu de Patentes
Espacenet	European Patent Office / Instituto Europeu de Patentes
EUA	Estados Unidos
Fe	Ferro
Fe₂O₃	Óxido de ferro
FTIR	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Forrier
GC	Goma de Cajueiro
Hg	Mercúrio
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFMA	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão
IFPI	Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Piauí
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Intelectual
ISO – TC	International Organization for Standardization – Technical Committee/ Organização Internacional de Normalização - Comitê Técnico
LaB₆	Hexaboreto de lantânio
LSPR	Ressonância de Plasmon de Superfície Localizada
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

Mn	Manganês
Mo	Molibidênio
NaBH₄	Borohidreto de sódio
N₂H₄	Hidrazina
nm	Nanômetros
NNI	The National Nanotechnology Initiative
NPs	Nanopartículas
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
Pal	Palygorskita
Pal/AgNPs/GC	Palygorskita/Nanopartículas de prata/Goma de Cajueiro
Pani	Polianilina
PDI	Índice de Polidispersão
PI	Piauí
Pb	Chumbo
POMs	Método do Polioximetaltos
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S_{BET}</i>	Área superficial específica pelo método de (Braunauer, Emmet e Teller)
SDD	Silicon drift detectors
SiO₂	Dióxido de Silício
Sn	Estanho
SPR	<i>Surface Plasmon Resonance</i> / Ressonância Plasmônica de Superfície
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão
T_f	Temperatura final
TG	Análise Termogravimétrica
T_i	Temperatura inicial
T_m	Temperatura máxima

TiO₂	Dióxido de Titânio
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFPI	Universidade Federal do Piauí
USPTO	Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos
UV-vis	Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível
WIPO	Organização Mundial de Propriedade Intelectual
Zn	Zinco
ZnO	Óxido de zinco
OD	Dimensão zero
1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
3D	Tridimensional

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	23
REFERÊNCIAS	25
OBJETIVOS	28
Objetivo Geral	28
Objetivos Específicos	28
CAPÍTULO 1- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	30
1 NANOTECNOLOGIA	31
1.1 Nanomateriais	34
2 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	35
2.1 Nanopartículas de prata (AgNPs)	41
2.1.1 Nanopartículas de prata e atividade antimicrobiana	43
2.1.2 Métodos de síntese de nanopartículas de prata	46
2.1.2.1 Síntese verde de AgNPs	49
2.1.2.1.1 Polissacarídeos naturais	51
2.1.2.1.1.1 Goma do Cajueiro (GC)	52
3 NANOCOMPÓSITOS ARGILA/NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	58
4 ARGILOMINERAIS	60
4.1 Argila Palygorskita	62
3.1.1 Origem, estrutura e propriedades	62
3.1.2 Aplicações da Palygorskita	65

REFERÊNCIAS	67
CAPÍTULO 2 - ARTIGO DE PROSPECÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA- Mapeamento tecnológico sobre o uso de nanocompósitos Palygorskita/Nanopartículas de Prata como agente bactericida em aplicações biotecnológicas	84
RESUMO.....	85
ABSTRACT.....	86
1 INTRODUÇÃO.....	87
2 METODOLOGIA.....	90
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
3.1 Análise de Artigos Publicados.....	91
3.2 Análise do número de patentes encontradas nos bancos de dados INPI, ESPACENET e USPTO.....	96
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	100
REFERÊNCIAS.....	101
CAPÍTULO 3 - ARTIGO CIENTÍFICO: Nanocompósitos de Palygorskita/Nanopartículas de Prata/Goma de Cajueiro (Pal/AgNPs/GC) via síntese verde para aplicações como agente bacteriano	108
RESUMO	110
ABSTRACT	111
1 INTRODUÇÃO.....	112
2 MATERIAIS E MÉTODOS	117
2.1 Materiais e Reagentes.....	117
2.2 Métodos	118
2.2.1 Tratamento da Palygorskita (Pal)	118
2.2.2 Síntese das nanopartículas de prata (AgNPs) e do nancompósito de	

Palygorskita/Nanopartículas de prata (Pal/AgNPs/GC)	119
2.2.3 Caracterização das AgNPs, da Pal e do nanocompósito (Pal/AgNPs/GC) ..	120
2.2.3.1 Espectroscopia na região ultravioleta visível (UV-Vís.)	120
2.2.3.2 Tamanho hidrodinâmico médio, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (ζ)	120
2.2.3.3 Microscopias Eletrônicas	121
2.2.3.4 Difração de Raios X (DRX)	121
2.2.3.5 Área Superficial Específica (S_{BET})	122
2.2.3.6 Análise Térmica	122
2.2.3.7 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	123
2.2.4 Estudo da atividade antibacteriana	123
2.2.4.1 Cepas Bacterianas	123
2.2.4.2 Preparação do inóculo bacteriano	123
2.2.4.3 Teste do contato direto	124
2.2.5 Ensaio de Toxicidade	125
2.2.5.1 Preparo das amostras e Ensaio de letalidade em <i>Artemia Salina</i> Leach ..	125
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	126
3.1 Caracterização das AgNPs	126
3.1.1 Análise de espectro UV-Vis	126
3.1.2 Estudo do tamanho hidrodinâmico médio, potencial zeta (ζ) e índice de polidispersão (PDI) das AgNPs	128
3.1.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) das AgNPs	130
3.2 Caracterização da Pal <i>in natura</i>, da Pal purificada e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC	132

3.2.1 Difração de Raios X (DRX)	132
3.2.2 Microscopias eletrônicas	134
3.2.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios - X (EDS) da Pal <i>in natura</i> e da Pal purificada	134
3.2.2.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) do nanocompósito Pal/AgNPs/GC	140
3.2.3 Área Superficial Específica (S_{BET})	141
3.2.4 Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	142
3.2.5 Análises Térmicas	145
3.2.5.1 Análise Termogravimétrica/Análise Termogravimétrica Derivada (TG/DTG)	145
3.2.5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	150
3.3 Propriedades antibacterianas da Pal, das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC	151
3.4 Ensaio de toxicidade com a espécie <i>Artemia salina</i>.....	158
4 CONCLUSÃO.....	159
REFERÊNCIAS.....	160
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	175
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	177
ANEXOS.....	178
APÊNDICE	180

INTRODUÇÃO

A importância dos materiais na vida humana é tão significativa, que as diferentes eras do início das civilizações foram definidas pela relação e o domínio que o homem possuía com os materiais, como a idade da pedra, do bronze e do ferro. O uso dos materiais para proteção, alimentação, vestimenta, moradia, etc, não só distingue a raça humana dos outros animais, como também lhe garantiu sua sobrevivência e ascendência sobre outras espécies (ZARBIN, 2007).

A utilização, o domínio, o desenvolvimento e a exploração de materiais diferentes têm uma profunda influência no desenvolvimento social e possui relação direta com aspectos socioeconômicos, culturais, geográficos, demográficos, ambientais, dentre outros (ZARBIN, 2007).

Com o advento da Nanociência e Nanotecnologia, houve um aumento no número de estudos que buscam o desenvolvimento de novos materiais obtidos em escala nanométrica de tamanho, os chamados nanomateriais. Seu interesse deve-se a expectativa pelo impacto que estes podem proporcionar para uma melhor qualidade de vida da população, bem como, sua aplicação em várias áreas da ciência e da tecnologia (PERRET *et al.*, 2016; BAVASSO *et al.*, 2016).

Dentre os vários tipos de materiais utilizados como agentes antimicrobianos, os materiais nanoestruturados são considerados mais eficazes em virtude da alta relação área/volume (SIDDIQI; HUSEN, 2016; HAN *et al.*, 2016). Entre os exemplos de materiais nanoestruturados, o uso de nanopartículas inorgânicas (NPs) como agentes antimicrobianos possuem vários benefícios, como maior estabilidade e segurança, se comparadas com os agentes antimicrobianos orgânicos (TALEBIAN; ZARE, 2014; WANG *et al.*, 2014).

As nanopartículas de prata (AgNPs) vêm sendo relatadas como agente antimicrobiano eficazes a muitos anos, sendo estas utilizadas em um ampla gama de aplicações, que incluem desde a purificação de água, tratamento de feridas e produção de alimentos, dentre outras (MARYAN *et al.*, 2015; CALDERON *et al.*, 2015).

O interesse do uso da prata como agente antimicrobiano está relacionado com o fato dela apresentar o maior grau de toxicidade para mais de 650 tipos de

microrganismos patogênicos, porém, apresenta baixa toxicidade para células animais. Contudo, quando a prata é utilizada em sua forma nanométrica sua atividade antimicrobiana é potencializada (GUGGENBICHLER *et al.*, 1999; PESSANHA, 2014).

No entanto, um dos grandes problemas enfrentados pela sociedade na atualidade é o número cada vez crescente da quantidade de cepas bacterianas resistentes a bactericidas e antibióticos convencionais. Devido a alguns agentes antimicrobianos serem extremamente irritantes e tóxicos, várias pesquisas tem buscado o desenvolvimento de novos tipos de materiais biocidas seguros e com boa relação custo/benefício (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004).

Contudo, o uso das AgNPs livres sem uma matriz de suporte podem ser inadequadas para aplicações em que a liberação prolongada de Ag é necessária, como por exemplo, em dispositivos médicos (RIVERO *et al.*, 2015). Bem como, seu pequeno tamanho pode favorecer sua agregação, o que pode levar a desvantagens nas suas propriedades químicas, físicas e antibacterianas (LI; CHAN, 2015).

Uma forma de contornar tais problemas é combinar as AgNPs com outros materiais ecologicamente “corretos”, inertes e de baixo custo, favorecendo a exploração de suas propriedades para uso em diversas aplicações (EREMENKO *et al.*, 2016). A combinação de materiais compósitos híbridos em que pelo menos um de seus componentes apresentem dimensões nanométricas são denominados de nanocompósitos (BOTAN *et al.*, 2011; MORAES *et al.*, 2014).

Assim, dentre as possíveis matrizes que podem ser utilizadas juntamente com as AgNPs, as argilas se tornam atraentes em virtude de sua relação custo/eficácia e ampla disponibilidade (HUSEN; SIDDIQI, 2014; MOTSHEKGA *et al.*, 2013). O uso de compostos de origem natural tem sido foco para o desenvolvimento de novos materiais que a partir de sua nanoestruturação permitam o surgimento ou potencialização das propriedades já descritas na literatura visando novas aplicabilidades. Como é o caso da argila Palygorskita (Pal), uma argila natural amplamente disponível no estado do Piauí e ainda pouca explorada de forma comercial, sendo uma oportunidade de agregar valor a um produto regional.

Além, da utilização da argila como recurso natural na síntese dos nanocompósitos de Pal/AgNPs/GC, a presente pesquisa também utilizou polissacarídeos exsudados da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) como

agente redutor e/ou estabilizante das nanopartículas. Sendo esta rota de síntese chamada de “síntese verde”, que é considerada uma alternativa em substituição a algumas sínteses químicas e físicas que usam produtos tóxicos ou geram resíduos prejudiciais ao meio ambiente. A crescente necessidade por rotas ecologicamente “verdes”, que não agridam ao meio ambiente e possuam vantagens como simplicidade, rentabilidade e utilização de produtos naturais com compatibilidade para atividades antibacterianas, antioxidantes e antitumorais têm sido o foco de diversas pesquisas (PARASHAR *et al.*, 2009; THAKKAR *et al.*, 2010).

Diante dessa problemática, percebe-se a necessidade de desenvolver novos materiais que utilizem recursos naturais a partir de sínteses ambientalmente “amigáveis”, como a síntese verde, e que apresentem atividade antimicrobiana e possam ser usados como alternativas para aplicações biotecnológicas.

Partindo do que foi exposto, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção de um nanocompósito formado pela combinação da argila natural palygorskita (Pal) e nanopartículas de prata (AgNPs), sintetizado via síntese verde a partir de polissacarídeos naturais exsudados da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) como agente redutor e/ou estabilizante das nanopartículas, para aplicações como agente antibacteriano.

REFERÊNCIAS

BAVASSO, I. *et al.* Perspectives in Nanotechnology Based Innovative Applications for The Environment. *Chemical Engineering*, v. 47, p. 55 - 60, 2016.

BOTAN, R. *et al.* Síntese e caracterização de Nanocompósitos Esfoliados de Poliestireno - Hidróxido Duplo Lamelar via polimerização *in situ*. *Polímeros*, v. 21, p. 34 - 38, 2011.

CALDERON, S. V. *et al.* Electrochemical vs antibacterial characterization of ZrCN-Ag coatings. *Surface Coatings Technology*, v. 15, p. 357 - 362, 2015.

EREMENKO, A. M. *et al.* Antibacterial and antimycotic activity of cotton fabrics, impregnated with silver and binary silver/copper nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, v. 11, p. 28 - 37, 2016.

GUGGENBICHLER, J. P. *et al.* A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection*, v. 27, p. 16 - 23, 1999.

HAN, S. *et al.* A Convenient Ultraviolet Irradiation Technique for Synthesis of Antibacterial Ag-Pal Nanocomposite. *Nanoscale Research Letters*, v. 11, p. 1 - 7, 2016.

HUSEN, A.; SIDDIQI, K. S. Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale Research Letters*, v. 9, p. 229 - 253, 2014.

LI, Y.; CHAN, Y. C. Effect of silver (Ag) nanoparticle size on the microstructure and mechanical properties of Sn₅₈Bi-Ag composite solders. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 5, p. 566 - 576, 2015.

MARYAN, A. S. *et al.* Synthesis of nano silver on cellulosic denim fabric producing yellow colored garment with antibacterial properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 22, p. 568 - 574, 2015.

MORAES, S. B. *et al.* Síntese e caracterização de nanocompósitos de poliestireno/hidroxissal lamelar. *Química Nova*, v. 37, p. 18 - 21, 2014.

MOTSHEKGA, S. C. *et al.* Microwave assisted synthesis, characterization and antibacterial activity of Ag/ZnO nanoparticles supported bentonite clay. *Journal of Hazardous Materials*, v. 15, p. 439 - 446, 2013.

PARASHAR, V. *et al.* Parthenium leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles: a novel approach towards weed utilization. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, v. 4, p. 45 - 50, 2009.

PERRET, G. *et al.* Nano Systems and Devices for Applications in Biology and Nanotechnology. *Solid-State Electronics*, v. 115, p. 66-73, 2016.

PESSANHA, N. F. N. Preparation and Characterization of Silver/Organo-clay Nanocomposites. *Chemical and Materials Engineering*, v. 2, p. 173 - 178, 2014.

RIVERO, P. J. *et al.* Nanomaterials for functional textiles and fibers. *Nanoscale Research Letters*, v. 10, p. 501- 523, 2015.

SIDDIQI, K. S.; HUSEN, A. Fabrication of metal nanoparticles from fungi and metal salts: scope and application. *Nanoscale Research Letters*, v. 11, p. 98 - 103, 2016.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 275, p. 177 - 182, 2004.

TALEBIAN, N.; ZARE, E. Structure and antibacterial property of nano-SiO₂ supported oxide ceramic. *Ceramics International*, v. 1, p. 281 - 287, 2014.

THAKKAR, K. N. *et al.* Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles. *Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine*, v. 6, p. 257 - 262, 2010.

WANG, Y. *et al.* Preparation and characterization of carbon or/and boron-doped titania nano-materials with antibacterial activity. *Ceramics International*, v. 8, p. 12533 - 12537, 2014.

ZARBIN, A. J. G. Química de (nano)materiais. *Química Nova*, v. 30, p. 1469 - 1479, 2007.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

- ↪ Obter nanocompósitos formados pela combinação de um argilomineral regional, a palygorskita (Pal), juntamente com nanopartículas de prata (AgNPs), via síntese verde, utilizando polissacarídeos exsudados da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale L.*), com propriedades antimicrobianas para aplicações biotecnológicas.

Objetivos Específicos

- ↪ Fazer um estudo prospectivo em bases científicas e tecnológicas sobre a utilização da argila palygorskita juntamente com nanopartículas de prata no desenvolvimento de nanocompósitos com aplicações antimicrobianas;
- ↪ Realizar tratamentos físicos e químicos na argila palygorskita (Pal) para diminuição e/ou remoção de impurezas;
- ↪ Sintetizar nanopartículas de prata via síntese verde utilizando exsudados da goma de cajueiro, em seguida, incorporá-la na palygorskita para a obtenção de nanocompósitos de palygorskita/nanopartículas de prata/goma de cajueiro (Pal/AgNPs/GC);
- ↪ Caracterizar a goma de cajueiro pelas técnicas de Potencial Zeta (ζ), Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Análise Termogravimétrica/Análise Termogravimétrica Derivada (TG/DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC);
- ↪ Caracterizar as AgNPs utilizando as técnicas de Espectroscopia na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis), tamanho hidrodinâmico médio, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (ζ);
- ↪ Caracterizar a Pal *in natura*, a Pal purificada e o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC pelas técnicas de Difração de Raios X (DRX), Área superficial

Objetivos

- específica (método BET), Análise Termogravimétrica/Análise Termogravimétrica Derivada (TG/DTG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM);
- ↪ Avaliar a atividade antibacteriana da Pal, das AgNPs e dos nanocompósitos de Pal/AgNPs/GC pelo método de contato direto contra cepas de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*);
 - ↪ Avaliar os efeitos de toxicidade aguda da Pal, das AgNPs e dos nanocompósitos de Pal/AgNPs/GC por meio de bioensaio com *Artemia salina* Leach;
 - ↪ Auxiliar em estudos futuros para novas aplicações do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.

CAPÍTULO 1

Fundamentação Teórica

1 NANOTECNOLOGIA

Atualmente a nanotecnologia é um dos campos de pesquisa de grande prioridade em muitos países em virtude de sua imensa potencialidade e impacto econômico (KABIR *et al.*, 2018). A nanotecnologia é definida como o projeto e a fabricação de materiais, dispositivos e sistemas com controle em dimensões nanométricas. Já o foco da nanociência é a observação e estudo de fenômenos em escala nanométrica, e maneiras de manipular a matéria nessa escala, nas quais muitas propriedades da matéria diferem daquelas que são familiares em escalas maiores (RAMSDEN, 2005).

As bases conceituais da nanotecnologia surgiram em 1959, quando Richard Feynman proferiu a palestra “*There’s plenty of room at the bottom*”, no Instituto de Tecnologia da Califórnia. Nesta ocasião, Feynman chamava à atenção para a possibilidade de se manipular materiais em escala de átomos e moléculas individuais (FEYNMAN, 1960). A definição do termo “Nanotecnologia” foi criado em 1974, por Norio Taniguchi da Universidade de Tóquio, sendo utilizado para descrever a habilidade de criar materiais em escala nanométrica (SIMÕES; TAKEDA, 2015). Já, em 1981, Eric Drexler, propôs que estruturas nanométricas ou nanomáquinas, poderiam ser desenvolvidas a partir da manipulação de átomos, tais ideias resultaram, em 1986, na publicação do livro “*máquinas da criação*”. A partir desses fatos, a nanotecnologia evoluiu de forma a se tornar o grande desafio da sociedade moderna (TOMA, 2016).

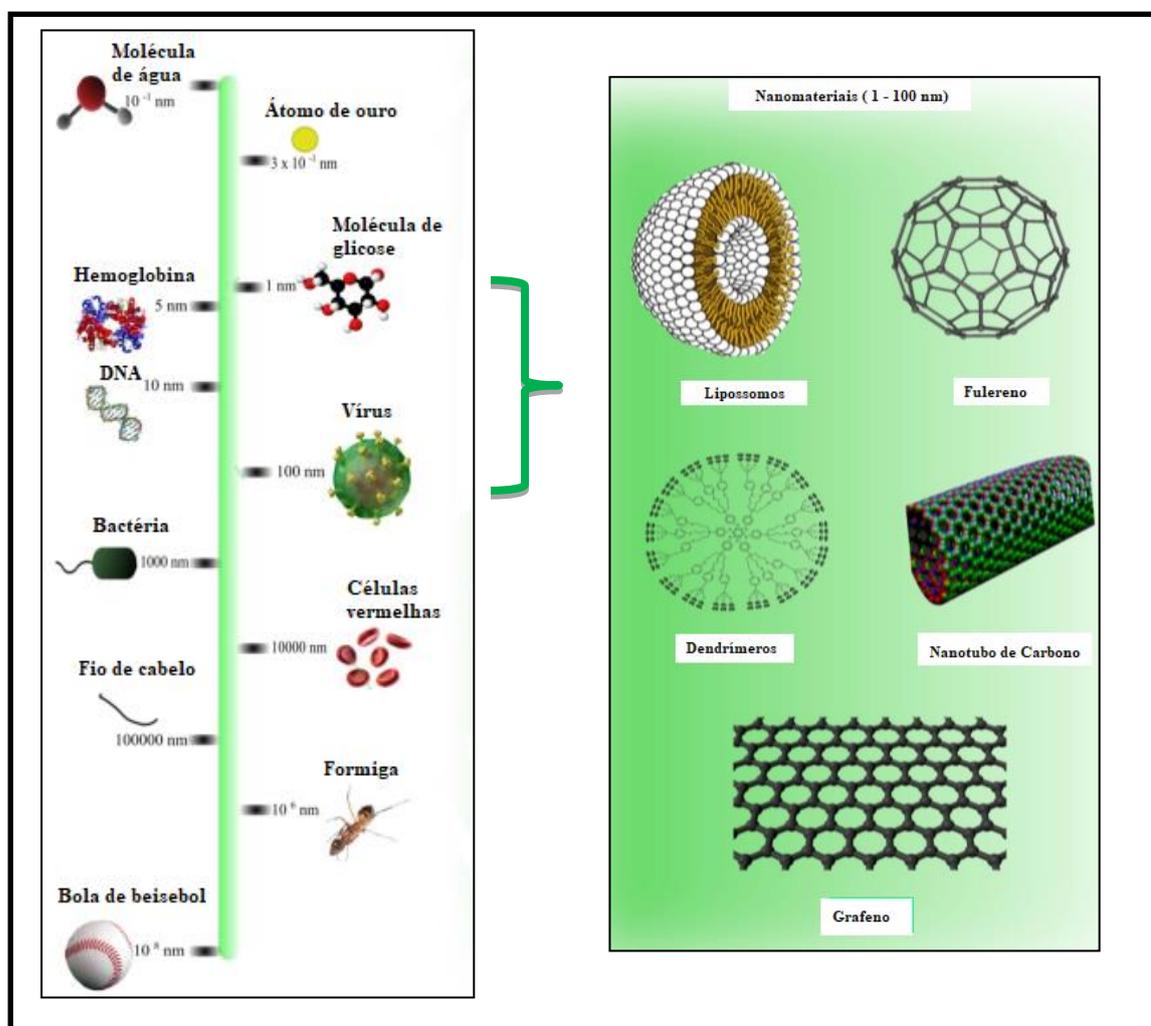
Existem duas definições para regulamentar o termo nanotecnologia, uma proposta pelo Comitê Técnico da Organização Internacional de Padronizações (ISO – TC – *International Organization for Standardization – Technical Committee*) e a outra proposta pela iniciativa nacional de nanotecnologia nos Estados Unidos (NNI – *The National Nanotechnology Initiative*). Segundo o ISO – TC, “*a nanotecnologia é a compreensão e controle da matéria e processos em escala nanométrica, de forma geral, mas não de forma exclusiva abaixo de 100 nanômetros em uma escala ou mais dimensões, em que surgem fenômenos ligados ao tamanho e permite novas aplicações*”. Já para o NNI “*a nanotecnologia é a utilização de propriedades dos*

materiais em nanoescala, a qual difere da escala dos átomos, das moléculas e da matéria a granel, para a criação de melhores materiais, dispositivos e sistemas que explorem essas novas propriedades". Assim, um dispositivo para ser considerado nanotecnológico não basta apenas ter dimensões nanométricas, mas apresentar propriedades diferenciadas na escala nanométrica. Dessa forma, para o NNI a nanotecnologia é considerada apenas na escala de 1 - 100 nanômetros (nm), onde o limite inferior é definido pelo tamanho de átomos, visto que, essa ciência deve construir dispositivos a partir de átomos e moléculas (POOLE; OWENS, 2003; PRASSAD, 2008; ALLHOFF *et al.*, 2010; BRUSHAN, 2010).

Desse modo, para uma melhor compreensão do termo, a nanotecnologia é o termo utilizado para descrever a engenharia de sistemas em escala molecular. Ou seja, refere-se à habilidade de projetar, construir ou manipular dispositivos, materiais e sistemas funcionais em escala nanométrica (SIMÕES; TAKEDA, 2015), conforme exemplos apresentados na Figura 1. O prefixo "nano" é derivado da palavra grega "anão". Ou seja, um nanômetro (nm) equivale a um bilionésimo de um metro, 10^{-9} m. A nanotecnologia trata-se da criação, síntese, caracterização e aplicação de materiais e/ou dispositivos em que pelo menos uma dimensão esteja na escala nanométrica, entre 1 e 100 nm (JAIN, 2011; CLARK; PAZDERNIK, 2016).

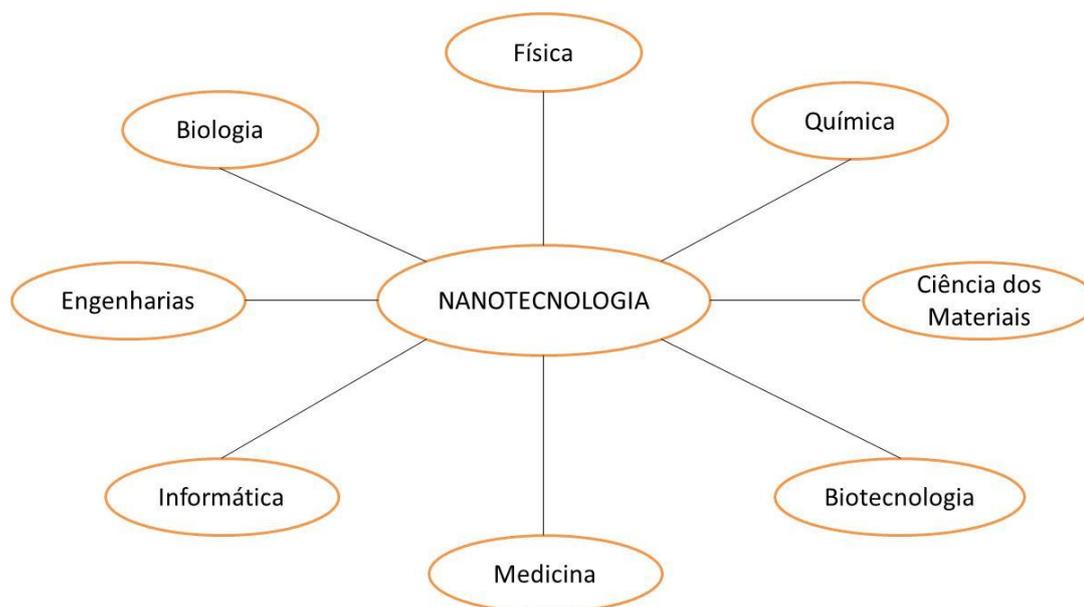
Nos últimos anos a nanotecnologia tem atraído bastante atenção, pela expectativa do impacto que esses nanomateriais podem proporcionar na melhoria da qualidade de vida, bem como, sua aplicação em vários campos da ciência e tecnologia (PERRET *et al.*, 2016; BAVASSO *et al.*, 2016). O interesse na utilização dos nanomateriais deve-se pela relação área/volume e provável ocorrência de efeitos quânticos, apresentando assim, propriedades físicas, químicas e biológicas únicas e significativamente melhoradas se comparadas com estas propriedades em escalas maiores, proporcionando várias possibilidades de aplicações (DING *et al.*, 2016).

Figura 1 - Comparação de tamanhos de nanomateriais com outros materiais comuns.



Fonte: Panneerselvam e Choi, 2014.

Uma das grandes vantagens da nanotecnologia é sua multidisciplinaridade (conforme Figura 2), englobando várias áreas tecnológicas e possibilitando a resolução de vários problemas enfrentados pela sociedade atual (FORTUNATO, 2005).

Figura 2 - Áreas de aplicações da Nanotecnologia.

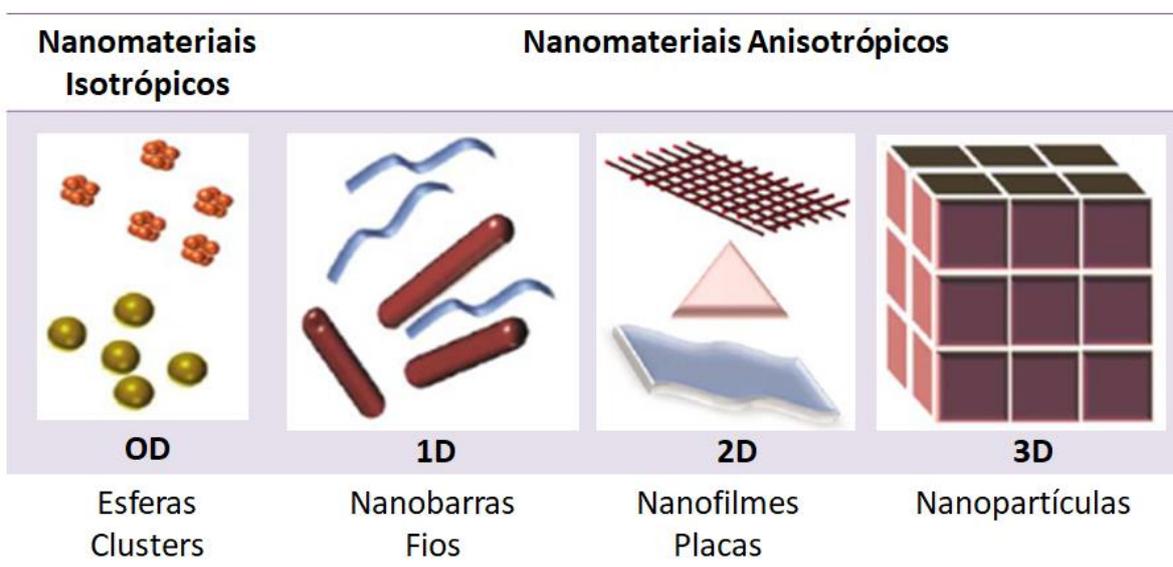
Fonte: Autoria própria, 2019.

1.1 Nanomateriais

De acordo com a Comissão Europeia, um nanomaterial pode ser definido como material “*natural ou produzido, contendo partículas, no estado não ligado, agregado ou aglomerado, em que, 50% ou mais de suas partículas distribuídas no tamanho numérico, uma ou mais de suas dimensões externas situam-se na faixa de tamanho entre 1 e 100 nm*” (LÖVESTAM *et al.*, 2010).

Os nanomateriais podem ser classificados utilizando alguns parâmetros, como origem (natural ou antropogênica), composição química (inorgânica ou orgânica), formação (biogênicos, geogênica, antropogênica ou atmosférica), tamanho, formato, aplicações em pesquisa e indústria (LÓPEZ-SERRANO *et al.*, 2014). Atualmente, os nanomateriais são classificados em quatro tipos principais como (I) à base de carbono, (II) à base de metais, (III) dendrímeros e (IV) compósitos (SALEH, 2016). Outra classificação dos nanomateriais diz respeito a sua dimensionalidade: (I) dimensão zero (0D), (II) unidimensional (1D), (III) bidimensional (2D) e tridimensional (3D) (TIWARI *et al.*, 2012), como apresentado na Figura 3.

Figura 3 - Representação dos tipos de nanomateriais baseados em sua dimensionalidade.



Fonte: Sajanalal *et al.*, 2011.

Dentre os vários tipos de nanomateriais, os mais utilizados são os lipossomas, dendrímeros, nanotubos de carbono, fulerenos, derivados do grafeno, pontos quânticos, nanopartículas poliméricas, nanopartículas de óxidos de ferro, nanopartículas de prata, ouro e platina.

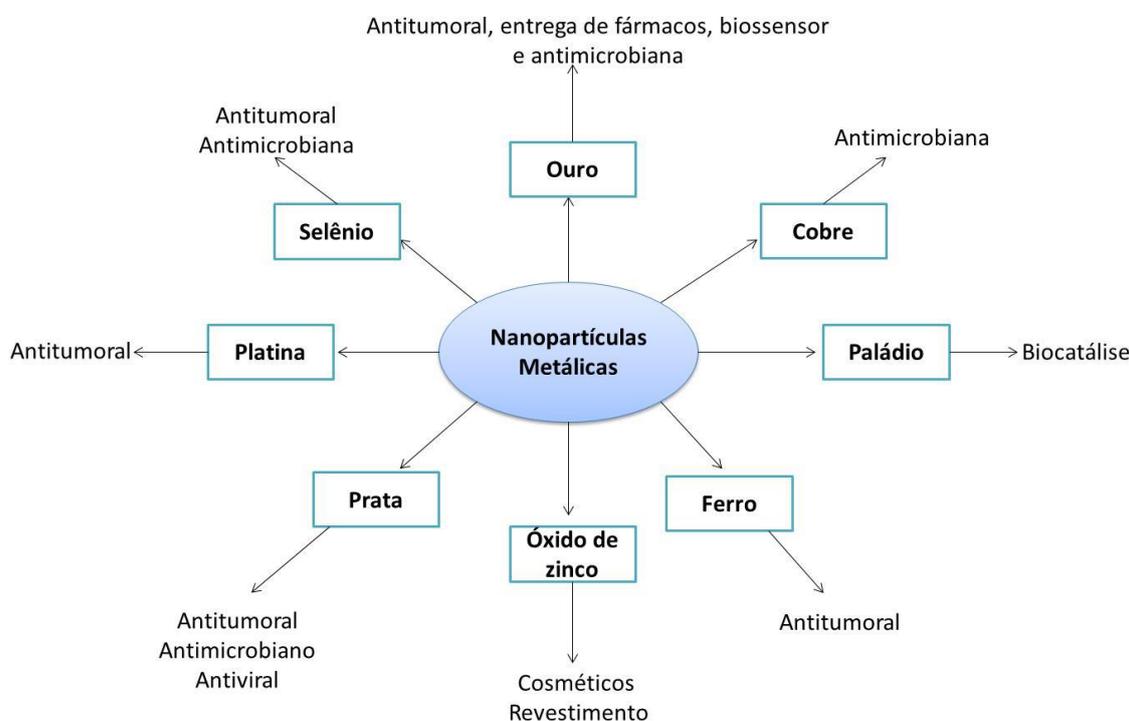
2 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Os nanomateriais baseados em metais destacaram-se nos últimos anos, principalmente, por suas propriedades ópticas e eletrônicas, que estão relacionadas com o efeito quântico proporcionado pelo tamanho de suas nanopartículas, bem como, possibilidades promissoras de aplicações não apenas nas áreas óptica e eletrônica, mas também em catálise, medicina e outras (BINDHU; UMADEVI, 2015).

Geralmente, as nanopartículas metálicas são sintetizadas a partir de dispersões coloidais e suas propriedades variam de acordo com sua forma, tamanho e distribuição do tamanho (DALLAS *et al.*, 2011). Dependendo do método selecionado para a síntese, uso de agentes redutores e estabilizantes pode-se

produzir nanopartículas com morfologias variadas, como: nanotubos, nanoesferas, nanotriângulos e nanofios (CHANG *et al.*, 2011; HUANG *et al.*, 2009; SARKAR *et al.*, 2005). Os nanomateriais metálicos incluem pontos quânticos, nanopartículas metálicas ou de óxidos nanometálicos, como por exemplo, dióxido de titânio (TiO₂), óxido de zinco (ZnO) e óxido de ferro (Fe₂O₃) (TOURINHO *et al.*, 2012). Na Figura 4, observam-se os principais metais utilizados na síntese de nanopartículas e suas principais aplicações em biotecnologia.

Figura 4 - Tipos de nanopartículas metálicas e suas principais aplicações biotecnológicas.

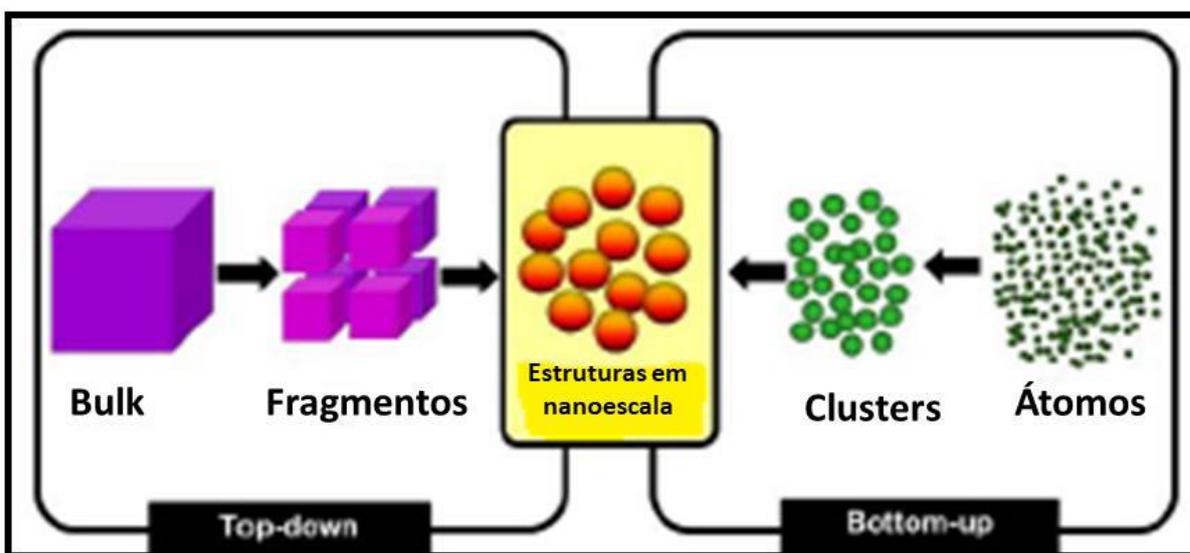


Fonte: Adaptado de Mittal *et al.*, 2013.

Vários métodos podem ser utilizados para a síntese de nanopartículas que incluem os processos químicos, físicos, fotoquímicos e biológicos (SALEH, 2016). De uma forma geral, o processo de síntese de nanopartículas pode envolver duas abordagens: o método “*top-down*” ou o “*bottom-up*”, como mostrado na Figura 5. O

método *top-down* (de cima para baixo) consiste na construção de objetos em escala nanométrica a partir de outros em escala maior e sem controle do nível atômico. Já o método *bottom-up* (de baixo para cima), materiais e dispositivos são construídos a partir de componentes moleculares que se organizam quimicamente por reconhecimento molecular ou condições termodinamicamente favoráveis (SIMÕES; TAKEDA, 2015).

Figura 5 - Representação da síntese de nanopartículas pelos métodos *Top-down* e *Bottom-up*.



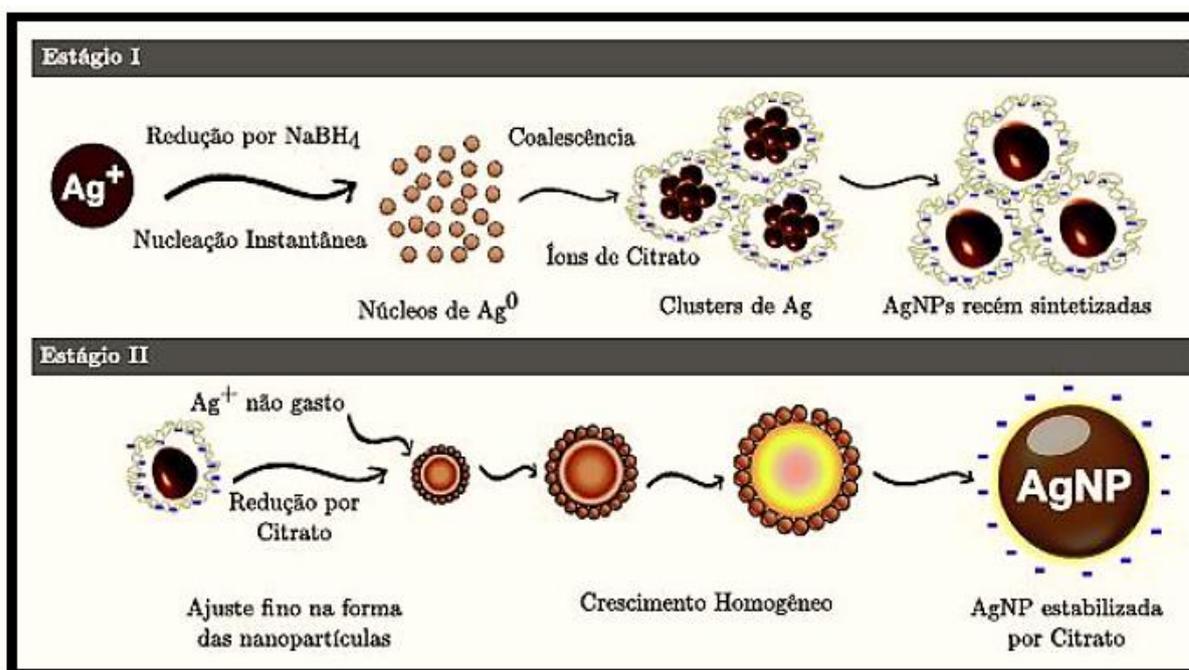
Fonte: Rawat, 2015.

A abordagem *bottom-up* é a mais utilizada no processo de síntese de nanopartículas e inclui várias etapas como: (a) geração de átomos; (b) nucleação para formar um aglomerado inicial de átomos (*cluster*); (c) crescimento do aglomerado até atingir um determinado volume e (d) adição de um agente estabilizador em torno do aglomerado para evitar uma aglomeração maior do que a desejada, permitindo uma maior estabilidade das nanopartículas em solução, como descrito na Figura 6.

Na obtenção de nanopartículas metálicas três fatores são de fundamental importância: o agente redutor, o meio que ocorre a reação e o agente estabilizante

(EVANOFF; CHUMANOV, 2005). O processo de estabilização das nanopartículas pode ocorrer por estabilização eletrostática, estabilização estérica e a estabilização eletroestérica, conforme esquema mostrado na Figura 7.

Figura 6 - Representação esquemática do processo de síntese de nanopartículas de prata, utilizando como agentes redutores o borohidreto de sódio (NaBH_4) e o citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$).



Fonte: Agnihotri *et al.*, 2014.

Figura 7 - Mecanismo de estabilização de nanopartículas metálicas.



Fonte: Myers, 1999.

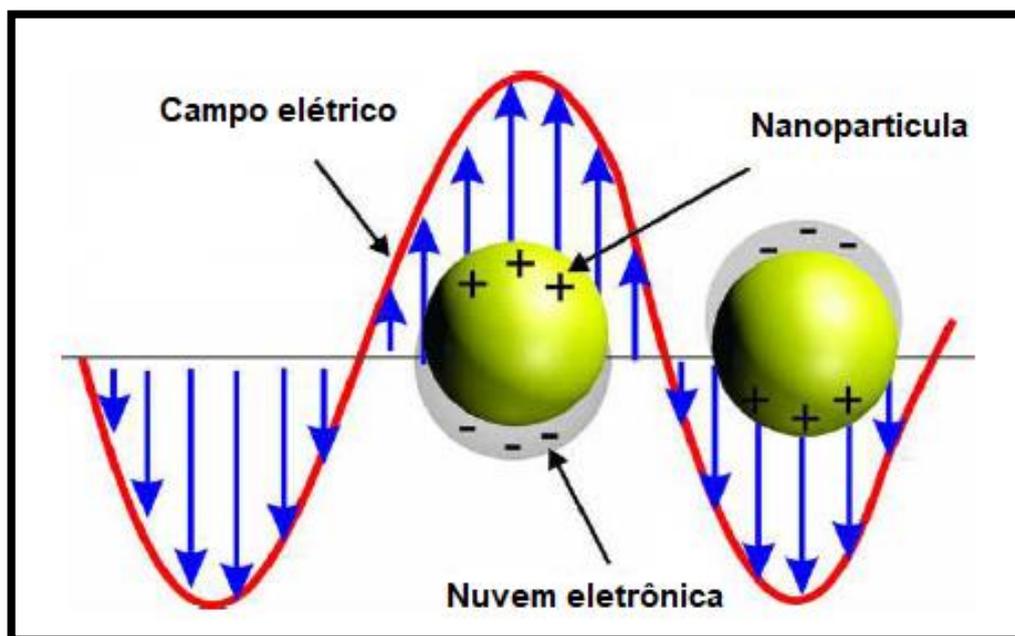
A estabilização eletrostática ocorre pela coordenação de espécies aniônicas, formando uma dupla camada elétrica, levando a uma repulsão eletrostática entre as nanopartículas. A estabilização estérica ocorre pela presença de materiais volumosos, como os orgânicos, que em virtude de sua massa, faz com que a difusão das nanopartículas não ocorra. Por fim, a estabilização eletroestérica ocorre pela formação de uma camada com cadeias longas e cargas concomitantemente (HIEMENZ; RAJAGOPALAN, 1997).

Dentre os vários tipos de nanopartículas metálicas, as nanopartículas de prata, ouro e cobre vem sendo cada vez mais utilizadas nos campos da medicina, odontologia, farmácia e biologia (SOHRABNEZHAD, 2016). O interesse em pesquisas com nanopartículas de prata (AgNPs) e de ouro (AuNPs) deve-se as características intrínsecas desses metais, como estabilidade química, condutividade elétrica (XIONG *et al.*, 2013; JANOVÁK; DÉKÁNY, 2010), atividade catalítica (XU *et al.*, 2018; AMDOUNI *et al.*, 2018), bem como, a interação destas com a luz, que leva à formação de uma banda plasmônica, sendo de grande interesse para aplicações nas áreas de nanoeletrônica e médica (EVANOFF JR; CHUMANOV, 2004; MERGA *et al.*, 2007).

As propriedades ópticas das AgNPs, bem como, as de cobre e ouro, ocorrem pela presença de elétrons livres de suas bandas de condução, mostrando absorções bem definidas em regiões distintas do espectro visível denominadas de bandas *plasmons*, proporcionando-lhes cor. A ressonância de plasmon de superfície (*Surface Plasmon Resonance* - SPR) decorre da alta razão superfície/volume das nanopartículas em virtude da oscilação coletiva dos elétrons de condução em resposta à excitação óptica provocada pela aplicação de um campo eletromagnético. O comprimento de onda e a intensidade dessas bandas dependem da forma, tamanho, distribuição e o meio onde as nanopartículas estão dispersas (GHOSH; WANG *et al.*, 2010; MCCLARY *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2016). A oscilação da banda plasmon em função da forma e do tamanho das nanopartículas de prata, podem ser observadas entre 370 – 380 nm (quando esta se apresenta na forma de nanobastão), 408 – 430 nm (esfera), 450 – 600 nm (cubo) e 670 – 740 nm (triangular) (HU *et al.*, 2004; ZHANG; NOGUEZ, 2008; MANSOURI; GHADER, 2009).

O efeito da Ressonância de Plasmon de Superfície Localizada (LSPR) ocorre exclusivamente em nanoestruturas e seu fundamento decorre da oscilação dos elétrons livres sobre a estrutura metálica das nanoestruturas, conforme esquema representativo na Figura 8. Esse fenômeno é o mesmo observado no efeito ressonância de plasmon de superfície (SPR), a principal diferença é que esse efeito é localizado sobre cada nanoestrutura do colóide. Contudo, o efeito LSPR não depende do ângulo de incidência da luz e nem de sua polarização (ROH *et al.*, 2011; HAMMOND *et al.*, 2014).

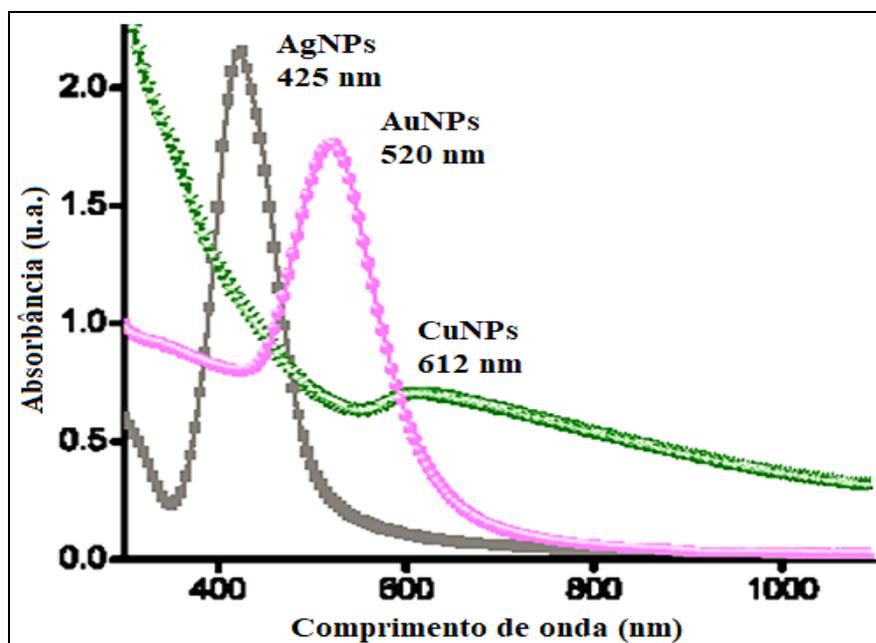
Figura 8 - Esquema representativo do efeito da ressonância de plasmon de superfície localizada.



Fonte: Hammond *et al.*, 2014.

A Figura 9 mostra exemplos de bandas de ressonância plasmons de superfície de nanoesferas de AgNPs ($\approx 3-6$ nm), AuNPs ($\approx 3-6$ nm) e CuNPs ($\approx 4-7$ nm).

Figura 9 - Banda de ressonância plasmônica de superfície para nanoesferas de Ag, Au e Cu.



Fonte: Kaur e Pal, 2015.

2.1 Nanopartículas de prata (AgNPs)

A prata é um elemento brilhante, maleável e muito dúctil, apresenta símbolo Ag e possui número atômico - 47. Existem outros compostos contendo a prata, além da prata elementar, estes encontram-se na crosta terrestre como por exemplo os haletos de prata (AgBr, AgCl, AgI), e outros. A prata possui quatro estados de oxidação Ag^0 , Ag^{1+} , Ag^{2+} e Ag^{3+} . Porém, a prata é um elemento quimicamente inativo e seu contato com o ácido nítrico ou ácido sulfúrico formam sais de prata solúveis (FIRDHOUSE; LALITHA 2015).

A prata utilizada na forma coloidal não é uma descoberta recente, sendo estas conhecidas há mais de 120 anos (VARNER, 2010). Lea MC, em 1889, sintetizou AgNPs com estabilidade coloidal e diâmetro médio entre 7 e 9 nm utilizando citrato como agente redutor. Em 1902, proteínas foram utilizadas como agente estabilizador de nanopartículas, tal material era denominado de “Collargol”,

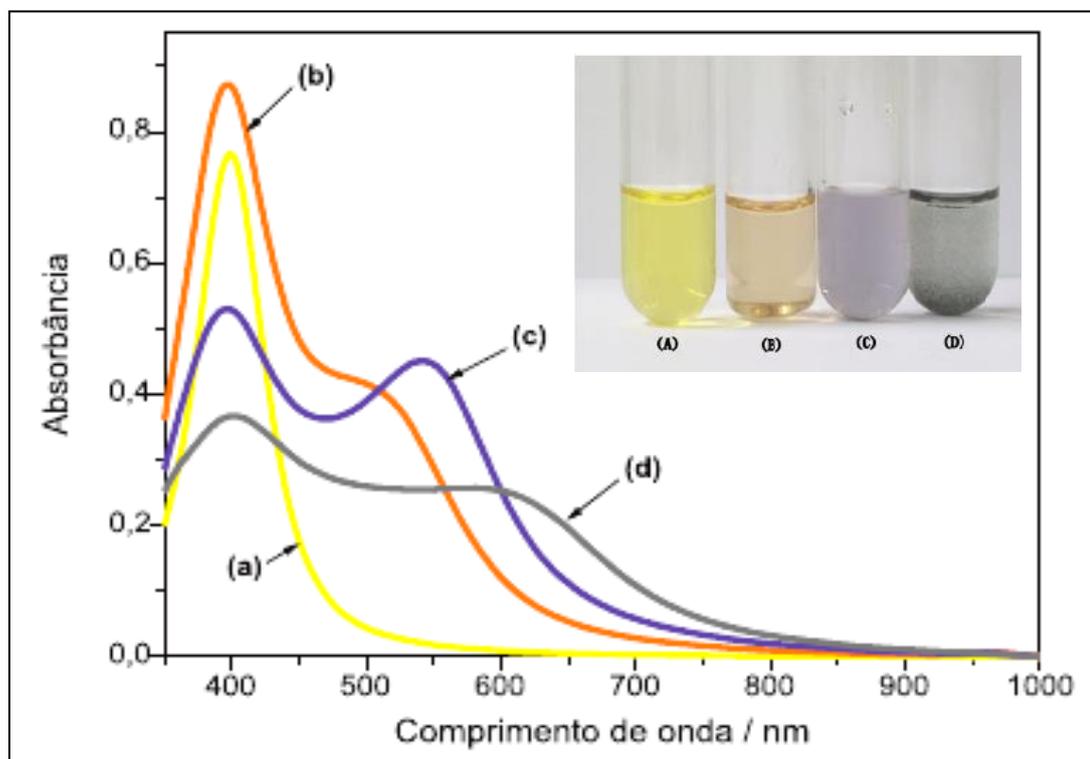
sendo produzido de forma comercial e utilizado em aplicações médicas desde 1897 (NOWACK *et al.*, 2011). Mesmo antes da descoberta da penicilina, a prata coloidal, em 1928, já era usada no tratamento de doenças e infecções (VARNER, 2010). Em 1951, Turkevich, sintetizou nanopartículas de ouro reduzindo ácido cloroáurico utilizando o citrato de sódio dissolvidos em água aquecida (KRUTYAKOV *et al.*, 2008).

Tal método, conhecido como Turkevich, foi utilizado mais tarde por Lee e Meisel na síntese de nanopartículas de prata, porém, as nanopartículas sintetizadas apresentavam formas diferentes e diâmetro médio em torno de 60 a 200 nm. Mesmo com tais desvantagens, o método Turkevich, utilizando o citrato foi largamente usado na obtenção de AgNPs. Esse método possui a vantagem de utilizar citrato como agente estabilizador e redutor de forma simultânea das AgNPs (PACIONI *et al.*, 2015). Já em 1953, AgNPs foram patenteadas pela Moudry com diâmetro de partículas em torno de 2-20 nm. Diversas pesquisas e conhecimentos sobre as nanopartículas surgiram nos últimos 100 anos, mesmo que algumas pesquisas utilizando a prata não mencionem o termo “nano” (NOWACK *et al.*, 2011).

As nanopartículas de prata exibem interessantes propriedades óticas. A diversidade de cores observadas nesses materiais decorre das oscilações dos elétrons de condução, em ressonância com a luz incidente, absorvendo parte da luz visível. A prata coloidal apresenta cor amarela como resultado da absorção da radiação eletromagnética em ressonância com os plasmons de superfície. Em decorrência do aumento das partículas de prata, a cor amarela característica da solução padrão passa para laranja, em seguida, para violeta até atingir a coloração característica da prata em escala macroscópica, conforme a Figura 10 (MELO JÚNIOR *et al.*, 2012). Assim, de acordo com o aumento do tamanho da prata, além da mudança da coloração, ocorrem também mudanças em suas propriedades físicas, químicas e antimicrobianas.

A utilização de nanopartículas de prata deve-se principalmente por suas propriedades óticas, antimicrobianas, antifúngicas, antivirais e antiparasitárias, bem como, por também exibirem propriedades anti-inflamatórias, sendo usadas no tratamento de feridas e queimaduras (VAZQUEZ-MUÑOZ *et al.*, 2017; FLETCHER *et al.*, 2019).

Figura 10 - Espectros eletrônicos e cores de soluções coloidais de prata em quatro estágios de agregação: (a) solução amarela clara, (b) cor de laranja, (c) violeta e (d) cinza.



Fonte: Melo Jr. *et al.*, 2012.

2.1.1 Nanopartículas de prata e atividade antimicrobiana

O uso da prata como agente antimicrobiano, no entanto, não é considerada uma aplicação nova (BEHRA *et al.*, 2013). Diversos materiais eram feitos de prata como panelas, talheres, moeda e vasos que serviam para manter a água estéril. Desde o século XVII a prata era descrita como um medicamento multiuso e era utilizada para tratar epilepsia e cólera (KLASEN, 2000; MAILLARD; HARTEMANN, 2013).

Um dos interesses no uso da prata como agente antimicrobiano deve-se por esta apresentar o maior grau de toxicidade para mais de 650 tipos de microrganismos patogênicos, seguido por Hg > Cu > Cd > Cr > Pb > Co > Au > Zn > Fe > Mn > Mo > Sn, porém, a prata apresenta baixa toxicidade para células animais.

Sua atividade antimicrobiana é aumentada quando a prata é utilizada na forma coloidal, ou seja, em escala nanométrica (tamanho variando entre 10^{-9} m e 10^{-6} m) (GUGGENBICHLER *et al.*, 1999; PESANHA, 2014).

As AgNPs com aplicações antimicrobianas têm sido utilizadas recentemente em dispositivos médicos, revestimentos, suplementos alimentares, filtros de ar, composição de embalagens alimentares, cosméticos, aparelhos eletrônicos, curativos antimicrobianos, cateteres e sistema de filtragem de água (MIKKELSEN *et al.*, 2011; BEHRA *et al.*, 2013; RAI *et al.*, 2009; PESSANHA, 2014).

A resistência de microrganismos a antibióticos e preocupações em cuidados de saúde, tem despertado o interesse de pesquisas no desenvolvimento de novos antibióticos e agentes antibacterianos. Pesquisas utilizando a prata, incluindo as nanopartículas de prata, tem sido relatadas como agentes antimicrobianos eficazes alternativos (KIM *et al.*, 2007).

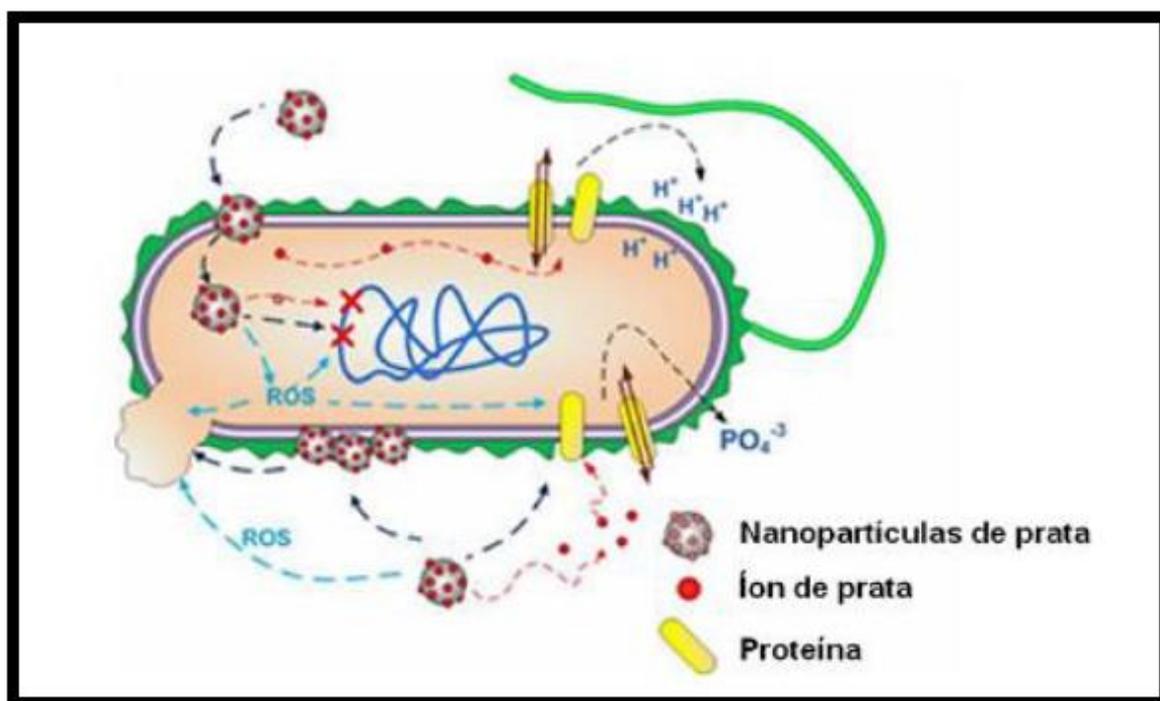
A Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou no ano de 2017 uma lista com 12 famílias de bactérias que representam a maior ameaça para a saúde humana. Essa lista foi elaborada numa tentativa de orientar e promover pesquisas e desenvolvimento de novos antibióticos e agentes antibacterianos, como parte dos esforços da OMS para enfrentar a crescente resistência global aos medicamentos antimicrobianos. Nessa lista, destaca-se a ameaça de bactérias gram-negativas resistentes a múltiplos antibióticos, pois estas têm a capacidade de encontrar novas formas de resistir ao tratamento e podem transmitir material genético a outras bactérias tornando-as também resistentes (OPAS BRASIL, 2017).

A ação das AgNPs está diretamente relacionada ao seu tamanho, quanto menor o tamanho das nanopartículas maior a sua área de superfície específica e portanto, maior a sua atividade antimicrobiana (GUZMAN *et al.*, 2012; SINTUBIN *et al.*, 2012). Embora o mecanismo de ação das nanopartículas de prata ainda não seja completamente conhecido. Sabe-se que a eficiência bactericida das nanopartículas depende do tamanho, da superfície, da forma e estabilidade química (ANDRADE, 2013).

Os íons de prata são muitos reativos e se ligam a vários componentes vitais das células, induzindo a morte celular (DEEPAK; KALISHWARALAL, 2011). De uma forma geral, as AgNPs exercem seu efeito antibacteriano utilizando três tipos de mecanismo: (I) Os íons Ag^+ após serem liberados, podem ligar-se a grupamentos

tióis (-SH), levando a desestabilização da estrutura de proteínas e enzimas presentes na membrana celular; (II) As AgNPs podem ser adsorvidas na membrana celular bacteriana, levando à formação de poros e conseqüentemente ao extravasamento do conteúdo citoplasmático e à morte celular; (III) Produção de espécies oxigenadas reativas (ROS), ou seja, radicais livres derivados do oxigênio, que podem levar a desestabilização da estrutura do DNA e a desnaturação de proteínas (MARAMBIO-JONES; HOEK, 2010). A Figura 11 mostra uma representação esquemática de como ocorre a ação antibacteriana de íons Ag^+ e AgNPs.

Figura 11 - Esquema do mecanismo da ação de íons Ag^+ e AgNPs em célula bacteriana.



Fonte: Marambio-Jones e Hoek, 2010.

Dessa forma, várias são as pesquisas em que as AgNPs têm sido utilizadas como agente antimicrobiano contra bactérias e fungos (LOPEZ-QUINTELÁ, 2003; TAMBOLI; LEE, 2013; BHANVASE *et al.*, 2015; KALAIVANI *et al.*, 2018). Em virtude de resistências aos antibióticos, as nanopartículas surgem como alternativa para

melhorar a quantidade de fármacos antimicrobianos, vista que, é pouco provável que os microrganismos desenvolvam resistência contra a prata, se comparados com antibióticos convencionais, pois estas atuam em uma ampla faixa de mecanismos (AHMED *et al.*, 2016).

2.1.2 Métodos de síntese de nanopartículas de prata

As nanopartículas de prata podem ser sintetizadas por diversas rotas. Sendo que, os métodos de síntese são diferenciados pelos reagentes utilizados e condições das reações (HORISKOSHI; SERPONE 2013).

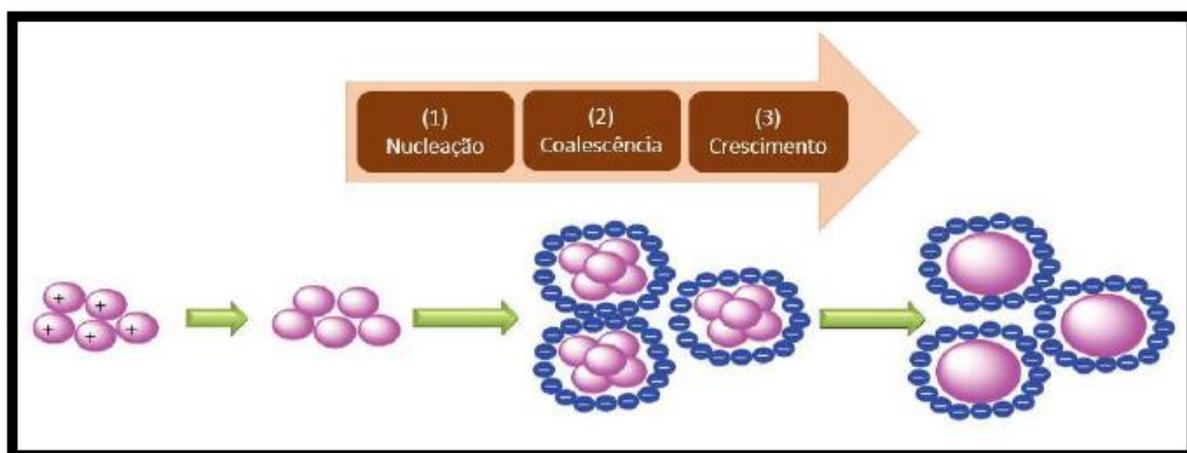
Cada método de síntese possui características específicas, mas, de uma forma geral a síntese coloidal de nanopartículas apresenta quatro componentes: o meio, o precursor, o agente redutor e o agente estabilizante. O meio é a fase líquida em que a reação irá acontecer. O precursor é o reagente químico que irá fornecer o metal, geralmente é o sal do metal, no caso de nanopartículas metálicas. O agente redutor é um composto químico que irá reduzir o íon. Já o agente estabilizante é a molécula que recobre a superfície das nanopartículas, mantendo-as afastadas e dispersas no meio (ROCHA, 2008).

Geralmente a formação de nanopartículas ocorre em três etapas. A primeira ocorre o processo de nucleação, onde os íons Ag^+ são reduzidos a Ag^0 , formando um núcleo estável. Na segunda etapa, os átomos de Ag^0 se agregam, levando à formação de clusters, em seguida esses clusters se agregam formando as nanopartículas, processo conhecido como crescimento. E na terceira etapa ocorre o processo de estabilização, onde agentes estabilizantes são utilizados com a função de recobrir as nanopartículas e assim, evitarem seu crescimento, levando a uma boa estabilidade coloidal, como demonstrado na Figura 12 (TRAN; NGUYEN, 2011; YIN *et al.*, 2014; HAIDER; KANG, 2015).

As rotas de síntese de AgNPs podem ser classificadas em químicas, físicas, fotoquímicas e biológicas. **Os métodos químicos** são bastante utilizados na síntese de nanopartículas. Como forma geral, este método envolve a redução de um sal metálico na presença de estabilizantes, que podem ser polímeros ou surfactantes

(FANTA *et al.*, 2013). As reações que ocorrem nos métodos químicos são reações do tipo redox, em que, o valor do potencial de redução (E^0) determina quais os reagentes adequados para que a conversão química ocorra de forma eficaz. Para que esse tipo de reação ocorra, a energia livre de Gibbs deve ser negativa ($\Delta G^0 < 0$) e o potencial padrão de redução deve ser positivo ($\Delta E^0 > 0$). A prata apresenta potencial padrão de redução em água relativamente alto ($Ag^+ \rightarrow Ag^0$, $E^0 = + 0,799$ V), esse fato proporciona a possibilidade de uso de diferentes tipos de agentes redutores. Os agentes redutores mais utilizados são o borohidreto de sódio ($NaBH_4$), hidrazina (N_2H_4), hidroquinona ($C_6H_6O_2$), citrato de sódio ($C_6H_5Na_3O_7$), dimetilformamida (C_3H_7NO), etilenoglicol ($C_2H_6O_2$), ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) e hidrogênio elementar (KRUTYAKOV *et al.*, 2008; SHARMA *et al.*, 2009; PACIONI *et al.*, 2015).

Figura 12 - Esquema da formação de nanopartículas de prata.



Fonte: Haider e Kang, 2015.

Os métodos químicos embora produzam nanopartículas com boa estabilidade e distribuição de tamanho, podem deixar alguns resíduos tóxicos no meio reacional ou adsorvido na superfície, além de, muitas vezes possuir um custo elevado, com rotas geralmente complexas e múltiplas etapas de execução. Por exemplo, na síntese química de nanopartículas de ouro (AuNPs), o precursor ácido cloroáurico ($HAuCl_4$) é um ácido extremamente forte e corrosivo, se fazendo necessário que este seja consumido por completo. Com relação aos agentes

reduzores comumente usados, o borohidreto de sódio é um redutor muito forte e extremamente tóxico para as células. A hidroquinona, por sua vez, é utilizada na medicina como clareador de pele, porém, suspeita-se que esta substância seja carcinogênica. Diante desse contexto, o citrato de sódio seria o mais recomendado, visto que, não é tóxico e é usado até mesmo como aditivo de alimentos (PACIONI *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2017; COURA *et al.*, 2018).

Os **métodos físicos** ocorrem com a subdivisão de aglomerados metálicos, sendo aplicado uma alta fonte de energia, com o objetivo de separar as partículas até o seu tamanho nanométrico. Os principais métodos físicos utilizados são a irradiação, deposição física de vapor e ablação por laser pulsado (PACIONI *et al.*, 2015).

Os **métodos fotoquímicos** utilizam a fotorredução de um sal precursor ou íons de prata, utilizando intermediários ativados fotoquimicamente, como por exemplo, um radical. As vantagens desse método estão relacionadas à elevada pureza das nanopartículas, processamento fácil e possibilidade de utilização de diversos meios reacionais (vidro, polímeros, micelas, emulsões, etc.) (PACIONI *et al.*, 2015; GHORBANI *et al.*, 2011).

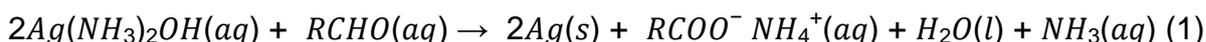
Por fim, existem os **métodos biológicos ou biogênicos, também conhecidos** como “síntese verde”, que vem ganhando considerável importância nos últimos anos, por ser uma opção simples, de baixo custo e sustentável. Utilizam plantas, fungos, bactérias, algas e leveduras (SILVA *et al.*, 2017; DURÁN *et al.*, 2018).

2.1.2.1 Síntese verde de AgNPs

O processo de síntese verde de AgNPs envolve três etapas principais, que com base nas perspectivas da química verde, incluem (1) seleção de meio solvente, (2) seleção do agente redutor ambientalmente “correto” e (3) seleção de substâncias não-tóxicas para a estabilização das AgNPs. Dentre os métodos que utilizam a síntese verde destacam-se: o método de *Tollens*, método de irradiação, método

polioxometalatos, método biológico e o método polissacarídeo (SHARMA *et al.*, 2009).

No **método de Tollens**, AgNPs podem ter seu tamanho controlado e é um processo que ocorre em uma única etapa. A reação de *Tollens* envolve a redução $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ (reagente de *Tollens*) por um aldeído, formando prata metálica e um ácido carboxílico. Conforme reação a seguir:



Por exemplo, nanopartículas de prata sintetizadas utilizando ácido polimetacrílico (PMAA) na presença de reagente de Tollens utilizados na fabricação de um quimiodosímetro para detecção de formaldeído (CHAIENDDO *et al.*, 2018).

No **método de irradiação** as AgNPs podem ser sintetizadas utilizando uma variedade de rotas. Por exemplo, a irradiação a laser de uma solução aquosa de sal Ag e surfactante pode produzir AgNPs com forma definida e distribuição de partículas com mesmo tamanho. Outros exemplos de técnicas de irradiação utilizadas são: micro-ondas, radiação de pulso ionizante, radiação gama e radiólise (ABID *et al.*, 2002; SHARMA *et al.*, 2009; PACIONI *et al.*, 2015).

Outro método também utilizado na síntese verde é o **método do Polioxometalatos** (POMs). Nesse método a síntese ocorre pela capacidade que as substâncias tem de serem solúveis em água, sofrendo reações de óxi-redução porém, sem que haja alterações em sua estrutura. Por exemplo, AgNPs foram obtidas ao iluminar uma solução de POM/S/Ag⁺, onde POM = $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$, S = propano-2-ol, em que o POM atua como agente redutor, estabilizante e fotocatalisador (TROUPIIS *et al.*, 2002).

Já os **métodos biológicos** utilizam biomoléculas como agentes redutores e/ou estabilizantes das nanopartículas, podendo empregar organismos vivos como bactérias, fungos, algas, plantas e subprodutos derivados de processos agropecuários envolvendo alguns destes organismos (SILVA *et al.*, 2017). Dessa forma, a síntese verde, síntese biológica e síntese biogênica são termos geralmente usados para a síntese ecologicamente correta de nanopartículas (RAI, 2013).

Vários são os estudos de síntese de nanopartículas de prata utilizando biomoléculas como proteínas e enzimas, alcaloides, taninos, polifenólicos,

polissacarídeos, saponinas, terpinóides, vitaminas, extratos de plantas (caules, folhas, raízes e frutos) que apresentam propriedades medicinais e são benéficas ao ambiente (SILVA *et al.*, 2017). Podem ainda ser utilizadas na síntese de nanopartículas metálicas diferentes partes das plantas como flores, sementes, frutos, caules, látex e raízes, além da biomassa seca e morta da planta (ROY; DAS, 2015).

Diversas plantas como o coentro (*Coriandrum sativum L*), mamão-papaya (*Carica papaya*), o figo-da-Índia (*Opuntia ficus-indica*), datura ou maçã com espinhos (*Datura metel*), árvore do caril (*Murraya koenigii*), Skunkvine (*Paederia foetida*), chá da Índia (*Camellia sinensis*) têm sido utilizadas na síntese de nanopartículas (RAI, 2013; ASHRAF *et al.*, 2018; ROLIM *et al.*, 2019). Os métodos biológicos para a síntese de AgNPs são mais econômicos, reprodutíveis e consomem menos energia ao contrário dos métodos convencionais (HAIDER; KANG, 2015).

No método polissacarídeo as AgNPs são sintetizadas usando a água como solvente e polissacarídeos como agente redutor, sendo que, em alguns casos o polissacarídeo atua como agente redutor e estabilizante das nanopartículas. Como exemplo, pesquisas realizadas por Araruna e colaboradores (2019) em que a AgNPs foram obtidas por síntese verde utilizando goma de caju e goma de caju carboximetilada via síntese assistida por micro-ondas e avaliação de seu efeito antibacteriano. Ou, Oliveira e colaboradores (2019) que utilizaram goma de caju modificada com anidrido ftálico para a preparação de AgNPs com atividade antimicrobiana.

Várias são as fontes das quais os polissacarídeos podem ser obtidos. Dentre elas, podemos citar as fontes vegetais (exsudatos, sementes, frutos e tubérculos), microbianas (fungos e bactérias), algas e ainda fontes de origem animal. No processo de isolamento, purificação e utilização de polissacarídeos as características de sua estrutura são fatores determinantes no processo de síntese de nanopartículas (LIU *et al.*, 2015; SHI, 2016).

O crescente interesse na utilização de polissacarídeos se dá pelas excelentes propriedades físicas, tais como espessamento, gelificação e estabilização, além de, apresentar atividades biológicas benéficas, como antiinflamatórias, antitrombóticas, ação antioxidante, antiviral, antitumoral e atividade imunomoduladora (LIU *et al.*, 2015).

2.1.2.2 Polissacarídeos naturais

Os polissacarídeos são polímeros de carboidratos formados por longas cadeias de unidades de monossacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas. Diferentes grupos funcionais podem estar presentes nessas biomoléculas, como grupos hidroxila e extremidade hemiacetal, sendo estes capazes de reduzir sais precursores de nanopartículas metálicas (SILVA *et al.*, 2017). Vários polissacarídeos naturais têm sido utilizados na síntese de nanopartículas como o ácido hialurônico, heparina, quitosana, celulose, dextrano, pululana, amilose, amilopectina e alginato (PITOMBEIRA *et al.*, 2015).

Dentre os tipos de polissacarídeos existem as gomas naturais, que são polímeros naturais, formados por unidades de monossacarídeos em arranjos lineares ou ramificados e pertencem à classe dos carboidratos. As gomas naturais são substâncias translúcidas, inodoras, insípidas, não tóxicas, hidrofílicas, amorfas, com propriedades coloidais, com funções espessantes, devido a sua capacidade de formar ligações com moléculas de água, gelificantes, emulsificantes, estabilizantes e aglutinantes, além de, apresentarem capacidade de controle de cristalização, inibição de sinérese (Perda de água para o ambiente levando a desestabilização do meio), encapsulação e formação de filmes, sendo estas propriedades interessantes para diversos tipos de aplicações (ANDRADE *et al.*, 2013).

São chamadas gomas de exsudatos os polissacarídeos produzidos por células epiteliais das cascas de algumas árvores, como um mecanismo de defesa das plantas quando o córtex é agredido por injúrias físicas ou ataque microbiano. As plantas exsudam uma substância espessa que fecha a ferida, protegendo o vegetal de ataques de microrganismos (ARAÚJO *et al.*, 2018; BEMILLER; HUBER, 2010).

Dentre os polissacarídeos de exsudatos, os mais utilizados comercialmente são a Goma arábica (*Acacia sp.*), goma ghatti (*Anogeissus latifolia*), tragacante (*Astragalus sp.*) e caraia (*Sterculia urens*), nenhum destes oriundo de espécies brasileiras. Já dentre os polissacarídeos de exsudatos de árvores brasileiras ou adaptadas no Brasil, temos como exemplo: a *Anacardium occidentale L.* (cajueiro), *Anadenanthera macrocarpa benth* (angico vermelho), *Anadenanthera columbrina* (angico branco), *Prunus persica* (pêssego), *Vochysia lehmannii* (quaruba) e

Vochysia thyrsoidea (gomeiro-de-minas ou árvore de goma arábica), *Vochysia tucanorum* (pau de tucano), *Albizia lebbbeck*, *Spondias purpurea* (ciriguela), *Sterculia striata* (chichá), *Scheelea phalerata* (uricuri), *Syagrus romanzoffiana* (coqueiro-gerivá ou palmeira rainha), *Livistona chinensis* e *Enterolobium contortisilliquim* (timbaúba) (FEITOSA; DE PAULA, 2018).

De forma macromolecular, as gomas de exsudatos são heteropolissacarídeos complexos e polidispersos. Os polissacarídeos de exsudatos podem ser divididos em três grupos principais, em virtude das cadeias principais, laterais e ramificações, sendo eles:

(I) O primeiro grupo apresenta uma cadeia principal de unidades de β -D-galactose ligada (1 \rightarrow 3) com cadeias laterais de β -D-galactose ligada (1 \rightarrow 6) e ácido glucurônico (GluA), arabinose (Ara) e ramnose (Ram) nas ramificações.

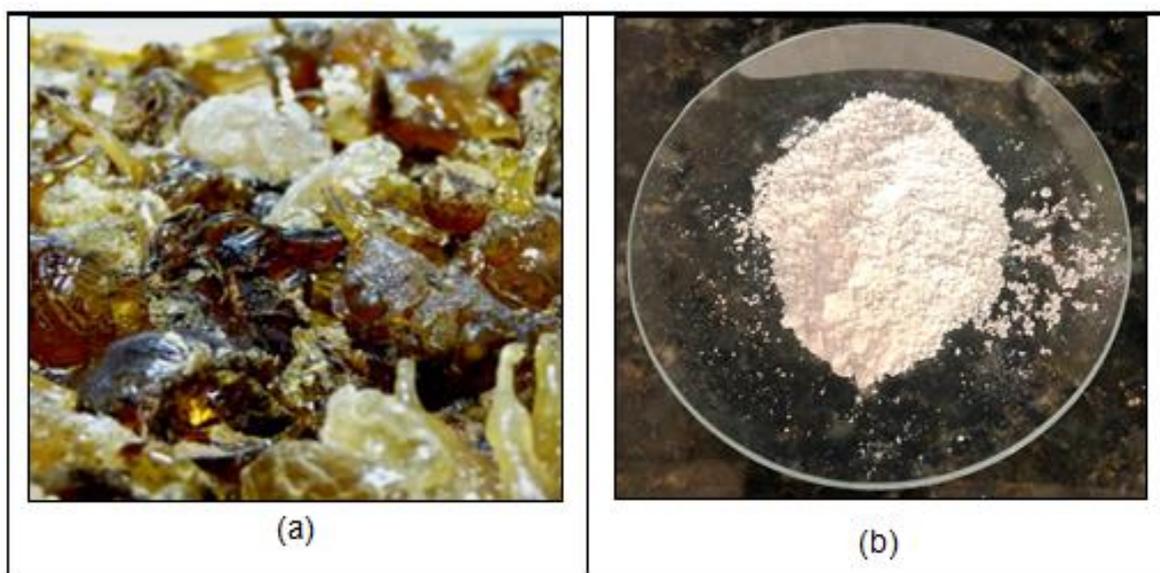
(II) O grupo 2 é composto por uma cadeia principal de β -D-ácido glucurônico ligado (1 \rightarrow 4) à D-manose (1 \rightarrow 2), com ramificações de arabinose e ácido glucurônico.

(III) O terceiro grupo possui uma cadeia de α -D-ácido galacturônico ligado (1 \rightarrow 4) à α -L-ramnose (1 \rightarrow 2), com ramificações de ácido glucurônico e β -D-galactose (LIMA *et al.*, 2002).

2.1.2.2.1 Goma de cajueiro (GC)

A goma de cajueiro (GC) é um heteropolissacarídeo ácido, ramificado, de cadeia longa e elevado peso molecular. A GC é um polissacarídeo obtido do exsudato da espécie *Anacardium occidentale* L. (Figura 13(a) e 13(b)). É uma árvore encontrada na zona tropical, amplamente distribuída pelo nordeste do Brasil, de baixo custo e fácil acesso (CAMPOS *et al.*, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2016).

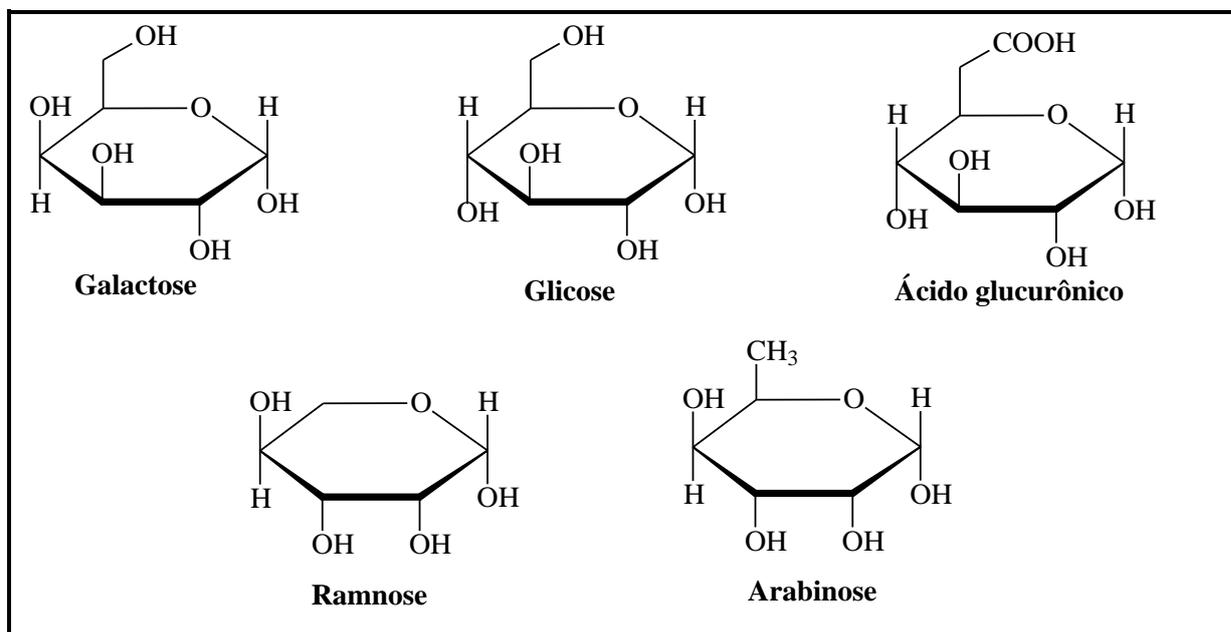
Figura 13 - (a) Exsudato obtido de Cajueiro e (b) Goma de cajueiro.



Fonte: Andrade *et al.*, 2013; Autoria própria, 2019.

Segundo dados do IBGE (2016) a área cultivada de cajueiro é de 583,9 mil hectares, sendo que a região Nordeste concentra cerca de 99,6% da área cultivada. Os estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí concentram mais de 91% dos cajueirais brasileiros. A coleta da goma é realizada de forma simples e a exsudação muitas vezes espontânea. A produção média natural de goma/planta/ano é de 700 g e a produção anual de GC tomando como base o adensamento médio de 100 plantas/ha gira em torno de 50.000 toneladas.

A goma de cajueiro do Brasil contém 73-82% de galactose, 6-14% de glucose, 4-5% de arabinose, 2,0-3,5% de ramnose, até 1% de manose e 4-6% de ácido glucurônico (Figura 14), em m/m, sendo esses valores dependentes da época da coleta da goma, do tipo de árvore, da idade e do método de purificação (FEITOSA, DE PAULA, 2018).

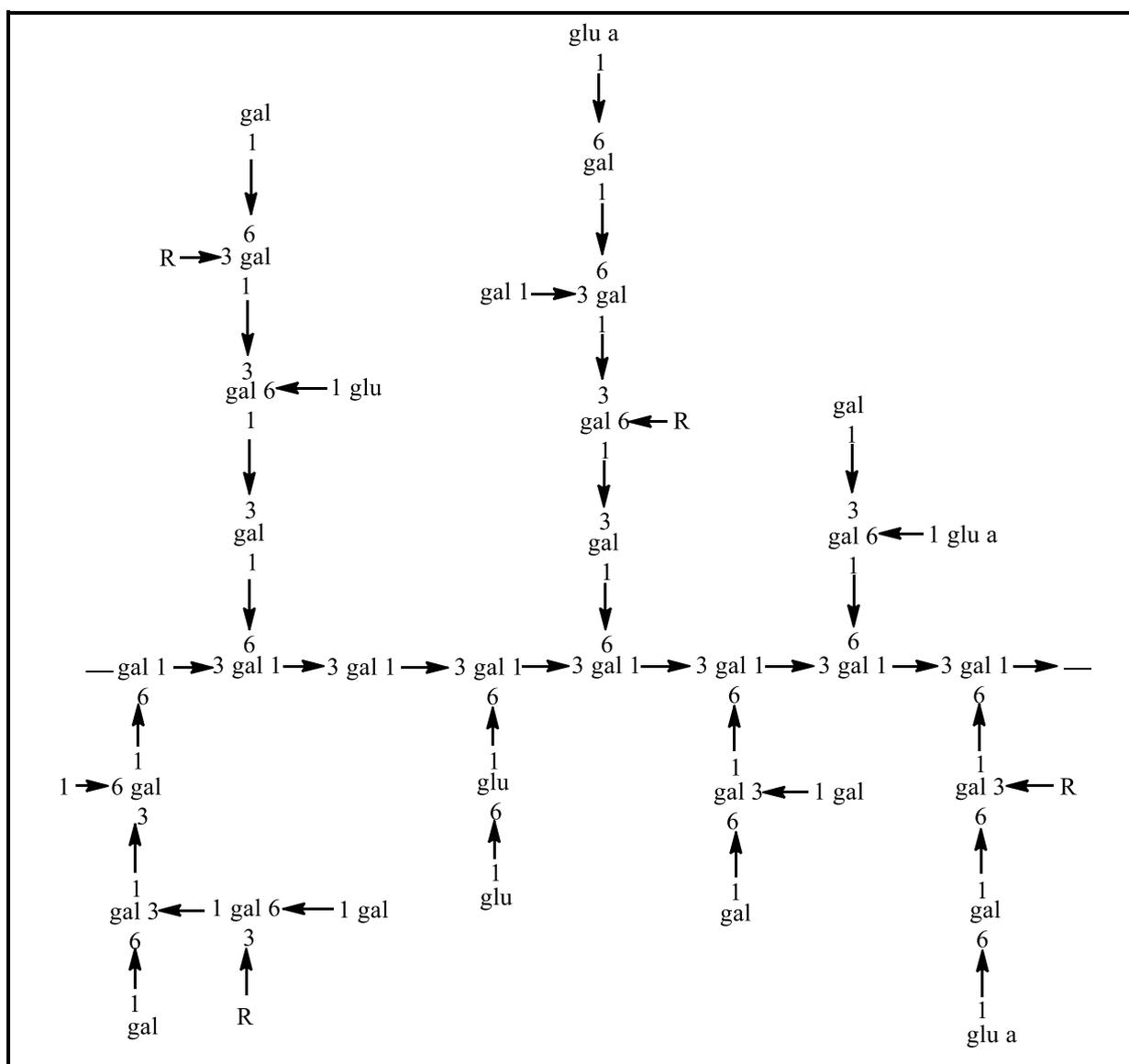
Figura 14 - Unidades de monossacarídeos presentes na goma de cajueiro.

Fonte: Autoria própria, 2019.

Com base na composição, informações estruturais e comparação com a estrutura da goma de cajueiro indiana, um provável fragmento estrutural foi proposto (FEITOSA; DE PAULA, 2018), conforme demonstrado na Figura 15.

A goma de cajueiro por ser heteropolissacarídeo ácido, porém, na forma de sal, contém cátions e contraíons. Na goma bruta, os principais são: o Na^+ (1,4%), K^+ (0,25%), Ca^{2+} (0,20%) e Mg^{2+} (0,07%), teores estes diminuídos após o processo de purificação da goma (KUMAR *et al.*, 2012).

A goma de cajueiro do Brasil é altamente solúvel em água, mesmo à temperatura ambiente e sua massa molecular é de cerca de $1,5 \times 10^4$ g/mol usando a cromatografia de permeação em gel (MOREIRA *et al.*, 2002).

Figura 15 - Estrutura provável de fragmento da goma de cajueiro.

Fonte: Autoria própria, 2019.

Na Tabela 1 encontram-se algumas características da goma de cajueiro de origem brasileira.

Tabela 1 - Algumas características da goma de cajueiro do Brasil.

Características	Goma Bruta	Goma Isolada
Cor do sólido	Âmbar	Branca
Aspecto da solução	Escura e turva	Límpida
Umidade (%)	13,0	9,0 - 15,0
Cinza (%)	0,92	0,98 - 1,10
Proteína (%)	1,75	1,02 - 1,19

Fonte: Rodrigues *et al.*, 1993.

A goma de cajueiro bem como seus derivados possui diversas aplicações em diferentes áreas, como alimentos, saúde, mineral, agricultura, biotecnologia e nanotecnologia, dentre outras. A Tabela 2 mostra alguns exemplos dessas aplicações.

Tabela 2 – Algumas aplicações da goma de cajueiro.

Áreas	Aplicações
Alimentos	Microencapsulação de café para proteção do aroma
	Emulsão em saladas
	Estabilizante em suco de caju
	Fabricação de salsichas
	Filmes para cobertura de alimentos
	<i>Spray drying</i> de suco de caju
Saúde	Atividade antimicrobiana
	Atividade antitumoral <i>in vivo</i> em camundongos
	Efeito no processo cicatricial de lesões cutâneas
	Atividade antirrotavírus
	Géis e microesferas para liberação de fármaco

	Filme curativo
	Atividade gastroprotetora
	Atividade anti-hipertensiva
Mineral	Depressor na flotação de minerais fosfatados
Agricultura	Hidrogel superabsorvente com acrilamida
	Encapsulação de larvicidas
Biotecnologia	Encapsulação de óleo essencial
	Eletrodos multicamadas para detecção de dopamina
	Emulsificante de nanotubos de carbono
	Imobilização de Concanavalina A em filmes finos
	Nanopartículas com ácido acrílico
	Nanogel com quitosana para encapsulação
Nanotecnologia	Filmes <i>layer by layer</i> como sensor biomédico
	Nanopartículas auto-organizadas
	Atividade bactericida de GC com nanopartículas de Ag
	Pontos quânticos de carbono
	Goma de cajueiro modificada química para utilização na síntese de AgNPs

Fonte: Autória própria.

Outra aplicação recente da goma de cajueiro e extratos da árvore de cajueiro é o seu uso em processos de síntese verde de nanopartículas de prata. Como, por exemplo, pesquisas desenvolvidas por Quelemes e colaboradores (2013) que utilizaram a GC na síntese de nanopartículas de prata com posterior avaliação *in vitro* de suas atividades antibacterianas e citotóxicas. Estudos realizados por Araruna e colaboradores (2013) descreveram o desenvolvimento e a caracterização de uma síntese verde rápida e de baixo custo de nanopartículas de prata reduzidas e estabilizadas pela goma exsudada de *Anacardium occidentale L.*, bem como, a análise *in vitro* de suas atividades antibacterianas. Já, pesquisas realizadas por

Bonatto e Silva (2014) usaram extrato das cascas da castanha de caju (*Anacardium othonianum* Rizz) na síntese e caracterização óptica, estrutural, elétrica, molecular e propriedades biológicas de AgNPs. Pesquisas desenvolvidas por Lustosa e colaboradores (2017) utilizaram a goma de cajueiro como agente de cobertura e borohidreto de sódio como agente redutor na síntese de AgNPs para o desenvolvimento de um hidrogel à base de carboximetilcelulose.

Com base nos estudos anteriormente reportados, neste projeto de doutoramento, propusemos o desenvolvimento de nanocompósitos utilizando a argila palygorskita modificada com nanopartículas de prata reduzidas e estabilizadas com a goma de cajueiro. No entanto, não há estudos na literatura, sobre o desenvolvimento de nanocompósitos utilizando essa rota de síntese verde com nanopartículas de prata e palygorskita. Logo, a investigação constitui-se como inovadora e importante para novas aplicações desse nanomaterial.

3 NANOCOMPÓSITOS ARGILA/NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Durante o processo de síntese de nanopartículas de prata uma das grandes dificuldades é que sem uma matriz de suporte, estas podem ser inadequadas em determinadas aplicações, como por exemplo, na liberação prolongada da prata por exemplo, em dispositivos médicos (RIVERO *et al.*, 2015). Outro problema está relacionado ao tamanho das nanopartículas, pois se ocorrer processos de agregação pode levar a desvantagens em suas propriedades químicas, físicas e antibacterianas (LI; CHAN, 2015).

Assim, combinar as nanopartículas com outros suportes, pode evitar ou diminuir esses problemas, surgindo a sua aplicação como nanocompósitos. De acordo com a IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada (em inglês: *International Union of Pure and Applied Chemistry*), os compósitos são materiais multicomponentes, que constituem vários domínios de fases diferentes, em que, pelo menos um domínio é uma fase contínua, com características únicas, das quais não é possível de ser obtidas por seus componentes individuais. Já o material denominado de nanocompósito, são materiais compósitos híbridos, em que, pelo menos um de seus componentes esteja em dimensão nanométrica. O interesse em

nanocompósitos nos últimos anos se deve ao fato destes apresentarem melhores propriedades quando comparados aos compósitos convencionais. A melhora nessas propriedades ocorre pela tendência de uma maior interação na interface matriz/reforço na escala nanométrica (WORK *et al.*, 2004; BOTAN *et al.*, 2011; MORAES *et al.*, 2014).

Um compósito é constituído por materiais que se dividem em duas categorias principais: a matriz e o reforço. Os reforços podem ser, por exemplo, fibras, partículas, e as matrizes podem ser polímeros, cerâmicas e metais. Em relação a sua matriz, os nanocompósitos podem ser classificados como: nanocompósitos de matriz cerâmica, nanocompósitos de matriz polimérica e nanocompósitos de matriz metálica (CAMARGO *et al.*, 2009). Os nanocompósitos argila/prata são considerados novos materiais funcionais inorgânicos, apresentando propriedades como alta durabilidade e utilização como agentes antimicrobianos e antifúngicos (OYA *et al.*, 1991).

Lakbita e colaboradores (2019) estudaram o efeito da composição de fases de nanocompósitos suportados por $\text{Ag}_2\text{CO}_3/\text{Pal}$ sobre suas propriedades fotocatalíticas em função da estrutura cristalina e do teor relativo de fases de Ag_2CO_3 na presença de luz visível para a remoção do corante Orange G de águas residuais. Luo e colaboradores (2017) estudaram a síntese de nanopartículas de Ag_3PO_4 depositadas na superfície da palygorskita (nanocompósitos $\text{Pal}/\text{Ag}_3\text{PO}_4$) avaliando sua atividade fotocatalítica e utilização na degradação do corante laranja de metila.

Ma e colaboradores (2014) sintetizaram nanopartículas de Ag_3PO_4 com tamanho de 5 nm, suportadas na superfície da Palygorskita. Na síntese das nanopartículas foi utilizado nitrato de prata e hidrogenofosfato dissódico, sendo o nanocompósito usado como agente fotocatalítico de corantes. Já, Han e colaboradores (2016) utilizaram fibras de lã para fabricar carbono dots (CDs) pelo método hidrotérmico, para a preparação de nanocompósitos (Pal-Ag) utilizando radiação ultravioleta, as nanopartículas de prata apresentaram tamanhos entre 3 - 7 nm e boas propriedades antibacterianas.

Assim, a combinação de nanopartículas de prata com materiais ecologicamente “corretos”, inertes e baratos podem explorar suas propriedades de forma eficaz para várias aplicações (EREMENKO *et al.*, 2016). Dentre os vários tipos

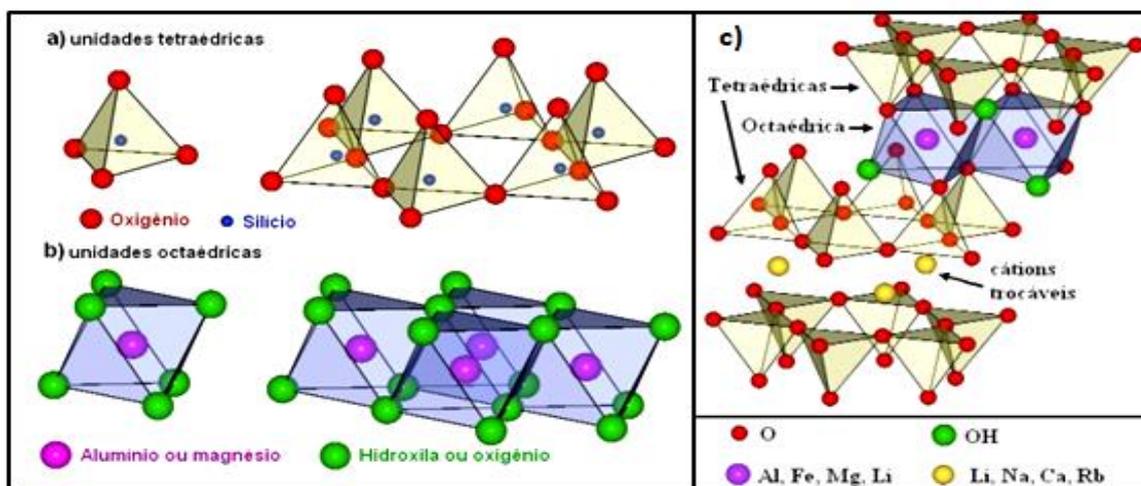
de matrizes, as argilas surgem como materiais atraentes em virtude da relação custo, eficácia e ampla disponibilidade (MOTSHEKGA *et al.*, 2013; HUSEN; SIDDIQI, 2014).

4 ARGILOMINERAIS

Segundo a Associação Internacional de Estudos para Argilas (AIPEA), os argilominerais são definidos como minerais ou filossilicatos que dão a argila plasticidade, endurecendo quando secos ou aquecidos (GUGGENHEIM; MARTIN, 1995). Os argilominerais, puros ou modificados, são reconhecidos como os materiais do século XXI, em virtude de sua abundância, por serem de baixo custo e ambientalmente ecológicos (MAISANABA *et al.*, 2015).

Os argilominerais são compostos por silicato de alumínio, de ferro e de magnésio hidratados, apresentando estrutura cristalina em camadas (filossilicatos), constituídos por folhas contínuas de tetraedro de óxido de silício, ordenado de forma hexagonal, associados a folhas octaédricas de hidróxidos de metais tri e divalentes (COELHO *et al.*, 2007). A Figura 16 apresenta as unidades tetraédricas e octaédricas que fazem parte da estrutura cristalina de argilominerais.

Figura 16 - Unidades estruturais de argilominerais: (a) tetraedros de óxido de silício, (b) octaedros de hidróxido de alumínio e magnésio e (c) esquema da estrutura cristalina de uma esmectita.



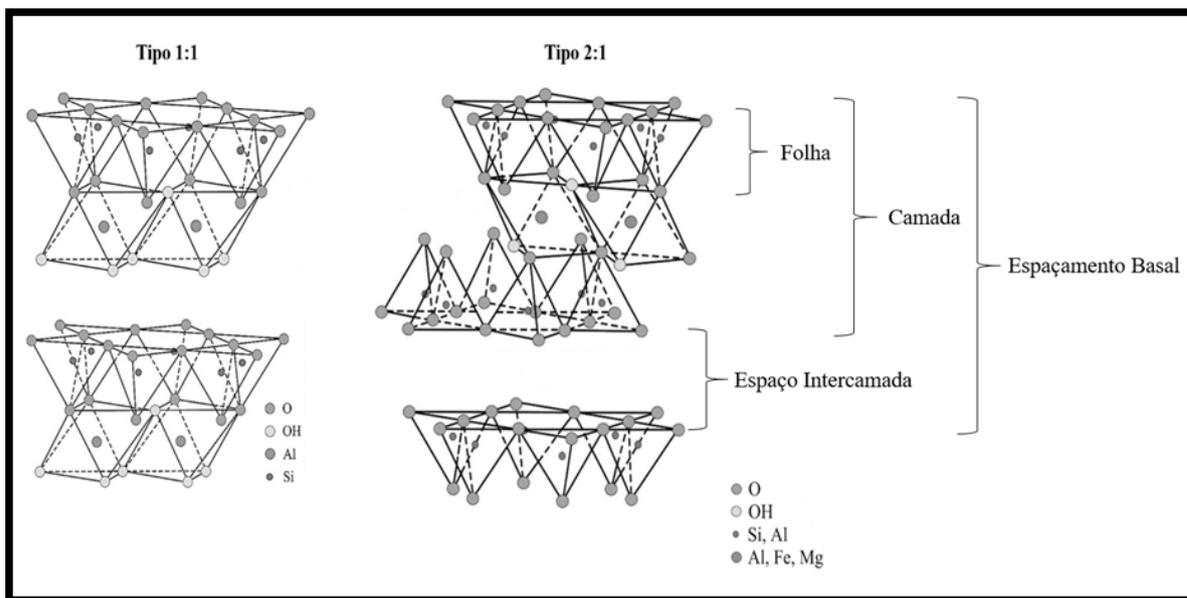
Fonte: Carastan, 2007.

Os argilominerais vêm sendo o foco de muitos estudos, em virtude de sua composição, estrutura e propriedades. Sendo utilizados em várias aplicações industriais, como produto base na confecção de materiais com alto valor agregado como por exemplos, agentes descorantes, estabilizantes de suspensões, agente catalítico de craqueamento, clarificação de cervejas, águas, cidras, vinagres, etc; cosméticos e fármacos, fabricação de filtros, fluidos de perfuração, tratamento de resíduos alimentícios, suportes catalíticos, tratamento de detritos, produção de nanocompósitos polímero-argila, dentre outros (SILVA; FERREIRA, 2008).

O termo “argila” é aplicado aos materiais que apresentam tamanho de partícula inferior a 2 μm , bem como, a família de minerais com composição química similares e características estruturais de cristal (UDDIN, 2017). As argilas são classificadas em classes ou grupos, de acordo com suas semelhanças químicas, em grupo das esmectitas (montmorilonita, saponita), mica (ilita), caulinita, vermiculita, serpentina, pirofilita (talco) e palygorskita - sepiolita. (COELHO *et al.*, 2007; UDDIN, 2017).

Os argilominerais também podem ser classificados de acordo com a sua estrutura cristalina, sendo estrutura 1:1 e estrutura 2:1 (Figura 17). As estruturas 1:1 e 2:1 estão relacionadas ao número de camadas de cátions coordenados a folha de tetraedro em relação ao número de camadas de cátions coordenados à folha de octaedro, sendo essa combinação denominada de lamela ou camada (COELHO *et al.*, 2007).

Os argilominerais 1:1 possuem uma folha de tetraedro e uma folha de octaedro, os grupos que possuem essa estrutura são: da caulinita, das serpentinas e dos argilominerais ferríferos. Já os argilominerais 2:1 possuem uma folha de octaedro entre duas folhas de tetraedros e os grupos que apresentam essa estrutura são os: do talco-pirofilita; das micas; das esmectitas; das vermiculitas; das cloritas e da palygorskita – sepiolita (AGUIAR, 2002; COELHO *et al.*, 2007; UDDIN, 2017).

Figura 17 - Esquema estrutural de uma argila 1:1 e 2:1.

Fonte: Adaptado de Grim, 1962.

4.1 Argilomineral palygorskita

4.1.1 Origem, estrutura e propriedades

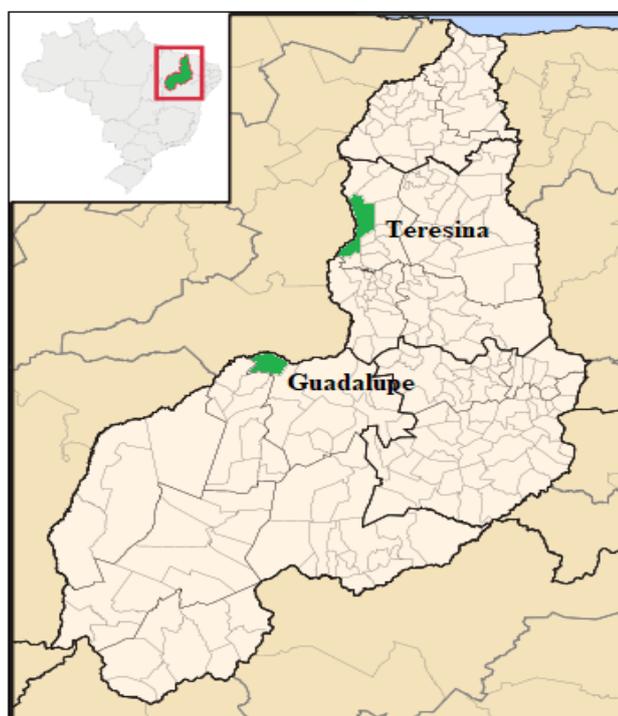
O nome do argilomineral palygorskita (Pal) é em homenagem ao local de sua primeira descoberta, a região da Divisão de Minas Palygorsk na província de Perm, na Rússia em 1861. Em 1935, Lapparent atribuiu o nome de atapulgita a uma *terra fuller* encontrada na região de Attapulgis, Geórgia (Estados Unidos) e em Mormoiron (França). Lapparent achava que esse mineral era diferente da palygorskita, no entanto, foi comprovado através de técnicas como difração de raios X (DRX), microsonda eletrônica e análise termodiferencial, que se tratava do mesmo mineral (LUZ; ALMEIDA, 2005).

A palygorskita geralmente é encontrada em solos semiáridos e áridos (NEAMAN; SINGER, 2004). Sendo conhecida comercialmente como atapulgita. É o argilomineral de maior produção no mundo ocidental, sendo os Estados Unidos o

maior produtor com cerca de 93% da produção, seguidos de Senegal, Espanha, Austrália e África do Sul. (COELHO *et al*, 2007; LUZ; ALMEIDA, 2005).

No Brasil as ocorrências da palygorskita estão localizadas na cidade de Santos - SP, Marília – SP, Rubião Júnior – SP e Ponte Alta – MG, estas, porém sem valor comercial. No ano de 1982, foi descoberta uma série de depósitos de palygorskita no município de Guadalupe – Piauí que fica a 337 Km de Teresina, capital do Estado, conforme o mapa na Figura 18. Sendo estes distribuídos por uma área de cerca de 700 Km², com corpos de 500 m de comprimento e 17 m de espessura e reservas da ordem de 20 milhões de toneladas. A palygorskita também é encontrada em outros municípios do Piauí como Anísio de Abreu, Fronteiras, Paulistana, São Raimundo Nonato e Simões (LUZ *et al.*, 2004; PEREIRA NETO *et al.*, 1993).

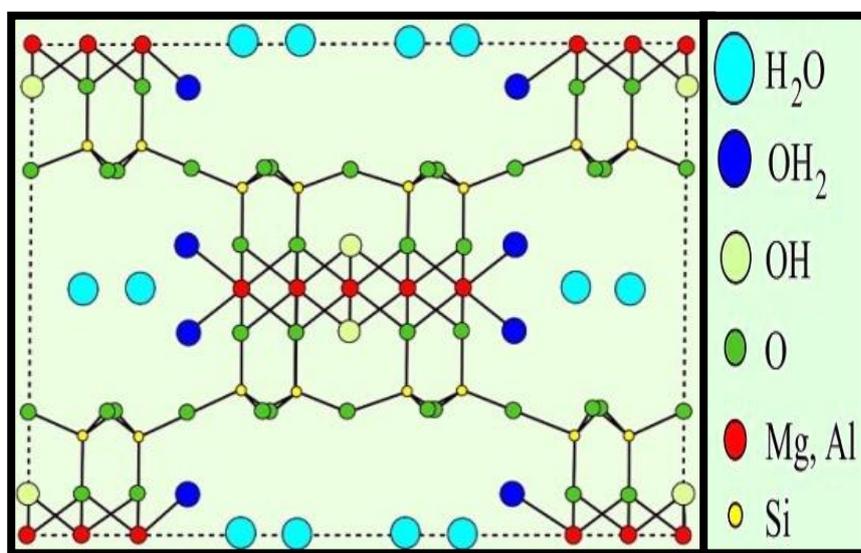
Figura 18 - Mapa do estado do Piauí, destacando as cidades de Guadalupe e Teresina - PI.



A palygorskita é um silicato hidratado de alumínio e magnésio apresentando grupos hidroxil reativos na superfície. Sua primeira estrutura foi proposta por Bradley

(1940) sendo esta $\text{Si}_8\text{Mg}_5\text{O}_{20}(\text{OH})_2(\text{OH}_2)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (BRADLEY, 1940; ZHANG *et al.*, 2009; ZENG *et al.*, 2017). De acordo com a fórmula estrutural proposta para a palygorskita (Figura 19), esta apresenta três formas de água em sua estrutura: (a) águas coordenadas a cátions da folha octaédrica, (b) águas zeólíticas presentes nos canais que interagem tanto com a molécula de H_2O coordenada quanto a folha tetraédrica e (c) águas hidroxilas ligadas à estrutura do argilomineral no centro da folha octaédrica (GIONIS *et al.*, 2006).

Figura 19 - Representação da estrutura da palygorskita.

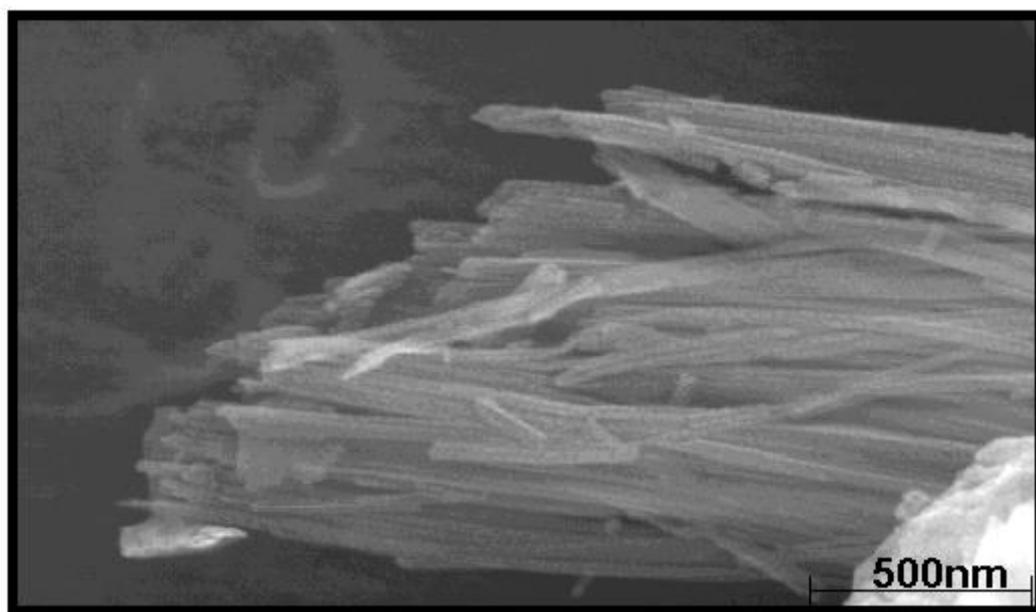


Fonte: Bailey, 1980.

A estrutura cristalina da palygorskita pode apresentar substituições isomórficas, sendo as mais comuns as do cátion Si^{4+} , dos tetraedros, que podem ser substituídos por cátions trivalentes (Al^{3+} ou Fe^{3+}) e de Al^{3+} , dos octaedros, por cátions divalentes (Mg^{2+} ou Fe^{2+}), o que favorece uma carga superficial negativa. Que é compensada pelos cátions que estão presentes no espaço interlamelar (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e K^+) (LUZ; ALMEIDA, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2013). Assim, a composição e a morfologia da palygorskita dependem do local onde está depositada (RUIZ-HITZKY *et al.*, 2013).

A palygorskita possui morfologia fibrosa (Figura 20), apresentando estrutura em canal aberto formando cristais alongados com estrutura 2:1, sendo uma dupla camada de tetraedro de silício e uma camada central de octaedro de magnésio, alumínio ou ferro (LUZ; ALMEIDA; 2005; XAVIER *et al.*, 2016; CARAZO *et al.*, 2018).

Figura 20 - Imagem obtida por MEV da palygorskita.



Fonte: Autoria própria, 2019.

A estrutura tridimensional da palygorskita lhe confere forma alongada de suas partículas que se assemelham a agulhas ao invés de placas, bem como, o não inchamento da argila quando exposta à água, processo conhecido como *swelling* (TANG *et al.*, 2016; KUPFER, 2014). Outras propriedades decorrentes da morfologia fibrosa e a presença de canais, diz respeito a sua elevada área superficial (estimada em torno de 75 a 210 m²g⁻¹) e a presença de cátions trocáveis (20 a 30 miliequivalentes por 100 g de argila) (LUZ; ALMEIDA, 2005; SHAO *et al.*, 2017).

4.1.2 Aplicações da palygorskita

A presença de microporos e canais na estrutura da palygorskita, além da, natureza alongada de suas partículas e sua granulometria fina, conferem uma alta superfície específica e capacidade de absorção e dessorção de diferentes tipos de materiais (LUZ; ALMEIDA, 2005). Algumas aplicações da palygorskita encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Algumas aplicações da palygorskita.

Carreador de fertilizantes e defensivos agrícolas	Absorvente de óleo e graxa
Agricultura, como condicionador de solos	Lama de perfuração
Cama de animais domésticos (<i>pet litter</i>)	Indústria de tinta
Clarificação, descoramento e filtração de óleos e graxas	Aditivo de alimentação animal
Purificação de águas domésticas e industriais	Aplicações têxteis
Aplicações farmacêuticas, médicas e cosméticas	Revestimento de piso cerâmico
Refino e processamento químico de derivados de petróleo	Revestimento asfáltico
Indústria de cimento (pozolanas, impermeabilizantes, plastificantes)	Adesivos

Fonte: Adaptado de Luz; Almeida, 2005.

A palygorskita em virtude de sua alta capacidade de adsorção principalmente quando tratada termicamente ou ativada com ácidos, aumenta de 5 a 8 vezes maior para alcaloides (estricnina e quinina), bactérias e toxinas, justificando, assim, sua utilização na composição de produtos farmacêuticos (NETO *et al.*, 1993). Por apresentar propriedades anti-ácidas pela adsorção de íons H⁺ em sua superfície, a Pal, pode atuar como protetor da mucosa gástrica e intestinal, pois aderindo a essas membranas, ocorre a diminuição da secreção gástrica na mucosa,

melhorando a irritação do local, além, de adsorver vírus, toxinas e bactérias (DROY-LEFAIX; TATEO, 2006). O interesse em sua utilização deve-se por esta apresentar alta capacidade adsortiva podendo ser usada em medicamentos antidiarreicos, máscaras faciais e cicatrização de feridas (GALAN, 1996; OLIVEIRA, 2010; SILVA, 2011). Além de, apresentar pontos de interação com outras moléculas, devido a grupos silanóis disponíveis e carga superficial que facilita a interação com proteínas, lipídeos, biopolímeros, ácidos nucleicos e polissacarídeos podendo ser utilizada em outras aplicações (RUIZ-HITZKY *et al.*, 2013).

Nos últimos anos, há um crescente aumento em pesquisas utilizando a palygorskita como material adsorvente, principalmente na adsorção e liberação de fármacos (SANTANA *et al.*, 2017), tratamento de águas residuais (ZHAOHUI *et al.*, 2016) e remoção de contaminantes de efluentes (CHANG *et al.*, 2016).

Dessa forma, considerando o caráter inovador e inédito da pesquisa até o presente momento, o conhecimento sobre a interação e as propriedades do nanocompósito de palygorskita/nanopartículas de prata pode potencializar sua aplicação como agente antimicrobiano.

REFERÊNCIAS

ABID, J. P. *et al.* Preparation of silver nanoparticles in solution from a silver salt by laser irradiation. *The Royal Society of Chemistry*, p. 792 - 793, 2002.

AGNIHOTRI, S. *et al.* Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *Royal Society of Chemistry*, v. 4, p. 3974 - 3983, 2014.

AGUIAR, M. R. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. *Química Nova*, v. 25, p. 1145 -1154, 2002.

AHMED, K. B. A. *et al.* Future prospects of antibacterial metal nanoparticles as enzyme inhibitor. *Materials Science & Engineering C*, v. 68, p. 939 - 947, 2016.

AMDOUNI, S. *et al.* Gold nanoparticles coated silicon nanowires for efficient catalytic and photocatalytic applications. *Materials Science in Semiconductor Processing*, v. 75, p. 206 - 213, 2018.

ANDRADE, K. C. S. *et al.* Goma de Cajueiro (*Anacardium occidentale*): Avaliação das Modificações Químicas e Físicas por Extrusão Termoplástica. *Polímeros*, v. 4, p. 1 -5, 2013.

ANDRADE, P. F. *Preparação e caracterização de nanopartículas de prata e de nanocompósitos poliméricos antimicrobianos*. 2013. 182 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2013.

ARARUNA, F. B. *et al.* Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Reduced and Stabilized by Cashew Tree Gum. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, v. 5, p. 1 - 4, 2013.

ARAUJO, S. *et al.* Aplicações Farmacológicas e Tecnológicas da Goma do Cajueiro (*Anacardium Occidentale L.*) - um Produto Obtido da Flora Brasileira. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, v. 8, n. 1, p. 4292 - 4305, 2018.

ASHRAF, A. *et al.* Synthesis, characterization, and antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized from *Coriandrum sativum L.* *Journal of Infection and Public Health*, p. 1- 7, 2018.

BAILEY, S. W. *Structures of layer silicates*. In: Brindley G.W., Brown G. (Eds.). *Crystal structures of clay minerals and their X-ray identification*. London, Mineralogical Society. p. 1 - 124, 1980.

BAVASSO, I. *et al.* Perspectives in Nanotechnology Based Innovative Applications for The Environment. *Chemical Engineering*, v. 47, p. 55 - 60, 2016.

BEMILLER, J.N.; HUBER, K.C. Carboidratos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.;

FENNEMA, O. R. *Química de Alimentos de Fennema*. 4th ed. Artmed, Porto Alegre, p. 611 - 658, 2010.

BINDHU, M. R.; UMADEVI, M. Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver Nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v.135, p. 373 - 378, 2015.

BONATTO, C. C.; SILVA, L. P. Higher temperatures speed up the growth and control the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by cashew nutshells. *Industrial Crops and Products*, v. 58, p. 46 - 54, 2014.

BOTAN, R. *et al.* Síntese e caracterização de Nanocompósitos Esfoliados de Poliestireno - Hidróxido Duplo Lamelar via polimerização *in situ*. *Polímeros*, v. 21, p. 34 - 38, 2011.

BRADLEY, W. The structural scheme of attapulgite. *American Mineralogist*, v. 25, p. 405 - 410, 1940.

CAMARGO, P. H. C. *et al.* Nanocomposites: Synthesis, Structure, Properties and New Application Opportunities. *Materials Research*, v. 12, p. 1 - 39, 2009.

CARASTAN, D. J. *Obtenção e caracterização reológica de nanocompósitos de polímeros estirênicos*. 2007. 117 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

CARAZO, E. *et al.* Adsorption and characterization of palygorskite-isoniazid nanohybrids. *Applied Clay Science*, v. 160, p. 180 - 185, 2018.

CHAIENDOO, K. *et al.* A new formaldehyde sensor from silver nanoclusters modified Tollens' reagent. *Food Chemistry*, v. 225, p. 41 - 48, 2018.

CHANG, P. *et al.* Interaction of ciprofloxacin and probe compounds with palygorskite PFI-1. *Journal of Hazardous Materials*, v. 303, p. 55-63, 2016.

CHANG, S. *et al.* Evidence for the growth mechanisms of silver nanocubes and nanowires. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 115, p. 7979 - 7986, 2011.

CLARK, D. P.; PAZDERNIK, N. J. Nanotechnology. *Biotechnology*, p. 219 - 248, 2016.

COELHO, A. C. V. *et al.* Argilas especiais: o que são, caracterização e propriedades. *Química Nova*, v. 30, p. 146 - 52, 2007.

COURA, M. F. *et al.* Como obter nanopartículas de ouro usando suco de limão?. *Química Nova*, v. 41, p. 533 - 539, 2018.

CUNHA, P. L. R. *et al.* A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. *Química Nova*, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 649 - 660, 2009.

DEEPAK, V.; KALISHWARALAL, K. *An Insight into the Bacterial Biogenesis of Silver Nanoparticles, Industrial Production and Scale-up*. In: Metal Nanoparticles in Microbiology. [s.l: s.n.], p. 17 - 36, 2011.

DING, Y. *et al.* Airborne engineered nanomaterials in the workplace - a review of release and worker exposure during nanomaterial production and handling processes. *Journal of Hazardous Materials*, v. 322, p. 17 - 28, 2016.

DURÁN, N. *et al.* Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos. *Química Nova*, v 1, p. 1- 8, 2018.

DROY-LEFAIX, M. T.; TATEO, F. Clays and clay minerals as drugs. In: Bergaya, F.; Theng, B. K. G.; Lagaly, G. (Eds.). *Handbook of Clay Science*. Amsterdam: Elsevier, 2006.

EREMENKO, A. M. *et al.* Antibacterial and antimycotic activity of cotton fabrics, impregnated with silver and binary silver/copper nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, v. 11, p. 28 - 37, 2016.

EVANOFF JR, D. D.; CHUMANOV, G. Size-controlled synthesis of nanoparticles “silver-only” aqueous suspensions via hydrogen reduction. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 108, p. 13948 - 13956, 2004.

_____. Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays. *A European Journal of Chemical Physics Chemistry*, v. 6, p. 1221-1231, 2005.

FAN, Q. H. *et al.* Comparison of Ni²⁺ sorption to bare and ACT-graft attapulgites: Effect of pH, temperature and foreign ions. *Surface Science*, v. 602, p. 778 - 785, 2008.

FANTA, G. F. *et al.* Preparation of starch-stabilized silver nanoparticles from amylose-sodium palmitate inclusion complexes. *Carbohydrate Polymers*, v. 92, p. 260 - 268, 2013.

FEITOSA, J. P. A.; DE PAULA, R. C. M. Polissacarídeos de exsudatos. In: De Paula, R. C. M.; De Paula, H. C. M; Pessoa, J. P. (Org.). *Polissacarídeos da biodiversidade brasileira*. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018. p. 9 - 49.

FEYNMAN, R. P. There's plenty of room at the bottom. *Engineering and Science*, v. 23, p. 22 - 36, 1960.

FIRDHOUSE, M. J.; LALITHA, P. Biosynthesis of silver nanoparticles and its applications. *Journal of Nanotechnology*, p. 1 - 18, 2015.

FLETCHER, N. D. *et al.* Stability of silver nanoparticle sulfidation products. *Science of the Total Environment*, v. 648, p. 854 - 860, 2019.

FORTUNATO, E. *As metas da nanotecnologia: Aplicações e Implicações*. Centro de Investigação de Materiais, Janeiro: 2005.

GALAN, E. Properties and applications of Palygorskite-Sepiolite Clay. *Clay Minerals*, v. 31, p. 443 - 453, 1996.

GHORBANI, H. R. *et al.* Biological and non-biological methods for silver nanoparticles synthesis. *Chemical Biochemical Engineering Q*, v. 25, p. 317 - 326, 2011.

GIONIS, V. *et al.* On the structure of palygorskite by mid- and near-infrared spectroscopy. *American Mineralogist*, v. 91, p. 1125 - 1133, 2006.

GUGGENBICHLER, J. P. *et al.* A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection*, v. 27, p. 16 - 23, 1999.

GUGGENHEIM, S.; MARTIN, R. Definition of clay and clay mineral: joint report of the aipea nomenclature and cms nomenclature committees. *Clays and Clay Minerals*, v. 43, p. 255 - 256, 1995.

GUZMAN, M. *et al.* Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 8, n. 1, p. 37 - 45, 2012.

HAIDER, A.; KANG, I. Preparation of Silver Nanoparticles and Their Industrial and Biomedical Applications: A Comprehensive Review. *Advances in Materials Science and Engineering*, p. 1 - 16, 2015.

HAMMOND, J. L. *et al.* Localized surface plasmon resonance as a biosensing platform for developing countries. *Biosensors*, v. 4, p. 172 - 188, 2014.

HAN, S. *et al.* A Convenient Ultraviolet Irradiation Technique for Synthesis of Antibacterial Ag-Pal Nanocomposite. *Nanoscale Research Letters*, v. 11, p. 1 - 7, 2016.

HIEMENZ, P. C.; RAJAGOPALAN, R. *Principles of colloid and surfasse chemistry*. 3ª edição. Marcel Dekker: New York, 1997.

HORIKOSHI, S.; SERPONE, N. Introduction to Nanoparticles. In: Horikoshi, S.; Serpone, N. (Ed.). *Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications*. Wiley Online Library, p. 1 - 24, 2013.

HU, J. Q. *et al.* A simple and effective route for the synthesis of crysralline silver nanorods and nanowires. *Advanced Functional Materials*, v. 14, p. 183 - 189, 2004.

HUANG, L. *et al.* Efficient preparation of silver nanoplates assisted by non-polar solvents. *Journal of Colloid Interface Science*, v. 331, p. 384 - 388, 2009.

HUSEN, A.; SIDDIQI, K. S. Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale Research Letters*, v. 9, p. 229 - 253, 2014.

JAIN, K. K. Nanobiotechnology. *Comprehensive Biotechnology*, p. 599 - 614, 2011.

JANOVÁK, L.; DÉKÁNY, I. Optical properties and electric conductivity of gold nanoparticle-containing, hydrogel-based thin layer composite films obtained by photopolymerization. *Applied Surface Science*, v. 256, p. 2809 - 2817, 2010.

JUNG, J. *et al.* One-step synthesis of starch-silver nanoparticle solution and itsapplication to antibacterial paper coating. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 107, p. 2285 - 2290, 2018.

KABIR, E. *et al.* Environmental impacts of nanomaterials. *Journal of Environmental Management*, v. 225, p. 261 - 271, 2018.

KALAIVANI, R. *et al.* Synthesis of chitosan mediated silver nanoparticles (AgNPs) for potential antimicrobial applications. *Frontiers in Laboratory Medicine*, v. 2, p. 30 - 35, 2018.

KAUR, R.; PAL, B. Plasmonic Coinage Metal-TiO₂ Hybrid Nanocatalysts for Highly Efficient Photocatalytic Oxidation under Sunlight Irradiation. *New Journal of Chemistry*, v., p. 1 - 27, 2015.

KIM, J. S. *et al.* Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 3, n. 1, p. 95 - 101, 2007.

KLASEN, H. Historical review of the use of silver in the treatment of burnis .i. eraly uses. *Burns*, v. 26, p. 117 - 130, 2000.

LAKBITA, O. *et al.* Influence of the crystal structure of Ag₂CO₃ on the photocatalytic activity under visible light of Ag₂CO₃-Palygorskite nanocomposite material. *Applied Surface Science*, v. 464, p. 205 - 211, 2019.

LI , Y.; CHAN, Y. C. Effect of silver (Ag) nanoparticle size on the microstructure and mechanical properties of Sn58Bi-Ag composite solders. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 5, p. 566 - 576, 2015.

LIMA, R. da S. N. *et al.* A. Cashew-tree (*Anacardium occidentale L.*) exudate gum: a novel bioligand tool. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v. 35, n. 1, p. 45, 1 fev. 2002.

LIU, J. *et al.* A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, v. 5, p. 31 - 61, 2015.

LÓPEZ-SERRANO, A. *et al.* Nanoparticles: a global vision. Characterization, separation, and quantification methods. Potential environmental and health impact. *Analytical Methods*, v. 6, n. 1, p. 38, 2014.

LÖVESTAM, G. *et al.* Considerations on a definition of nanomaterial for regulatory purposes. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2010.

LUO, J. *et al.* Size-controlled synthesis of palygorskite/Ag₃PO₄ nanocomposites with enhanced visible-light photocatalytic performance. *Applied Clay Science*, v. 143, p. 273 - 278, 2017.

LUSTOSA, A. K. M. F. *et al.* In Situ Synthesis of Silver Nanoparticles in a Hydrogel of Carboxymethyl Cellulose with Phthalated-Cashew Gum as a Promising Antibacterial and Healing Agent. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, p. 1 - 15, 2017.

LUZ, A. B.; ALMEIDA, S. L. M. *Atapulgita e Sepiolita*. Centro de Tecnologia Mineral-CETEM/MME, Rio de Janeiro, 2005.

LUZ, A. B. *et al.* *Caracterização Mineralógica e Tecnológica de Atapulgitas do Piauí*. Centro de Tecnologia Mineral- CETEM/MME, Rio de Janeiro, 2004.

MA, J. *et al.* Nanocomposite of attapulgite–Ag₃PO₄ for Orange II photodegradation. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 144, p. 36 - 40, 2014.

MAILLARD. J. Y.; HARTEMANN, P. Silver as an antimicrobial: facts and gaps in knowledge. *Critical reviews in microbiology*, v. 39, p. 373 - 383, 2013.

MAISANABA, S. *et al.* Toxicological evaluation of clay minerals and derived nanocomposites: A review. *Environmental Research*, v. 138, p. 233 - 254, 2015.

MANSOURI, S. S.; GHADER, S. Experimental study on effect of different parameters on size and shape of triangular silver nanoparticles prepared by a simple and rapid method in aqueous solution. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 2, p. 47 - 53, 2009.

MARAMBIO-JONES, E. M. V.; HOEK, A. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 12, p. 1531 - 1551, 2010.

MCCLARY, F. A. *et al.* Enhanced localized surface plasmon resonance dependence of silver nanoparticles on the stoichiometric ratio of citrate stabilizers. *Journal of nanoparticle research*, v. 15, p. , 2013.

MELO JR., M. A. *et al.* Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. *Química Nova*, v. 35, p. 1872 - 1878, 2012.

MERGA, G. *et al.* Redox catalysis on “naked” silver nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 111, p. 12220 – 12226, 2007.

MIKKELSEN, S. H. *et al.* Survey on basic knowledge about exposure and potential environmental and health risks for selected nanomaterials. Danish Ministry of the Environment, 2011.

MITTAL, A. K. *et al.* Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, v. 31, p. 346 - 356, 2013.

MORAES, S. B. *et al.* Síntese e caracterização de nanocompósitos de poliestireno/hidroxissal lamelar. *Química Nova*, v. 37, p. 18 - 21, 2014.

MOTSHEKGA S. C. *et al.* Microwave assisted synthesis, characterization and antibacterial activity of Ag/ZnO nanoparticles supported bentonite clay. *Journal of Hazardous Materials*, v. 15, p. 439 - 446, 2013.

MYERS, D. *Surfaces, Interfaces and Colloids*. 2ª edição. John Wiley & Sons: New York, 1999.

NETO, J. P. *et al.* Atapulgita do Piauí para a indústria farmacêutica. Rio de Janeiro, RJ, CETEM/CNPQ, 1993.

NOWACK, B. *et al.* 120 years of nanosilver history: implications for policy makers. *Environmental Science & Technology*, v. 45, p. 1177 - 1183, 2011.

OLIVEIRA, A. M. B. M. *et al.* Brazilian Palygorskite as Adsorbent for Metal Ions from Aqueous Solution - Kinetic and Equilibrium Studies. *Water, Air & Soil Pollution*, v. 224, n. 1687, p. 1 - 13, 2013.

OLIVEIRA, R. N. *Tratamento e caracterização de atapulgita visando seu uso em máscaras faciais e para reforço em compósitos com PVA*. 2010. 115 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

OPAS BRASIL. *OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente*. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5357:oms-publica-lista-de-bacterias-as-para-as-quais-se-necessitam-novos-antibioticos-urgentemente&Itemid=812>. Acesso em: 19 de fev. 2019.

OYA, A. *et al.* An antimicrobial and antifungal agente derived from montmorillonite. *Applied Clay Science*, v. 6, p. 135-142, 1991.

PACIONI, N. L. *et al.* Synthetic routes for the preparation of silver nanoparticles: A Mechanistic Perspective. In: ALARCON, E. I. *et al.* (Ed.), *Silver Nanoparticle Applications, Engineering Materials*. Switzerland: Springer International Publishing, p. 13 - 46, 2015.

PANNEERSELVAM, S.; CHOI, S. Nanoinformatics: Emerging Databases and Available Tools. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 15, p. 7158 - 7182, 2014.

PERALTA-VIDEA, J. R. *et al.* Nanomaterials and the environment: a review for the biennium 2008 - 2010. *Journal of Hazardous Materials*, v. 186, p. 1 - 15, 2011.

PEREIRA NETO, J. *et al.* *Atapulgita do Piauí para a indústria farmacêutica*. Centro de Tecnologia Mineral- CETEM/MME, Rio de Janeiro, 1993.

PERRET, G. *et al.* Nano Systems and Devices for Applications in Biology and Nanotechnology. *Solid-State Electronics*, v. 115, p. 66 - 73, 2016.

PESSANHA, N. F. N. *et al.* Preparation and Characterization of Silver/Organo-clay Nanocomposites. *Chemical and Materials Engineering*, v. 2, p. 173 - 178, 2014.

PITOMBEIRA, N. A. O. *et al.* Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. *Carbohydrate Polymers*, v. 117, p. 610 - 615, 2015.

QUELEMES, P. *et al.* Development and Antibacterial Activity of Cashew Gum-Based Silver Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 14, p. 4969 - 4981, 2013.

RAI, M. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. *Ciência e cultura*, v. 65, p. 44 - 48, 2013.

RAI, M. *et al.* Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*, v. 27, p. 76 - 83, 2009.

RAWAT, R. S. Dense Plasma Focus - From Alternative Fusion Source to Versatile High Energy Density Plasma Source for Plasma Nanotechnology. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 591, p. 1 - 26, 2015.

RIBEIRO *et al.* Gums' based delivery systems: Review on cashew gum and its derivatives. *Carbohydrate Polymers*, v. 147, p. 188 - 200, 2016.

RIVERO, P. J. *et al.* Nanomaterials for functional textiles and fibers. *Nanoscale Research Letters*, v. 10, p. 501- 523, 2015.

ROCHA, T. C. R. *Nanopartículas metálicas anisotrópicas: mecanismo de formação e propriedades ópticas*. 2008. Tese (Doutorado em Física) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.

RODRIGUES, J. F. *et al.* Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma de cajueiro. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.3, n. 1, p. 31 - 36, 1993.

ROH, S. *et al.* Overview of the characteristics of micro-and nano-structured surface plasmon resonance sensors. *Sensors*, v. 11, p. 1565 - 1588, 2011.

ROLIM, W. R. *et al.* Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity. *Applied Surface Science*, v. 463, 1, p. 66 - 74, 2019.

ROY, S.; DAS, T. K. Plant Mediated Green Synthesis of Silver nanoparticles – A Review. *International Journal of Plant Biology Research*, v. 3, p. 1044 - 1056, 2015.

RUIZ-HITZKY, E. *et al.* Fibrous clays based bionanocomposites. *Progress in Polymer Science*, v. 38, p. 1392 - 1414, 2013.

SAJANLAL, P. R. *et al.* Anisotropic nanomaterials: structure, growth, assembly, and functions. *Nano Reviews*, v. 2, p. 1 - 63 , 2011.

SALEH, T. A. Nanomaterials for pharmaceuticals determination. *Bioenergetics*, v. 5, p. 1 - 6, 2016.

SANTANA, A. C. S. G. V. *et al.* Obtaining the palygorskite: chitosan composite for modified release of 5-aminosalicylic acid. *Materials Science and Engineering: C*, v. 73, p. 245 - 251, 2017.

SARKAR, A. *et al.* Synthesis of silver nanoprisms in formamide. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 287, p. 496 - 500, 2005.

SHAO, L. *et al.* Morphology and interaction of nanocomposite foams formed with organo-palygorskite and ethylene-vinyl acetate copolymers. *Polymer Bulletin*, v. 74 p. 413 - 429, 2017.

SHI, L. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 92, p. 37 - 48, 2016.

SILVA, A. R. V.; FERREIRA, H. C. Argilas bentoníticas: conceitos, estruturas, propriedades, usos industriais, reservas, produção e produtores/fornecedores nacionais e internacionais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 3, p. 26 - 35, 2008.

SILVA, L. P. *et al.* Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas. *Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria*, v. 04, p. 967 - 1011, 2017.

SILVA, M. L. G. *Obtenção e caracterização de argila piauiense paligorsquita (atapulgita) organofilizada para uso em formulações cosméticas.* 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, 2011.

SINTUBIN, L. *et al.* Biologically produced nanosilver: Current state and future perspectives. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 109, n. 10, p. 2422 -2436, 2012.

SOHRABNEZHAD, S. H. Green synthesis of Ag nanoparticles in montmorillonite. *Materials Letters*, v. 168, p. 28 - 30, 2016.

TAMBOLI, D. P.; LEE, D. S. Mechanistic antimicrobial approach of extracellularly synthesized silver nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. *Journal Hazard Materials*, v. 260, p. 878 - 884, 2013.

TANG, Q. *et al.* Surface modified palygorskite nanofibers and their applications as reinforcement phase in cis-polybutadiene rubber nanocomposites. *Applied Clay Science*, v. 132, p. 175 - 181, 2016.

TEMPLETON, A. C. *et al.* Monolayer protected cluster molecules. *Accounts of Chemical Research*, v. 33, p. 27-36, 2000.

TIWARI, J. N. *et al.* Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices. *Progress in Materials Science*, v. 57, p. 724 - 803, 2012.

TOMA, H. E. *Nanotecnologia molecular – materiais e dispositivos*. Coleção de Química Conceitual, v. 6, São Paulo: Blucher, 2016.

TOURINHO, P. S. *et al.* Metal-based nanoparticles in soil: fate, behavior, and effects on soil invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 31, p. 1679 - 1692, 2012.

TRAN, T.; NGUYEN, T. Controlled growth of uniform noble metal nanocrystals: Aqueousbased synthesis and some applications in biomedicine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 88, p. 1 - 22, 2011.

TROUPIS, A. *et al.* Synthesis of metal nanoparticles by using polyoxometalates as photocatalysts and stabilizers. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 41, p. 1809 - 1972, 2002.

VAZQUEZ-MUÑOZ, R. *et al.* Toxicity of silver nanoparticles in biological systems: does the complexity of biological systems matter?. *Toxicology Letters*, v. 276, p. 11 - 20, 2017.

WANG, S. *et al.* Electrochemical Surface Plasmon Resonance: Basic Formalism and Experimental Validation. *Analytical Chemistry*, v. 82, p.935 - 941, 2010.

WORK, W. J. *et al.* Definitions of terms related to polymer blends, composites, and multiphase polymeric materials. *Pure and Applied Chemistry*, v. 76, p. 1985 - 2007, 2004.

XAVIER, K. C. M. *et al.* Thermally activated palygorskites as agents to clarify soybean oil. *Applied Clay Science*, v. 119, p. 338 - 347, 2016.

XIONG, Z. *et al.* Composite inks of poly(3,4 ethylenedioxythiophene) /poly(styrenesulfonate)/silver nanoparticles and electric/optical properties of inkjet-printed thin films. *Materials Chemistry and Physics*, v. 141, p. 416 - 422, 2013.

XU, P. *et al.* Facile fabrication of silver nanoparticles deposited cellulose microfibrillar nanocomposites for catalytic application. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 526, p. 194 - 200, 2018.

YIN, Z. *et al.* Monodispersed bimetallic PdAg nanoparticles with twinned structures: Formation and enhancement for the methanol oxidation. *Scientific reports*, v. 4, p. 1 - 9, 2014.

ZENG, H. F. *et al.* Effects of raw and heated palygorskite on rumen fermentation in vitro. *Applied Clay Science*, v. 138, p. 125 - 130, 2017.

ZHANG, J. *et al.* Removal of fluoride ions from aqueous solution using modified attapulgite as adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, v. 165, p. 218 - 222, 2009.

ZHANG, J. Z.; NOGUEZ, C. Plasmonic Optical Properties and Applications of Metal Nanostructures. *Plasmonics*, v. 3, p. 127 - 150, 2008.

ZHAOHUI, L. *et al.* Palygorskite for the uptake and removal of pharmaceuticals for wastewater treatment. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 101, p. 80 - 87, 2016.

ZHENG, Y. *et al.* Cytotoxic, Antitumor and Immunomodulatory Effects of the Water-Soluble Polysaccharides from Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) Seeds. *Molecules*, v. 21, p. 1464 - 1465, 2016.

CAPÍTULO 2

*Mapeamento tecnológico sobre o uso de
nanocompósitos de
Palygorskita/nanopartículas de prata como
agente bactericida em aplicações
biotecnológicas*

Mapeamento tecnológico sobre o uso de nanocompósitos de Palygorskita/nanopartículas de prata como agente bactericida em aplicações biotecnológicas

Cristiany Marinho Araújo^{1,2}, Moisés das Virgens Santana¹, Antonio do Nascimento Cavalcante³ e Carla Eiras¹*

1- Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Novos materiais e Sistemas Sensores – MatSens - Departamento de Engenharia de Materiais – Centro de Tecnologia (CT), *Campus* Ministro Petrônio Portela, Universidade Federal do Piauí - UFPI, Teresina-PI, 64049-550, Brasil.

2- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, Teresina – PI, 64018-900, Brasil.

3- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA, *campus* Presidente Dutra, Maranhão - MA, 65760-000, Brasil.

*crysmarinho@ifpi.edu.br

RESUMO

A procura por novos materiais nanoestruturados que possuam atividade antimicrobiana e que possam surgir como alternativa em aplicações biotecnológicas vem despertando grande interesse pela comunidade científica. O emprego de recursos naturais no desenvolvimento desses materiais torna-se interessante não só pela sua disponibilidade e baixo custo como também por se tratar de materiais, geralmente com baixa ou nenhuma toxicidade e que possuem propriedades de interesse, como é o caso da argila Palygorskita (Pal), também denominada de Atapulgita. Dessa forma, uma nova aplicabilidade é proposta com a utilização desse recurso natural com vistas ao desenvolvimento de produtos biotecnológicos, como a síntese de nanocompósitos constituídos pela incorporação de nanopartículas de prata (AgNPs) na Pal para a sua utilização como agente antibacteriano. O objetivo da pesquisa foi realizar um estudo prospectivo em bases de periódicos da *Scopus*, *Web of Science* e *Scielo*, como também, nos bancos de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), European Patent Office (Espacenet) e United States Patent and Trademark Office (USPTO), no período de 2008 a 02/2019. De acordo com os resultados obtidos, constatou-se um número considerável de artigos e patentes utilizando as palavras chave “Palygorskite” ou “Attapulgite”. Já quando utilizou-se as combinações “Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle AND antimicrobial” e “Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle AND bactericidal” não foi encontrado nenhuma patente com os termos, e apenas 02 artigos científicos até a presente data. Dessa forma, o desenvolvimento de nanocompósitos de Pal/AgNPs/GC para aplicações biotecnológicas pode ser bastante promissor e inovador pelas características apresentadas por ambos os materiais.

Palavras-chave: Nanocompósitos; Palygorskita; Atapulgita; Nanopartículas de prata; Agente bactericida.

ABSTRACT

The search for new nanostructured materials that have an antimicrobial activity and which may arise as an alternative in biotechnological applications has aroused great interest by the scientific community. The use of natural resources in the development of these materials becomes interesting not only because of their availability and low cost, but also because they are materials with low or no toxicity and have properties of interest, such as Palygorskite clay (Pal), also called Attapulгите. Thus, a new applicability is proposed with the use of this natural resource for the development of biotechnological products, such as the synthesis of nanocomposites constituted by the incorporation of silver nanoparticles (AgNPs) in Pal for its use as antibacterial agent. The aim of the research was to carry out a prospective study on the basis of periodicals of *Scopus*, *Web of Science* and *Scielo*, as well as in the patent banks of the *National Institute of Industrial Property (INPI)*, *European Patent Office (Espacenet)* and *United States Patent and Trademark Office (USPTO)*, from 2008 to 02/2019. According to the results obtained, a considerable number of articles and patents were verified using the key words "Palygorskite" or "Attapulгите". However, when the "Palygorskite OR Attapulгите AND silver of nanoparticle AND antimicrobial" and "Palygorskite OR Attapulгите silver of bacterial nanoparticle" combinations were used, no patent was found with the terms, and only 02 scientific articles have been found to date. Thus, the development of Pal/AgNPs/GC nanocomposites for biotechnological applications can be quite promising and innovative due to the characteristics presented by both materials.

Keywords: Nanocomposites; Palygorskite; Attapulгите; Silver of nanoparticles; Bactericidal agent.

1 INTRODUÇÃO

O interesse por novos materiais, principalmente nanoestruturados, que possuam atividade antimicrobiana e que possam ser utilizados na área da biotecnologia, vem ganhando atenção em várias pesquisas atuais. Especialmente, se este novo produto for desenvolvido a partir de um recurso natural.

Nesse contexto, a utilização da argila Palygorskita (Pal), também conhecida como Atapulgita, no desenvolvimento de materiais nanoestruturados, possibilita agregar valor a um produto regional do Piauí, que é largamente disponível e ainda pouco explorado.

A argila atapulgita foi descoberta por Lapparente, em 1935, na região de Atapulgus, no estado da Geórgia (EUA) e em Mormoiron (França), daí o seu nome Atapulgita. Mais tarde, Lapparente utilizando técnicas adequadas tais como, difração de raios-X, microsonda eletrônica e análise termodiferencial, mostrou que essa argila era a mesma Palygorskita descoberta em 1861 nos Montes Urais na União Soviética, por isso, a sua denominação também de Palygorskita (FROST *et al.*, 2001; LUZ; ALMEIDA, 2005).

Assim, a Pal é uma argila de ocorrência natural (WANG *et al.*, 2015) e sua estrutura começou a ser estudada em 1940 por Bradley (BRADLEY, 1940). A Pal trata-se de um silicato de magnésio e alumínio hidratado com estrutura tridimensional, possui morfologia fibrosa com fórmula molecular $\text{Si}_8\text{O}_{20}\text{Mg}_5(\text{Al})(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ com elevada área superficial específica e moderada capacidade de troca catiônica (CHEN; WANG, 2007; CHEN *et al.*, 2007; AL-FUTAISI *et al.*, 2007; LIANG *et al.*, 2011; SHAO *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2017).

A estrutura cristalina dos filossilicatos 2:1, como é o caso da Pal, é constituída por folhas contínuas de tetraedros SiO_2 , ordenados de forma hexagonal, condensados com folhas octaédricas de hidróxidos de metais tri e divalentes (YANG *et al.*, 2016). Sendo assim, a Pal faz parte de um grupo de argilas denominado Palygorskita-sepiolita, sendo considerada como membro principalmente de um grupo de argilas clarificantes conhecidas como “*terra fuller*” (COELHO *et al.*, 2007).

As ocorrências da Pal no Brasil estão localizadas em Santos – SP, Marília – SP, Rubião Júnior – SP e Ponte Alta – MG, porém, sem exploração comercial. No ano de 1982, foram descobertos vários depósitos dessa argila no município de

Guadalupe no Piauí-PI. Estes depósitos estão distribuídos por uma área de aproximadamente 700 km², com comprimento de 500 m e 17 m de espessura e reservas em torno de 20 milhões de toneladas. Além de Guadalupe, no Piauí-PI, outros municípios possuem reservas, porém, em pequenas quantidades, como os municípios de Anísio de Abreu, Fronteiras, Paulistana, São Raimundo Nonato e Simões (OLIVEIRA *et al.*, 2015; XAVIER *et al.*, 2012; XAVIER *et al.*, 2016).

A Pal é utilizada em diferentes setores, como por exemplo, como fluido de perfuração de petróleo; como adsorvente (“*pet litter*”), neste caso, é empregada como areia sanitária para gatos, devido sua capacidade de absorver a urina do animal, formando pequenas placas que são facilmente removidas sem deixar cheiro no ambiente. A Pal ainda é usada em processos de clarificação; descoloramento e filtração de óleos; purificação de águas residuais e industriais; constituinte de sistemas para remoção de metais em água; remoção de corantes e poluentes orgânicos tóxicos; vetorização de drogas; formulação de cosméticos; processos de adsorção em clareamento na indústria têxtil; liberação de fármacos, dentre outras (LUZ; ALMEIDA, 2005; FALAYI; NTULLI, 2015; MU; WANG, 2015; SILVA *et al.*, 2015; MOREIRA *et al.*, 2017; SANTANA *et al.*, 2017).

Durante a última década a utilização de argilas em benefício à saúde humana vem ganhando grande interesse, embora, os efeitos terapêuticos de argilas sejam usados desde tempos pré-históricos (CARRETERO *et al.*, 2006; GOMES; PEREIRA SILVA, 2006). Diversas argilas vêm sendo utilizadas no campo farmacológico e cosmético como, por exemplo, a Palygorskita (CARRETERO; POZO, 2010; SILVA *et al.*, 2013). Esse fato deve-se as suas excelentes propriedades como elevada área específica, capacidade de sorção, propriedades reológicas, inércia química e toxicidade baixa ou nula para pacientes (TANG *et al.*, 2014; CARRETERO *et al.*, 2007; LEFORT *et al.*, 2007; VISERAS *et al.*, 2007). A utilização de argilas pode ser como princípio ativo, adsorventes, excipientes, entrega de drogas e em retardamento de formulações (VISERAS *et al.*, 2007; DAMONTE *et al.*, 2007).

A Pal empregada nessa pesquisa vem sendo usada em diversas aplicações farmacêuticas, principalmente em virtude de sua alta capacidade de adsorção. Essa propriedade pode ser elevada quando a Pal é tratada de forma ácida ou térmica, aumentando de 5 a 8 vezes a adsorção para alcalóides, como a estricnina que é

bastante tóxica, bactérias e toxinas (LUZ; ALMEIDA, 2005). Dessa forma a Pal é utilizada, por exemplo, como protetor gastrointestinal, onde esta é capaz de proteger a mucosa gástrica e intestinal, absorvendo toxinas, bactérias e mesmo vírus. Pode ser empregada em formulações antidiarréicas em virtude de sua alta capacidade de adsorção. Em cosméticos é usada em máscaras faciais em virtude de sua capacidade de absorver substâncias gordurosas, toxinas e outras. Seu uso pode ser em forma de creme, emulsões, pós e antitranspirantes, que dá opacidade à pele, remoção de brilho, além de, cobrir manchas (SILVA, 2012).

Recentemente, várias são as pesquisas que vem utilizando as argilas combinadas com nanopartículas de prata (AgNPs). Nos últimos anos, AgNPs vêm sendo cada vez mais utilizadas em aplicações biomédicas, incluindo o desenvolvimento de materiais com atividades antimicrobianas (PEER *et al.*, 2007; SUN *et al.*, 2008; KO *et al.*, 2007; MOTSHKGA *et al.*, 2013). A atividade antimicrobiana das AgNPs foi potencializada quando esta passou a ser utilizada na escala nanométrica devido ao aumento de sua área superficial (LIMA, 2011).

A combinação de AgNPs e argila pode resultar em um material compósito que venha a atuar como agente bactericida. Na literatura existem poucos trabalhos em que as propriedades de argilas foram associadas às AgNPs para o desenvolvimento de novos materiais, dentro os quais encontram-se estudos com a bentonita e a montmorilonita (COSTA *et al.*, 2011; PESSANHA *et al.*, 2014).

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo realizar uma prospecção tecnológica e científica utilizando as palavras chave “Palygorskita” e “Atapulgita” combinada com AgNPs para aplicações como agente antibacteriano. Foi analisada a evolução do número de artigos científicos publicados nas bases de periódicos *Scopus*, *Web of Science* e *Scielo*, além da, quantidade do número de patentes concedidas e depositadas no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), Escritório Europeu de Patentes (*Espacenet*) e no United States Patent and Trademark Office (USPTO).

2 METODOLOGIA

Para a pesquisa foi realizado um estudo prospectivo tecnológico e científico buscando patentes e artigos científicos utilizando palavras chave e combinações. Para a coleta de dados da quantidade de artigos científicos foram utilizadas as bases de periódicos *Scopus*, *Web of Science* e *Scielo*. Já para a busca do número de patentes depositadas e concedidas utilizou-se as bases de dados do INPI (Instituto Nacional da Propriedade Intelectual), EPO (*European Patent Office*) e USPTO (*United States Patent and Trademark Office*).

Como a argila Palygorskita, também pode ser denominada de Atapulgita, foram realizadas pesquisas utilizando esses dois termos como palavras chave em inglês “*Palygorskite*” OR “*Attapulgite*”, em seguida utilizou-as com diferentes combinações como: “*Palygorskite OR Attapulgite AND metals*”, “*Palygorskite OR Attapulgite AND metallic nanoparticle*”, “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver*”, “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver nanoparticle*”, “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle AND antimicrobial*” e “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle AND bactericidal*”.

Para todas as pesquisas foram delimitadas o aparecimento das palavras chave e suas combinações nos campos de “*título, resumo e palavras chave*”. Para a prospecção científica delimitou-se o número de artigos publicados do ano de 2008 até fevereiro de 2019. Já para a prospecção tecnológica não foi delimitado tempo específico, ou seja, foi realizado o levantamento total do número de patentes depositadas e/ou concedidas.

Na base de periódicos *Scopus* no qual encontrou-se o maior número de publicações com as palavras chave “*Palygorskite*” e “*Attapulgite*”, foram analisados a quantidade de artigos publicados, as áreas que mais publicaram artigos com esses termos e os países com os maiores números de publicações utilizando esse argilomineral, do ano de 2008 até fevereiro de 2019.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise de artigos publicados

Na Tabela 1 estão demonstrados a quantidade de artigos publicados com as palavras chave “*Palygorskite*” e “*Attapulгите*” e suas combinações nas bases científicas *Scopus*, *Web of Science* e *Scielo*. Quando utilizou-se as palavras chaves “*Palygorskite*” ou “*Attapulгите*” encontrou-se um número relativamente grande de artigos publicados em diversas áreas do conhecimento na base de periódicos *Scopus* e *Web of Science*. Já na base de periódicos *Scielo* foram encontrados apenas vinte e quatro artigos.

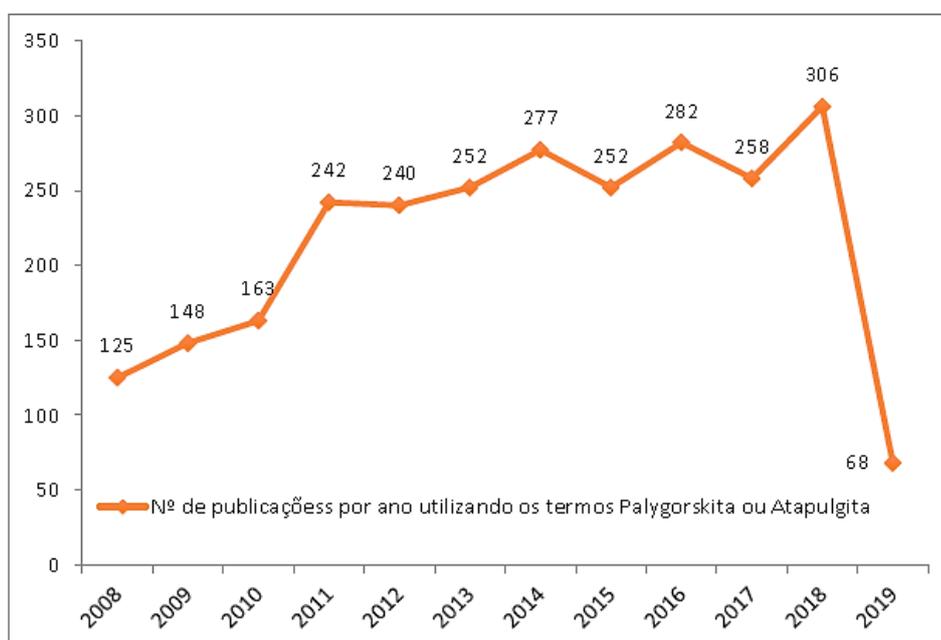
Tabela 1 - Quantidade de artigos encontrados nas bases científicas: *Scopus*, *Web of Science* e *Scielo*, utilizando as Palavras chave “*Palygorskite*” ou “*Attapulгите*” e suas combinações.

COMBINAÇÕES	Scopus	Web of Science	Scielo
<i>Palygorskite OR Attapulгите</i>	2613	1280	24
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND metals</i>	245	6	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND metallic nanoparticle</i>	0	0	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND silver</i>	41	0	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND silver of nanoparticle</i>	9	4	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND silver of nanoparticle AND antimicrobial</i>	0	0	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND silver of nanoparticle AND bactericidal</i>	2	0	0

Fonte: Autoria própria, 2019.

Analisando de forma mais detalhada a quantidade de artigos científicos publicados com as Palavras chaves “*Palygorskite*” ou “*Attapulгите*”, escolheu-se a base científica *Scopus* por apresentar o maior número de publicações (2.613 artigos), conforme Figura 1.

Figura 1 - Quantidade de artigos científicos publicados por ano utilizando os termos “*Palygorskite*” ou “*Attapulгите*” na base de periódicos *Scopus* no período de janeiro/2008 a fevereiro/2019.



Fonte: Autoria própria, 2019.

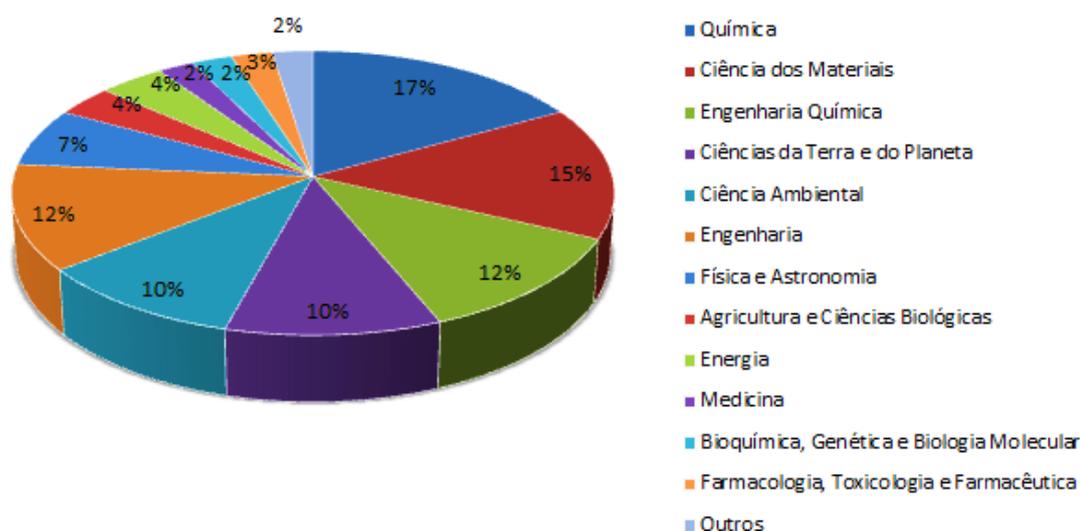
Percebe-se que a quantidade de artigos científicos publicados utilizando os termos “*Palygorskite OR Attapulгите*” é considerável e vem crescendo ao longo dos anos. Porém, nos anos de 2012 (240 artigos publicados), 2015 (252 artigos publicados) e 2017 (258 artigos publicados), houve uma pequena diminuição na quantidade de artigos publicados se comparado com anos anteriores. Sendo, o ano de 2018 o de maior número de publicações com 306 artigos publicados e o ano de 2008 o de menor quantidade de publicações, com apenas 125 artigos publicados.

Já no ano de 2019, utilizando dados dos meses de janeiro e fevereiro já foram publicados 68 artigos científicos. O que demonstra que mesmo oscilando em alguns anos, a quantidade de pesquisas científicas utilizando a argila Palygorskita é crescente.

Nessa mesma base de periódicos (*Scopus*) analisou-se dentre os artigos publicados, quais foram as principais áreas de publicação utilizando as palavras chaves “*Palygorskite*” ou “*Attapulгите*”. A Figura 2 mostra que a área da Química, Ciência dos Materiais, Engenharia, Engenharia Química e Ciências da Terra e do Planeta e Ciência Ambiental aparecem nas seis primeiras posições como as principais áreas de publicação com esses termos.

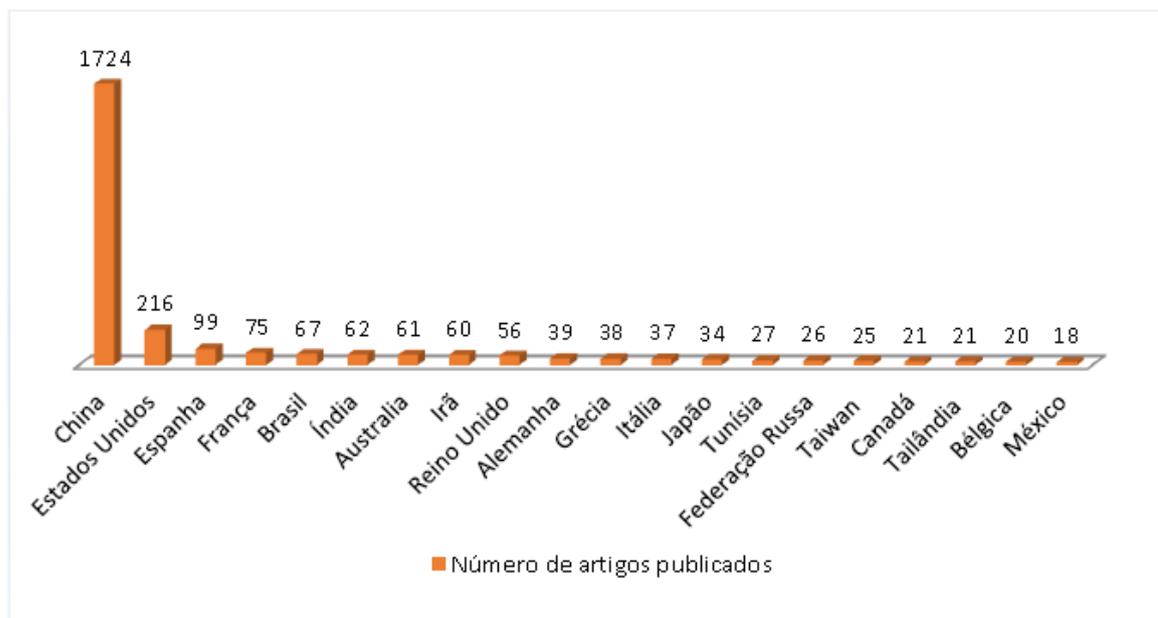
Ainda utilizando os termos “*Palygorskite*” ou “*Attapulгите*”, dentre os artigos publicados na base *Scopus*, a Figura 3 apresenta os 20 países que mais publicaram artigos científicos com estes termos, sendo a China o país com o maior número de publicações com 1.724 artigos científicos publicados, seguido dos Estados Unidos com 216 publicações. O Brasil ocupa a 5ª posição com 67 artigos publicados. De forma geral, o Brasil ainda possui poucas pesquisas utilizando essa argila, mesmo possuindo grandes depósitos de Palygorskita.

Figura 2 - Áreas que mais publicaram artigos com os termos “*Palygorskite*” ou “*Attapulгите*” na base de periódicos *Scopus* no período de janeiro/2008 a fevereiro/2019.



Fonte: Autoria própria, 2019.

Figura 3 - Os 20 países que mais publicaram artigos científicos com os termos “*Palygorskite*” ou “*Attapulгите*” de Janeiro/2008 a Fevereiro/2019 utilizando dados fornecidos pela base de periódicos *Scopus*.



Fonte: Autoria própria, 2019.

Ainda de acordo com a Tabela 1 quando restringiu-se os dados da pesquisa, ao combinar as palavras chave (*Palygorskite OR Attapulгите*) com outros termos, houve uma diminuição considerável do número de artigos publicados. Com os termos “*Palygorskite OR Attapulгите AND metals*” foram encontrados 245 artigos científicos na base de periódicos *Scopus*, 06 artigos na *Web of Science* e na base de periódicos *Scielo* não foi encontrado nenhum artigo com essas combinações.

Já utilizando a combinação “*Palygorskite OR Attapulгите AND metallic nanoparticle*” (Tabela 1) não foram encontrados nenhum artigo publicado na base de periódicos *Scopus*, *Web of Science* e *Scielo*. Já utilizando os termos “*Palygorskite OUR Attapulгите AND silver*” foram localizados 41 artigos na base de periódicos *Scopus* e nenhum artigo nas bases da *Web of Science* e *Scielo*.

Com a combinação dos termos “*Palygorskite OR Attapulгите AND silver of nanoparticle*” foram localizados 09 artigos na base de periódicos *Scopus* e 04 artigos na base de periódicos da *Web of Science*. Tais artigos reportam: O desenvolvimento de um sensor de peróxido de hidrogênio utilizando nanopartículas de Ag

eletrodepositadas em nanoestrutura natural de atapulgita modificada com eletrodo de carbono vítreo (CHEN *et al.*, 2011); Preparação de um compósito magnético de atapulgita revestido com polieletrólito para adsorção de metais preciosos (MU *et al.*, 2013); Preparação de atapulgita magnética para remoção de Ag⁺ e redução catalítica do 4-nitrofenol (MU *et al.*, 2013); Estrutura, morfologia e propriedades catalíticas do nanocompósito (AT/Ag₃PO₄) (GU *et al.*, 2015); Síntese de um nanocompósito multifuncional Palygorskita/polianilina/nanopartículas de Ag (Pal/Pani/AgNPs) (TIAN *et al.*, 2016); Resíduos de Pal carregados com corante utilizados em nanocompósitos Pal/C/AgNPs para uso em adsorção e atividade catalítica (TIAN *et al.*, 2016). Material compósito à base de polipirrol, prata e atapulgita utilizando uma matriz de reforço de PBS (Butileno succinato) com propriedades biodegradáveis (ZANG *et al.*, 2016); Síntese de nanocompósito de Pal/AgNO₃ com atividade catalítica para uso na degradação de corantes (LUO *et al.*, 2017); Embalagem a base de polietileno, atapulgita, nano de Ag e SiO₂ (SHI *et al.*, 2018); Efeito de embalagens contendo nanocompósito a base de TiO₂, SiO₂, Ag e atapulgita na microestrutura e metabolismo energético de *Agarius bisporus* (WU *et al.*, 2019).

Quando restringiu-se ainda mais os termos da pesquisa utilizando as combinações “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle AND antimicrobial*” não foram localizados nenhum artigo científico nos bancos de periódicos pesquisados. Já utilizando os termos “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle AND bactericidal*” foram encontrados apenas 02 artigos na base de periódicos *Scopus*, onde o primeiro reporta o desenvolvimento de um compósito à base de polipirrol, prata e atapulgita, com uma matriz de reforço a base de PBS (Butileno succinato) com propriedades biodegradáveis e antibacterianas (ZANG *et al.*, 2016). E o segundo artigo apresenta a síntese de nanocompósitos onde a palygorskita foi submetida a uma reação de troca iônica com íons de prata, utilização a técnica de irradiação ultravioleta usando pontos de carbono (CDs) como agente redutor (HAN *et al.*, 2016).

Tal fato evidencia que pesquisas utilizando a argila palygorskita (atapulgita) com nanopartículas de prata com potencial antibacteriano ainda são recentes e escassas. Ou seja, pesquisas que reportem processos de síntese, caracterização e aplicação de nanocompósitos de palygorskita (atapulgita)/AgNPs com potencial bactericida para fins biotecnológicos são bastante promissoras e inovadoras.

3.2 Análise do número de patentes encontradas nos bancos de dados INPI, ESPACENET e USPTO

Para a análise do número de patentes foram empregadas as mesmas palavras chave e combinações utilizadas na prospecção científica. Quando utilizou-se as palavras chave da pesquisa, “*Palygorskite*” e “*Atapulgitte*”, foram encontradas um número considerável de patentes na base europeia (Espacenet), conforme ilustrado na Tabela 2.

Na base de dados do INPI foram encontradas 10 patentes com as palavras chave “*Palygorskite OR Attapulgitte*”, sendo que estas patentes referem-se à: Um aditivo de argila organofílica para fluidos de perfuração (PI 0706391-1 A2); Composição fluorescente e fosforescente para tingir tintas em geral (PI 0700377-3 A2); Composição de gasolina utilizando argila e operação de um motor de combustão interna de ignição por centelha (PI 0405407-5 A2); Composição de concentrados para reticulação de polímeros de polissacarídeo hidratados em um líquido aquoso e fluidos de manutenção de poços (PI 0300127-0 B1); Processo para a produção de um produto adsorvente de peneira molecular utilizando atapulgita (PI 0307063-8 B1); São descritas formulações sólidas de fluridona que incluem a argila atapulgita e/ou bentonita (PI 0212114-0 A2); Produção de um material adsorvente para purificação de óleos e remoção de compostos de fósforo e outros contaminantes de óleo (PI 9205682-2 A2); Processo para clarificação de óleos usando Paligorsquita ativada termicamente (BR 013761-8 A2); Utilização da Paligorsquita natural e Paligorsquita funcionalizada com amina secundária como materiais adsorventes para a adsorção de H₂S do gás natural (PI 0901182-0 A2); Composição química de argilas usadas na clarificação de óleos vegetais e gorduras animais sem acréscimo de ácidos em suas composições (BR 003240-0 A2).

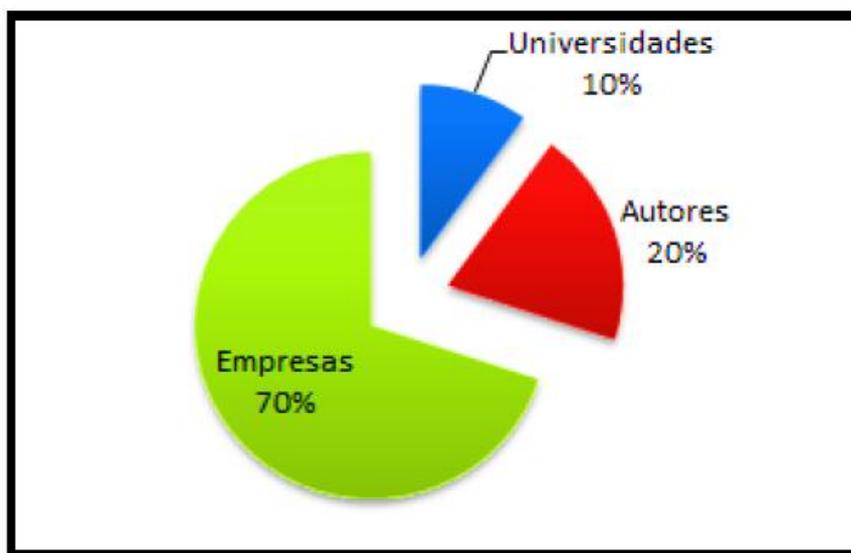
Tabela 2 - Número de Patentes encontradas nas buscas realizadas nos bancos de dados: Espacenet, USPTO e INPI, utilizando as palavras chave “Palygorskite” OR “Attapulгите”.

COMBINAÇÕES	Espacenet	USPTO	INPI
<i>Palygorskite OR Attapulгите</i>	>10.000	157	10
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND metals</i>	165	27	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND metallic nanoparticle</i>	0	0	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND silver</i>	296	27	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND silver of nanoparticle</i>	0	0	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND silver of nanoparticle AND antimicrobial</i>	0	0	0
<i>Palygorskite OR Attapulгите AND silver of nanoparticle AND bactericidal</i>	0	0	0

Fonte: Autoria própria, 2019.

A Figura 4 demonstra a porcentagem de depositantes das patentes encontradas no banco de dados do INPI utilizando as palavras chave da pesquisa “Palygorskita” e “Atapulгita”. Sendo que, 70% das patentes localizadas foram depositadas por empresas, 10% por universidades e 20% por autores independentes.

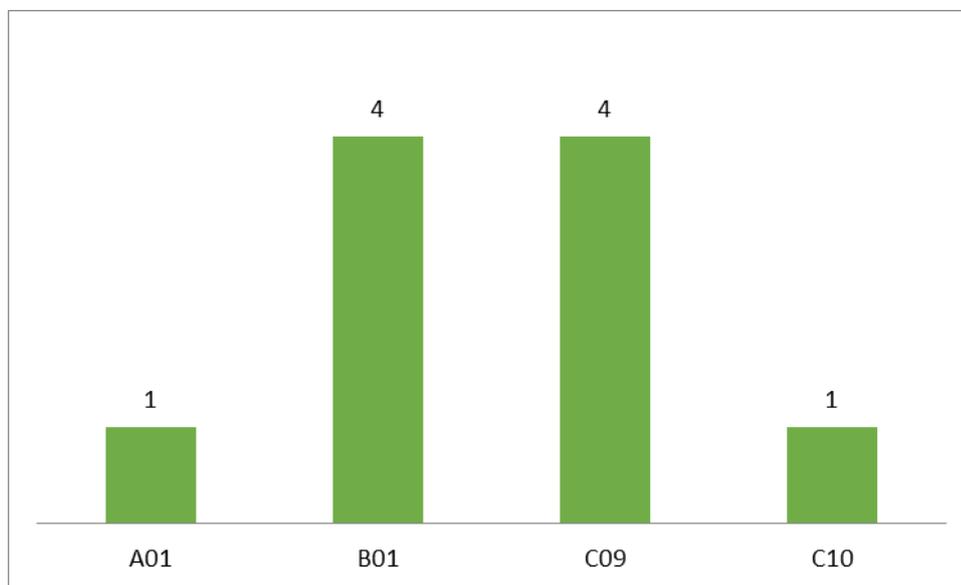
Figura 4 - Porcentagem de depositantes no banco de patentes do INPI utilizando as palavras chave “Palygorskite OR Attapulgite”.



Fonte: Autoria própria, 2019.

Na Figura 5, quando analisou-se os dados das patentes depositadas na base do INPI ainda utilizando as palavras chave da pesquisa “Palygorskita” e “Atapulgita” de acordo com a Classificação Internacional de Patentes (CIP), os pedidos de depósitos foram incluídos nas categorias: A01, B01, C09 e C10, sendo estas relativas respectivamente, à agricultura, silvicultura, pecuária, caça, captura em armadilhas e pesca; processos ou aparelhos físicos ou químicos em geral; corantes, tintas, polidores, resinas naturais, adesivos, composições não abrangidos em outros locais, aplicações de materiais não abrangidos em outros locais; indústrias do petróleo, do gás ou do coque, gases técnicos contendo monóxido de carbono, combustíveis, lubrificantes e turfa.

Figura 5 - Quantidade de patentes na base do INPI, utilizando as Palavras “Palygorskita” ou “Atapulgita” de acordo com os códigos da Classificação Internacional de Patentes (CIP).



Fonte: Autoria própria, 2019.

Das patentes localizadas utilizando a palavra Palygorskita (atapulgita) no INPI, 07 (sete) delas foram depositadas no Piauí-PI, onde existem grandes reservas dessa argila. Porém, ainda há poucas pesquisas no Brasil utilizando a argila Palygorskita, tendo em vista que, o Brasil possui grandes depósitos dessa argila (LUZ *et al.*, 2004).

Essa pequena quantidade de patentes encontradas, reflete também na posição que o Brasil ocupa de acordo com dados do relatório anual da Organização Mundial de Propriedade Intelectual (WIPO) que está vinculado à Organização das Nações Unidas (ONU) do ano de 2012. Em que, o Brasil ocupa apenas a 19ª posição com 41.453 patentes válidas, sendo este levantamento feito com os 20 maiores escritórios de concessão de patentes no mundo. Os Estados Unidos ocupa o primeiro lugar com 2,2 milhões de patentes e o segundo lugar pelo Japão com 1,6 milhão (MONACO, 2014).

Ainda de acordo com a Tabela 2 ao combinar os termos *Palygorskite OR Attapulgite AND metals* foram localizadas 165 patentes no banco de dados da Espacenet, 27 patentes no USPTO e nenhuma patente no INPI. Já, ao utilizar a

combinação “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver*” foram encontradas 296 patentes no banco de dados da Espacenet, 27 patentes no USPTO e nenhuma patente no INPI.

Ao refinar a pesquisa utilizando as palavras chaves com as seguintes combinações “*Palygorskite OR Attapulgite AND metallic nanoparticle*”, “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle*”, “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle AND antimicrobial*” e “*Palygorskite OR Attapulgite AND silver of nanoparticle AND bactericidal*” não foram localizadas nenhuma patente no banco de dados da Espacenet, USPTO e INPI.

A busca por novos materiais com aplicações biotecnológicas vem despertando o interesse da comunidade científica, pois, a utilização de recursos naturais no desenvolvimento desses materiais torna-se interessante não só pela sua disponibilidade, como também, por não apresentar toxicidade e possuir excelentes propriedades. Além de, ser uma oportunidade de agregar valor a um produto regional. Onde o Estado do Piauí possui grandes reservas, sendo assim, amplamente disponível, porém, pouco explorado comercialmente no caso da argila Palygorskita. O que demonstra que pesquisas utilizando a argila Palygorskita ainda são em números reduzidos, principalmente no Brasil. E que estudos envolvendo Palygorskita e nanopartículas de prata são promissores e inovadores.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos com o mapeamento tecnológico e científico mostraram que a utilização de nanocompósitos de Palygorskita (atapulgita) e nanopartículas de prata como agente antibacteriano para aplicações em biotecnologia é bastante promissora e inovadora. O que foi evidenciado por resultados preliminares obtidos pelo grupo de pesquisa dos autores. Este estudo de prospecção demonstra que ainda há espaço para novas descobertas, principalmente para pesquisadores do Brasil, vista que, existem grandes depósitos dessa argila no país, sendo este recurso natural amplamente disponível e ainda pouco pesquisado.

REFERÊNCIAS

AGUZZI, C. *et al.* Use of clays as drug delivery systems: possibilities and limitations. *Applied Clay Science*, v. 36, p. 22-36, 2007.

AL-FUTAISI, A. *et al.* Adsorption capacity and mineralogical and physico-chemical characteristics of Shuwaymiyah Palygorskite (Oman). *Environmental Geology*, v. 5, n. 8, p. 1317-1327, 2007.

ARARUNA, F. B. *et al.* Antibacterial application of natural and carboxymethylated cashew gum-based silver nanoparticles produced by microwave-assisted synthesis. *Carbohydrate Polymers*, p. 1 - 31, 2019.

BRADLEY, W. F. The structural scheme of attapulgite. *American Mineralogis*, v. 25, p. 405-410, 1940.

CARRETERO, M. I. *et al.* Clays and human health. In: Bergaya, F., Theng, B.K.G., Lagaly, G. (Eds.), *Handbook of Clay Science, Developments in Clay Science*, v. 1, Elsevier, Amsterdam, p. 717-741, 2006.

CARRETERO, M. I. *et al.* Comparison of saponite and montmorillonite behavior during static and stirring maturation with sea water for pelotherapy. *Applied Clay Science*, v. 36, p. 161-173, 2007.

CARRETERO, M. I.; POZO, M. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical and cosmetic industries Part II. Active ingredients. *Applied Clay Science*, v. 47, n. 3, p. 171-181, 2010.

CHEN, H.; WANG, A. Q. Kinetic and isothermal studies of lead ion adsorption onto Palygorskite clay. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 307, p. 309 - 316, 2007.

Capítulo 2

CHEN, H. *et al.* A hydrogen peroxide sensor based on Ag nanoparticles electrodeposited on natural nano-structure attapulgite modified glassy carbon electrode. *Talanta*, n. 86, v. 1, p. 266-270, 2011.

CHEN, H. *et al.* Removal of Cu(II) from aqueous solution by adsorption onto acid-activated Palygorskite. *Journal Hazardous Materials*, v. 149, p. 346-354, 2007.

COELHO, A. C. V. *et al.* Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas – uma revisão. *Quimica Nova*, v. 30, n. 5, p. 1282-1294, 2007.

COSTA, C. *et al.* Antimicrobial silver montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf life of fresh fruit salad. *International Journal of Food Microbiology*, v. 148, p. 164-167, 2011.

DAMONTE, M. *et al.* Some aspects of glyphosate adsorption on montmorillonite and its calcined form. *Applied Clay Science*, v. 36, p. 86-94, 2007.

FALAYI, T.; NTULI, F. Effect of attapulgite calcination on heavy metal adsorption from acid mine drainage. *Korean Journal of Chemical Engineering*, v. 32, n. 4, p. 707-716, 2015.

GOMES, C. S. F.; PEREIRA SILVA, J. B. *Minerals and Human Health. Benefits and Risks.* (Os Minerais e a Saúde Humana. Benefícios e Riscos) (in English and Portuguese). Centro de Investigação “Minerais Industriais e Argilas”, Departamento de Geociências da Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago, Portugal, 142 p., 2006.

GU, Y. *et al.* Structure, morphology and photocatalytic activity of attapulgite/Ag₃PO₄ hybrids synthesized by a facile chemical precipitation route. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, n. 26, v. 7, p. 5237-5242, 2015.

HAN, S. *et al.* A convenient ultraviolet irradiation technique for synthesis of antibacterial Ag-Pal nanocomposite. *Nanoescale Research Letters*, v. 11, p. 1 – 7, 2016.

KO, S. H. *et al.* Direct Nanoimprinting of Metal Nanoparticles for Nanoscale Electronics Fabrication. *Nano Letters*, v. 7, p. 1869-1877, 2007.

KUMAR, A. *et al.* Cashew gum a versatile hydrophylic polymer: a review. *Current Drug Therapy*, v. 7, n. 1, p. 2 - 12, 2012.

LEFORT, D. *et al.* Les minéraux en pharmacie. *Géosciences*, v. 5, p. 6-19, 2007.

LIANG, F. *et al.* Preparation and characterization of attapulgite-silver nanocomposites, and their application to the electrochemical determination of nitrobenzene. *Microchimica Acta*, n. 174, v. 3, p. 407-412, 2011.

LIMA, T. H. D. *Modificação do cimento ortopédico com nanopartículas de prata*. Universidade Federal de Minas Gerais, Dissertação de Mestrado, 2011.

LUO, J. *et al.* Size- controlled synthesis of palygorskite/Ag₃PO₄ nanocomposites with enhanced visible-light photocatalytic performance. *Applied Clay Science*, v. 143, p. 273-278, 2017.

LUZ, A. B.; ALMEIDA, S. L. M. *Atapulgita e Sepiolita*. Centro de Tecnologia Mineral-CETEM/MME, Rio de Janeiro, 2005.

MONACO, R. *Brasil ocupa penúltima posição em ranking de patentes válidas*. Disponível em: <<http://www.portaldaindustria.com.br/agenciacni/noticias/2014/04/brasil-ocupa-penultima-posicao-em-ranking-de-patentes-validas/>> Acesso em: 18 de março de 2017.

MOREIRA, M. A. *et al.* Adsorption of phosphate by acidmodified fly ash and Palygorskite in aqueous solution: Experimental and modeling. *Applied Clay Science*, v. 135, p. 394-404, 2017.

MOTSHEKGA, S. C. *et al.* Microwave-assisted synthesis, characterization and antibacterial activity of Ag/ZnO nanoparticles supported bentonite clay. *Journal of Hazardous Materials*, v. 15, p. 439-446, 2013.

MU, B. *et al.* Preparation of a polyelectrolyte-coated magnetic attapulgite composite for the adsorption of precious metals. *Journal of Materials Chemistry A*, v. 1, n. 15, p. 4804-4811, 2013.

MU, B.; WANG, A. One-pot fabrication of multifunctional superparamagnetic attapulgite/Fe₃O₄/polyaniline nanocomposites served as an adsorbent and catalyst support. *Journal Materials Chemistry A*, v. 3, p. 281-289, 2015.

OLIVEIRA, A. C. J. *et al.* Solvent-free production of phthalated cashew gum for green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, v. 213, p. 176 - 183, 2019.

OLIVEIRA, M. E. R. *et al.* Preparation and characterization of composite polyaniline/poly(vinyl alcohol)/Palygorskite. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 119, p. 37-46, 2015.

PEER, D. *et al.* Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nature Nanotechnology*, n. 2, v. 12, p. 751-760, 2007.

PESSANHA, N. F. N. *et al.* Preparation and Characterization of Silver/Organo-clay Nanocomposites. *Chemical and Materials Engineering*, v. 2, n. 8, p.173-178, 2014.

SANTANA, A. C. S. G. V. *et al.* Obtaining the Palygorskite:chitosan composite for modified release of 5-aminosalicylic acid. *Materials Science and Engineering: C*, v. 73, n.1, p. 245-251, 2017.

SHAO, L. *et al.* Morphology and interaction of nanocomposite foams formed with organoPalygorskite and ethylene-vinyl acetate copolymers. *Polymer Bulletin*, v. 74, n. 2, p. 413-429, 2017.

SHI, C. *et al.* Effect of nanocomposite packaging on postharvest senescence of *Flammulina velutipes*. *Food Chemistry*, v. 246, p. 414-421, 2018.

SILVA, R. A. O. *et al.* Argilas na cosmetologia: prospecção tecnológica baseada em patentes e artigos. *Revista Geintec*, v. 2, n. 2, p. 174-186, 2012.

SILVA, M. L. G. *et al.* The effect of natural and organophilic Palygorskite on skin wound healing in rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, n. 4, p. 729-736, 2013.

SILVA, J. C. *et al.* Anti-inflammatory, anti-bacterial, and cytotoxic activity of fibrous clays. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 129, p. 1-6, 2015.

SUN, C. *et al.* Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, n. 60, v. 11 p. 1252-1265, 2008.

TANG, Q. *et al.* Effect of acid on surface properties of modified attapulgite and performance of styrene butadiene rubber filled by modified attapulgite. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, v.6, n. 3, p. 231-237, 2014.

TIAN, G. *et al.* From spent dye-loaded palygorskite to a multifunctional palygorskite/carbon/Ag nanocomposite. *Rsc Advances*, v. 6, p. 41696-41706, 2016.

TIAN, G. *et al.* Ag(I)-triggered one-pot synthesis of Ag nanoparticles onto natural nanorods as a multifunctional nanocomposite for efficient catalysis and adsorption. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 473, p. 84-92, 2016.

VISERAS, C. *et al.* Uses of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products. *Applied Clay Science*, v. 36, p. 37-50, 2007.

WU, Y. *et al.* Effect of nanocomposite-based packaging on microstructure and energy metabolism of *Agaricus bisporus*. *Food Chemistry*, v. 276, p. 790-796, 2019.

XAVIER, K. C. M. *et al.* Caracterização mineralógica, morfológica e de superfície da atapulgita de Guadalupe-PI. *Holos*, v. 5, p. 60-70, 2012.

XAVIER, K. C. M. *et al.* Thermally activated Palygorskites as agents to clarify soybean oil. *Applied Clay Science*, v. 119, p. 338-347, 2016.

YANG, Y. *et al.* Preparation and photocatalytic properties of visible light driven Ag-AgCl-TiO₂/Palygorskite composite. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 557, p. 801-808, 2016.

ZANG, L. *et al.* Preparation and application of conducting polymer/Ag/clay composite nanoparticles formed by in situ UV-induced dispersion polymerization. *Scientific Reports*, v. 6, p.1 -12, 2016.

ZHANG, Y. *et al.* Mechanical and thermal properties of Palygorskite poly(butylene succinate) nanocomposite. *Applied Clay Science*, v. 119, p. 96-102, 2016.

ZHANG, Z. *et al.* Nanohybrid sensor based on carboxyl functionalized graphene dispersed Palygorskite for voltammetric determination of niclosamide. *Applied Clay Science*, v. 143, p. 57-66, 2017.

CAPÍTULO 3

*Nanocompósitos de
Palygorskita/Nanopartículas de Prata
(Pal/AgNPs/GC) via síntese verde para
aplicações como agente bacteriano*

Nanocompósitos de Palygorskita/Nanopartículas de Prata/Goma de Cajueiro (Pal/AgNPs/GC) via síntese verde para aplicações como agente bacteriano

Cristiany Marinho Araújo^{1,2}, Moisés das Virgens Santana¹, Antonio do Nascimento Cavalcante³, Lívio César Cunha Nunes⁴, Luiz Carlos Bertolino⁵, Carla Adriana Rodrigues de Sousa Brito⁶, Humberto Medeiros Barreto⁶ e Carla Eiras^{1}.*

1- Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Novos materiais e Sistemas Sensores – MatSens - Departamento de Engenharia de Materiais – Centro de Tecnologia (CT), *Campus* Ministro Petrônio Portela, Universidade Federal do Piauí - UFPI, Teresina-PI, 64049-550, Brasil.

2- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI, Teresina – PI, 64018-900, Brasil.

3- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA, *campus* Presidente Dutra, Maranhão - MA, 65760-000, Brasil.

4- Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina - PI, 64049-550, Brasil.

5- Centro de Tecnologia Mineral - CETEM. Cidade Universitária, Ilha do Fundão - 21941-908, Rio de Janeiro – RJ, Brasil.

6- Departamento de Parasitologia e Microbiologia, Universidade Federal do Piauí – *Campus* Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina - PI, Brasil.

*carla.eiras.ufpi@gmail.com

RESUMO

Nessa pesquisa, foi realizada a síntese, caracterização e testes antibacterianos e toxicidade de nanocompósitos de palygorskita/nanopartículas de prata/Goma de cajueiro (Pal/AgNPs/GC). Os nanocompósitos de (Pal/AgNPs/GC) foram obtidos a partir de síntese verde utilizando polissacarídeos exsudados da árvore do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) como agente redutor e/ou estabilizante associado a argila natural palygorskita (Pal). A argila palygorskita passou por tratamentos físicos e químicos para remoção de impurezas e matéria orgânica. As nanopartículas de prata foram caracterizadas por Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-vis), Tamanho hidrodinâmico médio, Potencial Zeta e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) confirmando a formação das nanoestruturas. O espectro de absorção UV-vis apresentou uma banda de ressonância plasmônica de superfície (SPR- *Surface Plasmons Resonance*) com absorção máxima em torno de 409 nm característica da formação de AgNPs com formato esférico. Pelos resultados obtidos pela técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz, o tamanho hidrodinâmico médio das AgNPs foi aproximadamente 3,8 nm \pm 0,95 (99,1%), o Índice de Polidispersão (PDI) de 0,3 e potencial zeta em torno de - 33 mV (\pm 3,72 em pH=6,7), confirmando a obtenção das nanopartículas a partir da síntese verde utilizando com a goma de cajueiro (GC). As imagens TEM das AgNPs comprovaram a formação das nanopartículas em formato esférico. A Pal e o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram caracterizados por Difração de Raios X (DRX), Área Superficial Específica (S_{BET}), Análises Térmicas, Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). Tais técnica comprovaram a redução de impurezas na palygorskita, como também a formação do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC. Por fim, a atividade antibacteriana das amostras de Pal, AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram analisadas pelo método de contato direto contra cepas de bactérias do tipo *Staphylococcus aureus* (Gram-positivas) e *Escherichia coli* (Gram-negativas). Tais resultados mostraram que o nanocompósito obtido apresentou os maiores efeitos de inibição tanto para as bactérias de *S. aureus* (85,3% \pm 1,62), quanto para as bactérias de *E. coli* (70,2% \pm 1,34). Assim, o efeito inibitório do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foi mais eficaz do que os efeitos apresentados pela Pal e pelas AgNPs individualmente. Além de que, o nanocompósito não apresentou toxicidade frente à *Artemia salina*. Em virtude da propriedade antibacteriana apresentada, os nanocompósitos de Pal/AgNPs/GC foram considerados materiais promissores com potencial para aplicações como agente antibacteriano.

Palavras chaves: Síntese verde, nanocompósitos, palygorskita, nanopartículas de prata, agente antibacteriano.

ABSTRACT

In this research, the synthesis, characterization and antibacterial tests of palygorskite nanocomposites/silver nanoparticles (Pal/AgNPs/GC) were performed. The nanocomposites of (Pal/AgNPs/GC) were obtained from green synthesis using polysaccharides exuded from the cashew tree (*Anacardium occidentale L.*) as reducing agent and / or stabilizer associated with palygorskite (Pal) natural clay. The palygorskite clay underwent physical and chemical treatments to remove impurities and organic matter. The silver nanoparticles were characterized by Spectroscopy in the Ultraviolet-Visible Region (UV-vis), Medium Hydrodynamic Size, Zeta Potential and Electron Transmission Electron Microscopy (TEM) confirming the formation of nanostructures. The UV-vis absorption spectrum showed a Surface Plasmons Resonance (SPR) band with maximum absorption around 409 nm characteristic of spherical-shaped AgNPs formation. The average hydrodynamic size of the AgNPs was approximately $3.8 \text{ nm} \pm 0.95$ (99.1%), the Polydispersion Index (PDI) of 0.3 and potential zeta around the results obtained by the Dynamic Light Scattering technique. of - 33 mV (± 3.72 at pH = 6,7), confirming the obtaining of nanoparticles from the green synthesis using cashew gum (CG). TEM images of AgNPs confirmed the formation of spherical nanoparticles. Pal and the nanocomposite of Pal/AgNPs/GC were characterized by X ray diffraction (XRD), Specific Surface Area (S_{BET}), Thermal Analysis, Fourier Transform Infrared Absorption Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM), Dispersive Energy Spectroscopy) and Transmission Electron Microscopy (TEM). These techniques have demonstrated the reduction of impurities in palygorskite, as well as the formation of the Pal/AgNPs/GC nanocomposite. Finally, the antibacterial activity of the Pal, AgNPs and Pal/AgNPs/GC nanocomposite samples were analyzed by the direct contact method against strains of *Staphylococcus aureus* (Gram-positive) and *Escherichia coli* (Gram-negative) bacteria. These results showed that the nanocomposite obtained showed the greatest inhibition effects for both *S. aureus* bacteria ($85.3\% \pm 1.62$) and *E. coli* bacteria ($70.2\% \pm 1.34$). Thus, the inhibitory effect of the Pal/AgNPs/GC nanocomposite was more effective than the effects presented by Pal and AgNPs individually. In addition, the nanocomposite showed no toxicity to *Artemia salina*. Due to the antibacterial property presented, the nanocomposites of Pal/AgNPs/GC were considered promising materials with potential for applications as antibacterial agent.

Keywords: Green synthesis, nanocomposites, palygorskite, silver nanoparticles, antibacterial agent.

1 INTRODUÇÃO

Os nanomaterias vêm atraindo a atenção de inúmeros grupos de pesquisa ao redor do mundo em virtude do impacto que estes podem proporcionar na qualidade de vida, bem como, a possibilidade de serem aplicados nas mais diversas áreas da ciência e da tecnologia (PERRET *et al.*, 2016; BAVASSO *et al.*, 2016). A busca pela utilização de materiais nanométricos ocorre em virtude da potencialização de suas propriedades físicas e químicas como consequência da nanoescala quando comparadas com mesmas propriedades em tamanhos massivos (EDELSTEIN *et al.*, 1996).

Assim, a descoberta de novas propriedades ou novas aplicações de um material já existente, possibilita que este, seja considerado um novo material. E as novas propriedades óticas, elétricas, magnéticas, de transporte, catalíticas, dentre outras, estejam diretamente relacionadas ao tamanho de suas partículas (ZARBIN, 2007).

Dentre os vários tipos de nanomaterias, as nanopartículas metálicas têm se destacado, principalmente em relação as suas propriedades óticas e eletrônicas as quais estão diretamente relacionadas ao efeito quântico proporcionado por seu tamanho, podendo assim, serem aplicadas nas áreas de óptica, eletrônica, catálise, medicina, dentre outras (BINDHU; UMADEVI, 2015). As nanopartículas metálicas incluem os pontos quânticos, nanopartículas de ouro, nanopartículas de prata e os óxidos nanometálicos (como por exemplo, dióxido de titânio, óxido de zinco e óxido de ferro) (TOURINHO *et al.*, 2012).

A utilização das nanopartículas (NPs) metálicas como agentes antimicrobianos se deve por estas apresentarem boa estabilidade e segurança melhoradas em comparação a agentes orgânicos. Outro fato, é que o uso de materiais nanoestruturados é considerado mais eficaz em virtude da alta relação entre área/superfície/volume proporcionando contato desejável com a célula bacteriana (GUGGENBICHLER *et al.*, 1999; DASTJERDI; MONTAZER, 2010; PESSANHA *et al.*, 2014). As nanopartículas de prata, ouro e cobre vem sendo cada vez mais utilizadas na medicina, odontologia, farmácia e biologia (PESSANHA *et al.*, 2014). Pelo fato, de crescentes preocupações em relação a infecções bacterianas, em virtude do aumento de bactérias cada vez mais resistentes a antibióticos

Capítulo 3

clássicos (SHARMA *et al.*, 2006; SOHRABNEZHAD, 2016; KAUR *et al.*, 2018). Assim, surge a necessidade de se buscar novos agentes antibacterianos para o controle de infecções.

As nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido descritas na literatura como agente antimicrobiano eficaz desde a antiguidade, mesmo em pequenas quantidades, devido as suas excelentes atividades antimicrobianas e antibacterianas (AHAMED *et al.*, 2010). O interesse em pesquisas com o uso da prata como agente antimicrobiano ocorre em virtude desta apresentar o maior grau de toxicidade para mais de 650 tipos de microrganismos patogênicos, seguido por Hg > Cu > Cd > Cr > Pb > Co > Au > Zn > Fe > Mn > Mo > Sn, porém, esta apresenta baixa toxicidade em relação a células animais. Quando utilizada na forma coloidal, ou seja, em tamanho nanométrico (tamanho variando entre 10^{-9} m e 10^{-6} m), a atividade antimicrobiana da prata é potencializada, em virtude do aumento do número de partículas por unidade de área (GOLUBOVICH; RABOTNOVA, 1974; GUGGENBICHLER *et al.*, 1999).

As AgNPs são empregadas em diversas áreas, como em processos de purificação de água, catálise, nanoeletrônica, embalagem para alimentos, aplicações biomédicas, biossensores, cosméticos, suplementos médicos como curativos e catéteres, próteses ósseas e outras (WIJNHOFEN *et al.*, 2009; KOKURA *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2011; KUMAR *et al.*, 2014). Na área farmacológica as nanopartículas de prata podem ser aplicadas como antidiabético, antiplasmodial, anticancerígeno, antiinflamatório e antifúngico (CHAHAR *et al.*, 2018). As AgNPs também têm sido usadas como antisséptico, bem como, agente antimicrobiano contra várias cepas bacterianas (LOPEZ-QUINTELÁ, 2003; BHANVASE *et al.*, 2015). Pois, vários patógenos bacterianos produzem genes de resistência em virtude da utilização inadequada e excessiva de antibióticos (IWASAKI *et al.*, 2009). Assim, as nanopartículas surgiram com uma alternativa de grande potencial aos antibióticos, levando a novos caminhos no combate aos patógenos bacterianos, devido às suas propriedades antimicrobianas únicas (KHAYDAROV *et al.*, 2009; SATHYAVATHI *et al.*, 2009).

As nanopartículas de prata podem ser sintetizadas a partir de diferentes rotas, as quais podem ser físicas, químicas, fotoquímicas ou biológicas. Geralmente, os métodos químicos são os mais fáceis para sintetizar nanopartículas em solução, sendo os mais utilizados as reações em estado sólido, a técnica sol-gel, o método solvotérmico, o método hidrotérmico e o método do sal fundido (SALEH, 2016). Na

Capítulo 3

produção de nanopartícula as rotas mais utilizadas para reduzir os íons de prata são irradiação γ e UV, redução térmica e redutores químicos, como por exemplo, a N,N-dimetilformamida, etilenoglicol, borohidreto de sódio, citrato de sódio, ácido ascórbico, formaldeído, dentre outros (PESSANHA *et al.*, 2014).

Uma das desvantagens de muitas sínteses se dá pela utilização de reagentes químicos tóxicos e, portanto prejudiciais ao meio ambiente. Com isso, há a necessidade de se buscar novas rotas, ecologicamente corretas de síntese de nanopartículas, as quais não utilizem reagentes químicos que venham a agredir o meio ambiente. O anseio por uma sociedade ambientalmente “amigável” tem levado ao desenvolvimento de “sínteses verdes” de nanopartículas, ou seja, metodologias ecologicamente corretas, que além de, possuírem como vantagens a simplicidade do processo de síntese, rentabilidade e emprego de produtos de origem natural que venham a atuar como agentes redutores e/ou estabilizantes proporcionando ao produto final atividade antibacteriana, propriedades antioxidantes e até antitumorais (PARASHAR *et al.*, 2009; THAKKAR *et al.*, 2010).

Assim, vários métodos biológicos vêm sendo sugeridos na síntese de nanopartículas, utilizando desde microorganismos, enzimas, plantas e extratos de plantas, exsudatos de plantas dentre outros, como possíveis alternativas ecologicamente “verdes” e corretas quando comparadas aos métodos físicos e químicos convencionais (BINDHU; UMADEV, 2015).

Diversas pesquisas vêm utilizando recursos naturais na síntese de nanopartículas, como é o caso dos polissacarídeos naturais. Sua utilização deve-se pela ampla variedade de funções e atividade biológicas complexas (SHI, 2016). Os polissacarídeos naturais podem ser obtidos de diversas fontes, tais como vegetais (exsudatos, sementes, frutos e tubérculos), microbianas (fungos e bactérias), algas e origem animal (LIU *et al.*, 2015; SHI, 2016). Dentre os polissacarídeos naturais, as gomas naturais, ou exsudatos de troncos de árvores gomíferas, se destacam pela sua ampla disponibilidade e fácil obtenção. Estes exsudatos provenientes dos troncos de árvores são respostas do mecanismo de proteção da planta os quais também podem ser obtidos através de sua indução por agentes químicos, como o óxido de etileno e derivados de ácido benzóico (EIRAS *et al.*, 2007).

A goma de cajueiro (GC) é um polissacarídeo ácido proveniente do exsudato da árvore *Anacardium occidentale L.*, de fácil acesso, baixo custo e amplamente distribuído no Nordeste do Brasil. A Goma de cajueiro é um heteropolissacarídeo

Capítulo 3

ácido aniônico, de cadeia longa, ramificada e de elevada massa molecular. É composto principalmente por β -D-galactose (72%), seguido por β -D-glicose (14%), arabinose (4,6%), ramnose (3,2%) e ácido glucurônico (4,6%) (DE PAULA; RODRIGUES, 1995; DE PAULA *et al.*, 1998; CAMPOS *et al.*, 2012; QUELEMES *et al.*, 2017). O interesse na utilização da goma de cajueiro na síntese de nanopartículas de prata está relacionado com sua eficácia em atuar ao mesmo tempo com agente redutor da prata, bem como, agente estabilizante da nanoestrutura, o que favorece a diminuição de processos de agregação, como já propostos em alguns trabalhos (ARARUNA *et al.*, 2013; QUELEMES *et al.*, 2013). A goma de cajueiro apresenta diversas aplicações relacionadas às suas propriedades biológicas como atividade antibacteriana, atividade anti-inflamatória, atividade antidiarreica, aplicação como filme em curativos de feridas, dentre outras (GONÇALVES *et al.*, 2005; MOREIRA *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2018; AWAKAN *et al.*, 2018).

Um dos problemas relatados para a síntese de nanopartículas de prata, diz respeito a sua matriz de suporte, por que sem esta, a utilização das AgNPs ficaria limitada quando empregadas em aplicações específicas, como em processos que ocorrem liberação prolongada da prata (por exemplo, em dispositivos médicos) (RIVERO *et al.*, 2015). Outro problema está relacionado ao tamanho das nanopartículas, que pode favorecer o processo de agregação, levando a limitações em suas propriedades físicas, químicas e antibacterianas (LI; CHANG, 2015). Uma das formas de reverter esses problemas é combinar as nanopartículas de prata com outros materiais ecologicamente corretos, inertes e baratos, levando a exploração de suas propriedades de forma eficaz para seu uso em diversas aplicações (EREMENKO *et al.*, 2016).

Entre os diversos tipos de matrizes que podem ser empregadas para o fim de suporte as nanoestruturas, as argilas surgem como materiais atraentes em função do seu custo, boas propriedades químicas e físicas e ampla disponibilidade (MOTSHEKGA *et al.*, 2013; HUSEN; SIDDIQI, 2014). A combinação de dois ou mais materiais, em que pelo menos um de seus componentes apresente dimensões nanométricas, são chamados de nanocompósitos (WANG *et al.*, 2009). O interesse por nanocompósitos deve-se a melhora nas propriedades finais, devido a nanoescala, quando comparadas àquelas apresentadas pelos compósitos convencionais. Além disso, sabe-se que, há uma maior interação na interface

Capítulo 3

matriz/reforço na escala nanométrica, fazendo com que ocorra a potencialização das propriedades do material (BOTAN *et al.*, 2011; MORAES *et al.*, 2014).

O interesse pela utilização de argilas na síntese de nanocompósitos se deve à necessidade de se obter materiais que não agridam ao meio ambiente quando descartados. Desta forma, as argilas são excelentes cargas para o desenvolvimento de compósitos metálicos e, como por exemplo, podemos citar a montmorilonita, a sepionita, a bentonita, a palygorskita, a haloisita ou ainda a zeólita que são consideradas cargas de baixo custo. Neste sentido, a ampla utilização das argilas se deve ainda a sua elevada área superficial, alta estabilidade térmica e mecânica, bem como, a variedade de propriedades estruturais e de superfície observadas (JUANG *et al.*, 2002). Propriedades como a de inchamento e adsorção fazem das argilas excelentes materiais de suporte para nanopartículas (ZHANG *et al.*, 2010). Várias técnicas são usadas na preparação de compósitos utilizando nanopartículas metálicas suportadas em argila, como: troca iônica, síntese solvotérmica, redução química, método sol-gel e outras (RAJUA *et al.*, 2016; SHUAI *et al.*, 2016).

A palygorskita (Pal) é um silicato hidratado de alumínio e magnésio com grupos hidroxil reativos na superfície (BRADLEY, 1940; HUANG *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2009; ZENG *et al.*, 2017). A primeira estrutura da palygorskita foi proposta por Bradley (1940) sendo $\text{Si}_8\text{Mg}_5\text{O}_{20}(\text{OH})_2(\text{OH}_2)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. De acordo com esta fórmula a Pal possui três formas de água em sua estrutura: águas coordenadas ligadas a cátions da folha octaédrica, águas zeolíticas presentes nos canais que interagem com a molécula de H_2O coordenada bem como a folha tetraédrica e águas hidroxilas ligadas à estrutura do argilomineral no centro da folha octaédrica (GIONIS *et al.*, 2006). A Pal é um argilomineral não planar, apresenta estrutura em canal aberto, formando cristais alongados e morfologia fibrosa, do tipo 2:1, com uma dupla camada de tetraedro de silício e uma camada central de octaedro de magnésio, alumínio ou ferro (XAVIER *et al.*, 2016; CARAZO *et al.*, 2018). Em decorrência de sua estrutura especial, estabilidade e grande área superficial, vários são os esforços para utilizar a palygorskita em novas aplicações tanto na sua forma *in natura* quanto em sua forma modificada (GUO *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2015; OGORODOVA *et al.*, 2015).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi sintetizar nanocompósitos palygorskita/nanopartículas de prata/goma de cajueiro (Pal/AgNPs/GC) pelo método de síntese verde, utilizando o polissacarídeo extraído da goma de cajueiro como

Capítulo 3

agente redutor e estabilizante nas nanoestruturas, além disso, este estudo também abrange a caracterização dos nanocompósitos, bem como, a avaliação de sua atividade antibacteriana. As AgNPs de prata foram caracterizadas por Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-vis.), tamanho hidrodinâmico médio e Potencial Zeta. Já a Pal *in natura*, a Pal purificada e o nanocompósito (Pal/AgNPs/GC) foram caracterizados por Difração de Raios - X (DRX), Análise Termogravimétrica (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). Por fim, a atividade antibacteriana dos nanocompósitos foi avaliada pelo método de contato direto contra cepas de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*) e testes de toxicidade contra cepas de *Artemia salina* Leach. Neste sentido, o presente estudo, fundamenta futuros estudos para novas aplicações do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC aqui proposto.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais e Reagentes

A argila Palygorskita (Pal) foi obtida na empresa JL, localizada na BR-316 a 19 Km da cidade de Teresina - Piauí, sendo esta proveniente do município de Guadalupe - PI. No processo de seu beneficiamento, a Pal foi submetida a um processo de ativação ácida utilizando ácido sulfúrico (H₂SO₄), segundo informações repassadas pela empresa.

A goma de cajueiro (GC) utilizada na síntese das nanopartículas de prata (AgNPs) foi isolada seguindo a metodologia descrita por Paula, Heatley e Budd (1998), a partir do exsudato proveniente da árvore *Anacardium occidentale* L., coletado no município de Ilha Grande - Piauí, Brasil, em abril de 2016. Todo o processo de isolamento e purificação foi realizado pelo Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC), da Universidade Federal do Piauí - campus Ministro Reis Veloso, Parnaíba – PI (Brasil).

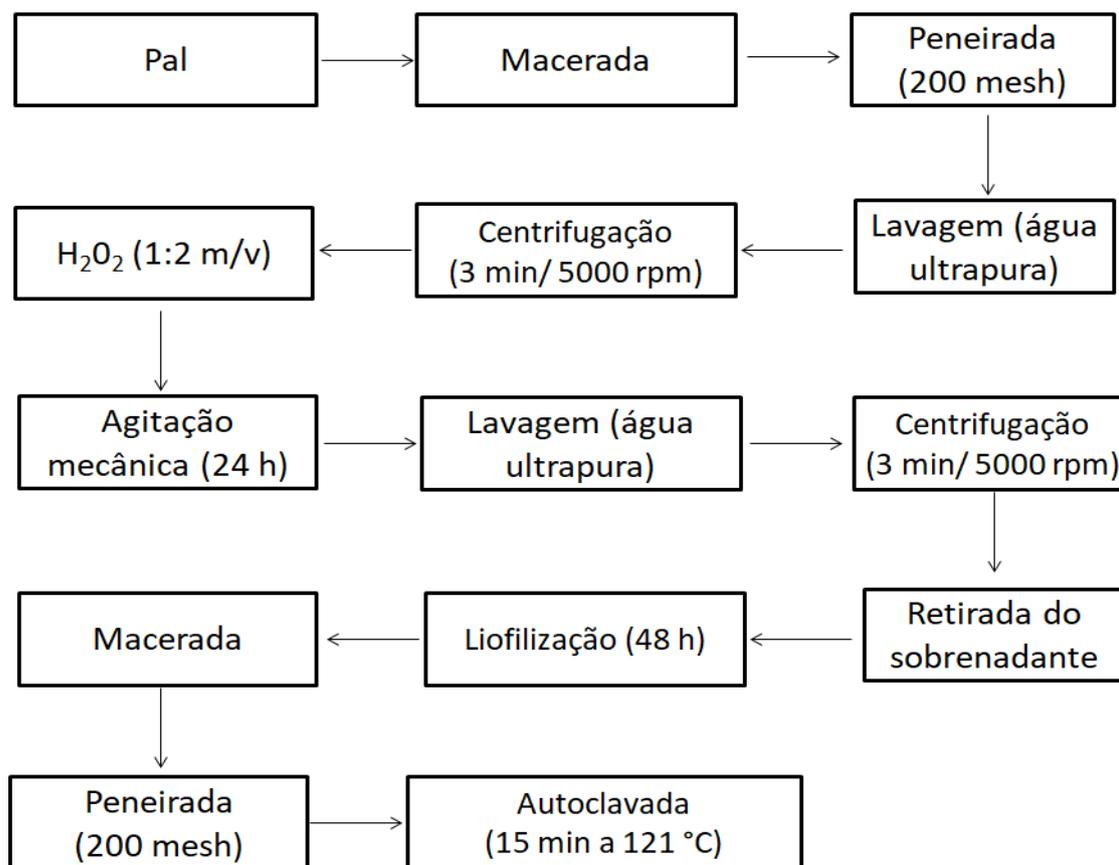
Todos os reagentes utilizados na pesquisa foram de grau analítico, o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) da Merck e o nitrato de prata (AgNO₃) da Vetec. No preparo de soluções assim como em outras etapas do experimento, utilizou-se água ultrapura obtida pelo sistema Milli-Q.

2.2 Métodos

2.2.1 Tratamento da Palygorskita (Pal)

As amostras de Palygorskita, após serem maceradas para redução de seu tamanho, foram peneiradas em uma peneira de 200 mesh (0,074 mm). Após essa etapa, as amostras passaram por sucessivas lavagens com água ultrapura do sistema de Milli-Q. A cada lavagem, as amostras foram centrifugadas, utilizando uma centrífuga da marca Nova Instruments, modelo NI 1812, durante 3 (três) minutos a uma velocidade de 5000 (cinco mil) rpm.

Posteriormente, as amostras passaram por um tratamento químico utilizando H₂O₂, na proporção de 1:2 m/v, para a remoção de impurezas e matéria orgânica, Esse sistema permaneceu sob agitação mecânica por 24 h, ao término dessa etapa, as amostras foram lavadas e centrifugadas utilizando as mesmas condições descritas acima, com adaptações de pesquisas propostas por Olphen (1977), Xavier e colaboradores (2016) e Santana e colaboradores (2017). Por fim, o sobrenadante foi descartado e o resíduo foi seco em liofilizador, macerado, peneirado e autoclavado por 15 min a 121 °C ± 1 °C, conforme fluxograma na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma do processo de purificação da Palygorskita.

Fonte: Autoria própria, 2019.

2.2.2 Síntese das nanopartículas de prata (AgNPs) e do nanocompósito Palygorskita/Nanopartículas de prata/Goma de Cajueiro (Pal/AgNPs/GC)

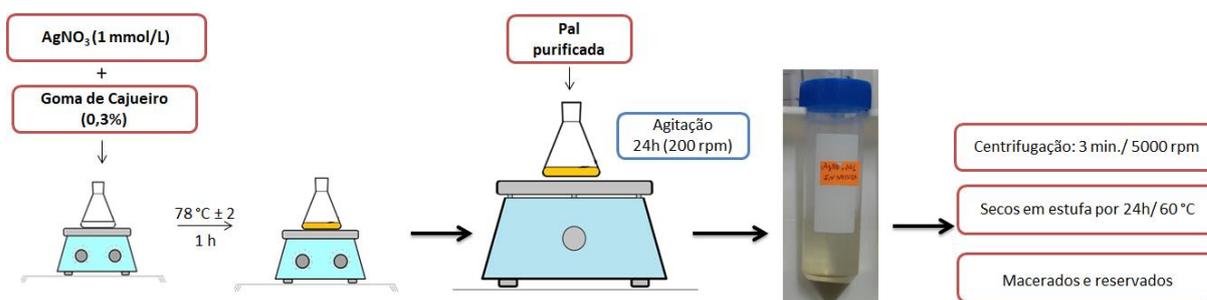
Para a realização da síntese verde dos nanocompósitos, primeiro foi feita a síntese das AgNPs, em seguida, estas foram incorporadas a Pal por meio de agitação mecânica.

A síntese das AgNPs foi realizada com base na metodologia proposta por Quelemes e colaboradores (2011) com adaptações. Uma solução a 0,3% (m/v) da goma de cajueiro (GC) foi adicionada a uma solução aquosa de AgNO₃ (1 mmol/L), na proporção 1:1 (v/v), e este sistema permaneceu sob aquecimento a 78 °C ± 2 °C por 1 hora. Após esse período, o produto formado foi centrifugado por 3 minutos a 5000 rpm. Uma alíquota foi separada para as caracterizações das AgNPs. Em seguida, foi adicionado 0,8 g da argila palygorskita a solução coloidal e as amostras

Capítulo 3

foram levadas a uma mesa agitadora onde permaneceram sob agitação durante 24 horas a 200 rpm. Em seguida, os nanocompósitos foram centrifugados nas mesmas condições mencionadas anteriormente, secos em estufa, macerados e acondicionados ao abrigo de luz e umidade, conforme esquema na Figura 2.

Figura 2 - Esquema da síntese das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.



Fonte: Autoria própria, 2019.

2.2.3 Caracterização das AgNPs, da Pal e do nanocompósito (Pal/AgNPs/GC/GC)

2.2.3.1 Espectroscopia na região ultravioleta visível (UV-Vis)

A espectroscopia na região do ultravioleta-visível foi utilizada para o monitoramento da formação das AgNPs estabilizadas com polissacarídeos da goma de cajueiro, através da formação de bandas plasmônicas características. Foi utilizado um espectrofotômetro modelo Hitachi U-300. A varredura do espectro obtido variou de 600 a 300 nm.

2.2.3.2 Tamanho hidrodinâmico médio, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (ζ)

O tamanho hidrodinâmico médio, o índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta das AgNPs foram determinados pela técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS - do inglês *Dinamic Light Scattering*), utilizando-se o

Capítulo 3

equipamento Zetasizer, Nano Series ZS-90 da Malvern Instruments, com ângulo de medida de 90°, laser de gás He-Ne, com comprimento de onda do feixe de 632,8 nm e detector fotodiodo Avalanche em 633 nm. As análises foram realizadas diluindo-se 1/10 (v/v) as suspensões de AgNPs em água ultrapura.

2.2.3.3 Microscopias Eletrônicas

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para verificar a superfície da Pal *in natura* e da Pal purificada. Para avaliar se o processo de purificação da Pal foi efetivo, foram realizadas análises de Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) que possibilita microanálise qualitativa e semiquantitativa de elementos químicos presentes na amostra.

As imagens foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura com Detector de Energia Dispersiva de Raios X (MEV/EDS) da marca FEI, modelo Quanta FEG 250, com tensão de aceleração de 1 a 30 kV, equipado com EDS de SDD (*Silicon drift detectors*), marca Ametek, modelo HX-1001 (detector Apollo X-SDD). Antes das análises as amostras foram cobertas com uma fina camada de ouro utilizando uma metalizadora da marca Quorum, modelo Q150R, durante 30s, a 20 mA e atmosfera de argônio.

Já a Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) foi realizada para verificar a morfologia das AgNPs e do nanocompósito Pal/AgNPs/GC. As imagens foram obtidas utilizando um equipamento da marca JEOL, modelo JEM - 2100 com filamento de LaB₆ (hexaboreto de lantânio) com operação a 200 kV. As amostras foram preparadas adicionando-se, com auxílio de uma micropipeta, uma gota dos materiais dispersos em solventes adequados, sobre grades de cobre recobertas com filme fino de carbono. A partir das imagens obtidas, foram feitas contagens e a distribuição de tamanho das partículas foi mensurada com o auxílio do software ImageJ. Os dados obtidos do programa foram tratados no software Origin 10.1.

2.2.3.4 Difração de Raios - X (DRX)

Os difratogramas de Raios - X da Pal e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram obtidos utilizando um difratômetro Shimadzu, modelo D6000-RX, com

Capítulo 3

radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), filtro de níquel com voltagem de 40 kV, corrente de 30 mA, taxa de varredura de $2^\circ/\text{min}$, com 2θ no intervalo de 5° a 75° .

2.2.3.5 Área Superficial Específica (S_{BET})

As medidas de área superficial específica foram calculadas de acordo com o método de BET (Stephen Brunauer, Emmett e Teller, 1938), a partir de isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio a 77 K. As análises foram realizadas em um equipamento da marca Quantachrome Instruments versão 10.01. Antes das medidas de adsorção/dessorção, as amostras foram previamente tratadas a 200°C por 12 h com fluxo de N_2 gasoso. O cálculo da área superficial foi realizado utilizando os dados de fissiorção de nitrogênio, utilizando a regressão linear a partir do gráfico $1/v[(p/p_0)-1]$ vs (p/p_0) e a Equação 1.

$$V_A = \frac{V_m \cdot C_t \cdot P}{(P_0 - P)[1 + (C_t - 1)P/P_0]} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

C_t = constante relacionada à energia de adsorção;

P = pressão;

P_0 = pressão de saturação do gás;

V_A = quantidade de gás adsorvido em mL;

V_m = quantidade de adsorção na monocamada.

2.2.3.6 Análise Térmica

A Análise Termogravimétrica/Análise Termogravimétrica Derivada (TG/DTG) e a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram realizadas utilizando um instrumento SDT Q600 V20.9 Build TA, modelo DSC-TGA Standard, sob atmosfera de argônio com fluxo de 100 mL/min , taxa de aquecimento de 10°C/min e faixa de temperatura de 20°C a 900°C .

2.2.3.7 Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos em um espectrofotômetro Paragon 1000, da Perkin – Elmer (USA), utilizando pastilhas de KBr. As medidas foram realizadas na faixa de comprimento de onda de 4000 a 400 cm^{-1} durante 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

2.2.4 Estudo da atividade antibacteriana

2.2.4.1 Cepas Bacterianas

Para o estudo da atividade antibacteriana foram utilizadas cepas bacterianas das espécies *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) do acervo de microrganismos do Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LPM) da Universidade Federal do Piauí - UFPI.

2.2.4.2 Preparação do inóculo bacteriano

As culturas bacterianas foram mantidas em ágar nutriente a 4 °C. Em seguida, uma alçada do crescimento bacteriano foi transferida para um tubo falcon contendo 3,0 mL do meio de cultura Brain Heart Infusion Broth a 3% (BHI), posteriormente a amostra foi incubada a 37 °C por 24h. A partir desta cultura em BHI foi preparada uma suspensão bacteriana padronizada com densidade equivalente a 0,5 na escala Mac Farland, aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônias - UFC). Após essa etapa foram realizadas diluições decimais seriadas, em solução salina fisiológica, com suspensão de $1,5 \times 10^4$ UFC/mL para ambos os microrganismos.

2.2.4.3 Teste do contato direto

O estudo das propriedades antimicrobianas da Pal, das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foi investigada por teste de contato direto, de acordo com a metodologia proposta por Zheng e Zhu (2003), sendo os resultados expressos em contagem de Unidade Formadora de Colônias (UFC). Para a realização do teste uma suspensão bacteriana padronizada foi submetida a diluições seriadas decimais até a obtenção da diluição 10^{-4} ($1,5 \times 10^4$ UFC/mL em meio BHI).

Em seguida, 2000 μ L desta suspensão diluída foram transferidos para um tubo tipo falcon esterilizado, sendo adicionado a este 2000 μ g das amostras sólidas e 2000 μ L da amostra líquida. Para determinar o efeito inibitório, 100 μ L dessa solução foi transferida para placas de Petri contendo o meio de cultura Agar Mueller-Hinton e semeadas com o auxílio de uma alça Drigalsky pelo método *spread plate*.

As placas foram incubadas em estufa microbiológica a 37 °C durante 24h, sendo o efeito inibitório determinado pela contagem das unidades formadoras de colônia (UFC). As análises foram realizadas em triplicata para cada uma das amostras testadas. No Controle positivo as amostras analisadas foram substituídas por uma solução salina (2000 μ L) para comparação posterior das soluções com as amostras testadas.

O efeito inibitório produzido por cada amostra analisada foi calculado utilizando a seguinte equação:

$$\eta = \frac{N_1 - N_2}{N_1} \times 100\% \quad \text{Equação 2}$$

Em que o η é definido como o efeito inibitório, o N_1 é a média aritmética das unidades formadoras de colônia das placas controle e o N_2 é a média aritmética das unidades formadoras de colônia de cada uma das soluções testadas.

Capítulo 3

2.2.5 Ensaio de Toxicidade

2.2.5.1 Preparo das amostras e Ensaio de letalidade em *Artemia salina* Leach

O ensaio de letalidade em *Artemia salina* (*A. salina*) foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer (1982), com algumas modificações.

Para o preparo das amostras foi utilizada água ultrapura conforme a ISO 19993-5 para amostras insolúveis em água, etanol e DMSO (Dimetilsulfóxido). Foram preparadas amostras em triplicata com concentrações de 10 mg/mL para as amostras de Pal purificada e nanocompósito de Pal/AgNPs/GC. Já para o preparo da amostra de AgNPs foi utilizado a concentração de 1 mM. As amostras foram incubadas em uma estufa com mesa agitadora por 24h a 37°C sob agitação leve.

Após a incubação deixou-se sedimentar as amostras e realizaram-se diluições para a obtenção das seguintes concentrações utilizadas no ensaio: 5 mg/mL; 1 mg/mL; 0,5 mg/mL e 0,1 mg/mL (para as amostras de Pal e Pal/AgNPs/GC) e de 0,1 mM; 0,01 mM e 0,001 mM (para as amostras de AgNPs), todas preparadas em triplicata.

Em seguida, adicionou-se cerca de 50 mg de ovos de *Artemia salina* em aproximadamente 1L de água do mar sintética (previamente preparada) com iluminação artificial (lâmpada) e oxigenação (bomba de aquário) por 48h. Após a eclosão, separou-se 10 náuplios (com adequada movimentação) para cada tubo de ensaio com as concentrações testes em triplicata. Sendo que em cada tubo continha 9 mL de água do mar sintética e 1 mL da concentração teste (amostra), resultando ao final 10 mL (água do mar + amostra). Foi preparado também um controle negativo contendo somente 10 náuplios e 10 mL de água do mar sintética.

Após a incubação dos tubos, realizou-se a contagem dos náuplios sobreviventes com o auxílio de uma lupa após 24 horas e 48 horas e a determinação da dose letal média (DL₅₀), concentração que afeta a mobilidade em 50% da população.

Para o preparo da solução de água do mar sintética foi dissolvido em 1 L de água destilada as seguintes substâncias com suas respectivas massas: 15,153 g de NaCl; 1,398 g de MgCl; 1,888 g de MgSO₄; 0,652 g de CaCl₂; 0,414 g de KCl e 0,116 g de NaHCO₃.

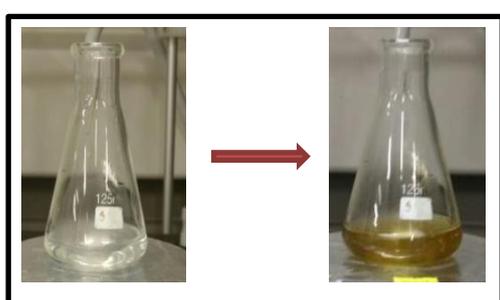
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das AgNPs

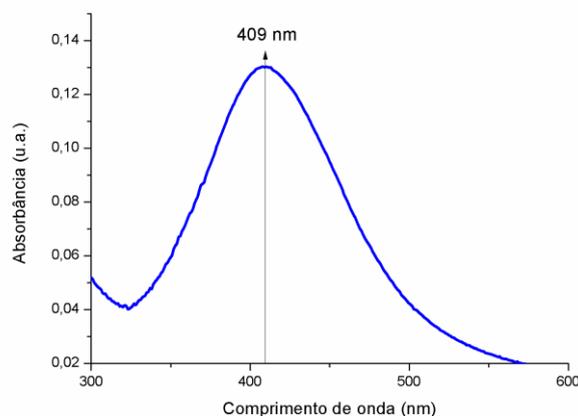
3.1.1 Análise de espectro UV-Vis

A Figura 3a apresenta a mudança de coloração do meio reacional da suspensão coloidal de prata. Já a Figura 3b, mostra o espectro de absorção UV-Vis das AgNPs sintetizadas via síntese verde utilizando a goma de cajueiro (GC).

Figura 3 - (a) Mudança de coloração da solução incolor de AgNO_3 para amarelo indicando a formação de suspensão coloidal das AgNPs via síntese verde e (b) Espectro de absorção UV-Vis das AgNPs à base de goma de cajueiro, a seta no gráfico indica a absorbância máxima em 409 nm.



(a)



(b)

Fonte: Autoria Própria, 2019.

A primeira evidencia da formação das AgNPs foi a mudança da coloração no meio reacional, onde a suspensão coloidal de prata passou de incolor para coloração amarelo, o que confirma a redução de íons Ag^+ para Ag^0 . A cor amarela é característica da prata coloidal que resulta da absorção da radiação eletromagnética em ressonância com os plasmons de superfície (MELO JR. *et al.*, 2012).

Capítulo 3

No processo de obtenção das AgNPs utilizando a rota via síntese verde, utilizando GC, verificou-se que esta conseguiu tanto atuar como agente redutor dos íons de prata, como também, atuou como agente estabilizante das nanopartículas formadas, sendo tais evidências já reportadas na literatura (QUELEMES *et al.*, 2013; ARARUNA *et al.*, 2013). Esses fatos podem ser explicados em decorrência da goma de cajueiro ser um heteropolissacarídeo aniônico, envolvendo e gerando cargas negativas na superfície das nanopartículas. Essas cargas que se formam criam uma repulsão eletrostática entre as nanopartículas, evitando o processo de agregação (EDISON *et al.*, 2016; TERENCEVA *et al.*, 2015).

Outra técnica utilizada para confirmar a formação das AgNPs foi a espectroscopia de UV-Vis, que novamente confirmou a formação das nanopartículas. A partir do espectro de UV-Vis. da suspensão coloidal das AgNPs, na região de 300 - 600 nm, foi observado uma banda plasmônica de ressonância de superfície com absorção máxima em 409 nm, sendo esta característica da formação de AgNPs com formato esférico, já relatados na literatura (NOGUEZ, 2007; PINTO *et al.*, 2010; ANTUNES *et al.*, 2013). A presença de uma banda de absorção larga indica característica de polidispersão das nanopartículas formadas. Estudos realizados por Liu e colaboradores (2014) e Wojtysiak & Kudelski (2012) utilizando a goma de cajueiro em processos de síntese de nanopartículas de prata identificaram bandas de absorção máxima em torno de 407 e 409 nm, respectivamente.

A obtenção de nanopartículas utilizando biopolímeros possui diversas vantagens em relação ao uso de agentes químicos sintéticos convencionais, como por exemplo, a presença de cadeias macromoleculares, que por possuírem um grande número de grupos hidroxilas, estas podem se complexar com o íon metálico (QUELEMES *et al.*, 2013). A utilização de polissacarídeos naturais em processos de síntese de nanopartículas metálicas também se deve a vantagem destes interagirem eletrostaticamente com íons Ag^+ pela presença da carga negativa de grupos carboxilas formando, assim, um complexo como parte da nanoestrutura da prata (MOHANTY *et al.*, 2012).

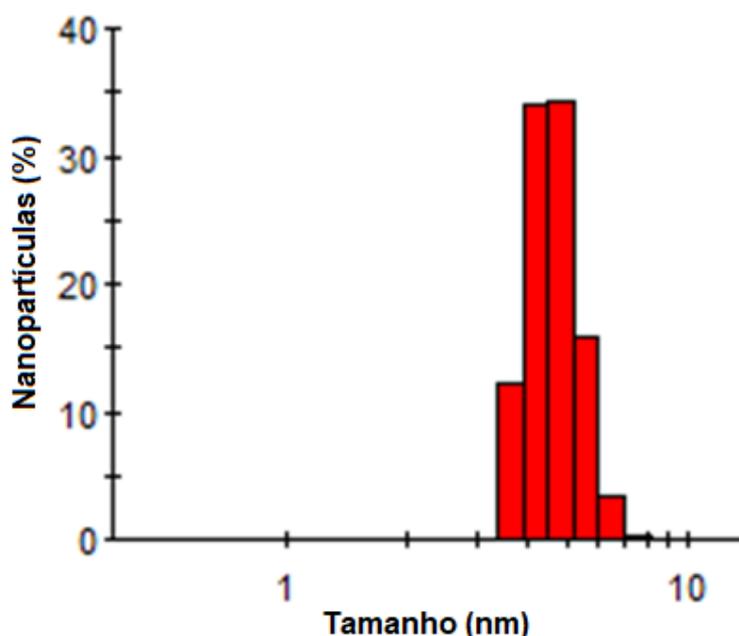
Dessa forma, tanto pela mudança da coloração do meio reacional, quanto pela técnica de UV-Vis., foi comprovado a formação das nanopartículas de prata pelo método de síntese verde utilizando a goma de cajueiro.

Capítulo 3

3.1.2 Estudo do tamanho hidrodinâmico médio, potencial zeta (ζ) e índice de polidispersão (PDI) das AgNPs

A distribuição do tamanho hidrodinâmico médio, o potencial zeta e o índice de polidispersão (PDI) das AgNPs foram determinados pela técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (do inglês *Dynamic Light Scattering - DLS*). A Figura 4 mostra o histograma de distribuição do tamanho das AgNPs obtidas a partir da síntese verde utilizando à goma de cajueiro.

Figura 4 - Histograma mostrando a distribuição do tamanho hidrodinâmico médio das AgNPs, com maior frequência de tamanho em torno de 3,8 nm (sd \pm 0,95).



Fonte: Autoria Própria, 2019.

Pelo histograma percebe-se que a distribuição das AgNPs apresentou populações de tamanho em torno de 3 a 10 nm, configurando um sistema com populações polidispersas. A maior fração de AgNPs, cerca de 99,9%, apresentou tamanho hidrodinâmico médio de maior frequência em torno de 3,8 nm \pm 0,95 (99,1%) e o Índice de Polidispersão (PDI) foi de 0,3. Segundo Costa (2012) valores de PDI entre 0,08 e 0,7 são características de sistemas que apresentam

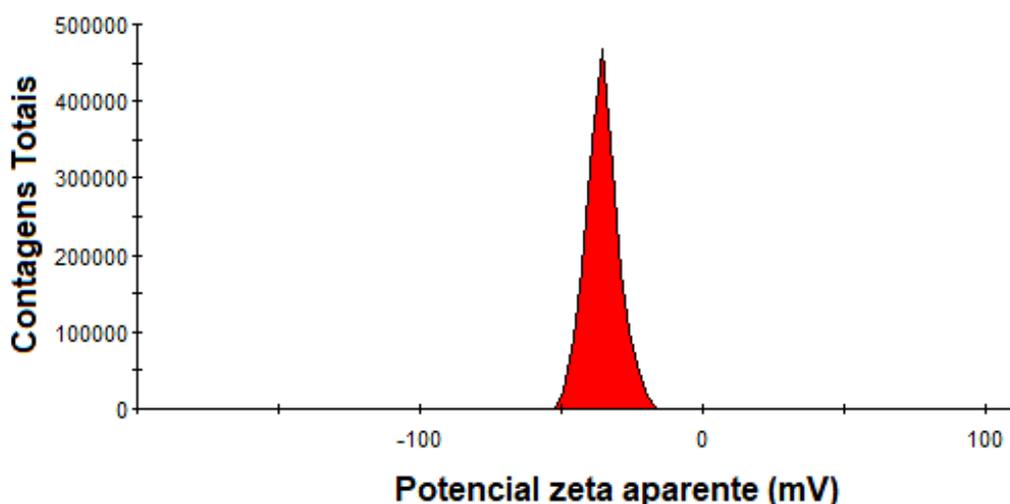
Capítulo 3

polidispersividade média, o que foi comprovado no histograma de distribuição das nanopartículas e pelas imagens de Microscopia Eletrônica da Transmissão (TEM) das AgNPs.

A técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) se baseia na medida do movimento Browniano e correlacionando-o com o tamanho das partículas. O valor do tamanho da partícula encontrado representa o seu diâmetro em suspensão e não o seu tamanho real, o qual pode ser determinado por outras técnicas, como por exemplo, pela Microscopia Eletrônica de Transmissão (*Transmission Electron Microscopy - TEM*). Essa técnica é diferente da geração de imagens de amostras secas e é sensível à agregação dinâmica, aglomeração, etc. Sendo assim, há várias razões para esperar resultados diferentes dessa técnica em comparação com as técnicas microscópicas. Portanto, para que ocorra essa comparação à amostra deve ter formato esférico, ter baixa polidispersividade e dispersão de tamanho monomodal (EATON *et al.*, 2017). A diferença de diâmetro foi confirmado nas imagens de TEM das AgNPs sintetizadas nessa pesquisa.

A Figura 5 apresenta o potencial zeta das AgNPs. O potencial zeta das AgNPs foi de -33 mV ($\pm 3,72$ em pH= 6,7), apresentando carga negativa e foram moderadamente estáveis à temperatura ambiente.

Figura 5 - Potencial Zeta das AgNPs.



Fonte: Autoria Própria, 2019.

Capítulo 3

O Potencial Zeta (ζ) foi utilizado para avaliar a estabilidade das nanopartículas na suspensão coloidal. As partículas quando em contato com um líquido, adquire uma carga elétrica em sua superfície, sendo esse potencial chamado de potencial zeta. O valor obtido do potencial zeta relaciona-se com a repulsão eletrostática entre as partículas e a estabilidade do sistema coloidal, quando maior o seu valor, maior será a estabilidade da suspensão coloidal (VANITHA *et al.*, 2017).

Um valor de potencial zeta ≤ -30 mV ou $\geq +30$ mV, indica que o sistema apresenta boa estabilidade coloidal (DUMAN; TUNÇ, 2009; VANITHA *et al.*, 2017). Quanto maior o valor do potencial zeta maior a tendência da suspensão coloidal à estabilidade, pois, a força com que as partículas se repelem entre si é maior que a tendência natural à agregação (RIBEIRO *et al.*, 2011).

A carga negativa do potencial zeta das AgNPs em meio aquoso pode ser atribuído a goma de cajueiro, por este ser um heteropolissacarídeo ramificado ácido de caráter aniônico (DE PAULA; RODRIGUES, 1995), o qual apresentou potencial zeta negativo de -12,4 mV ($\pm 5,41$) em pH=8,7, o que comprova que a goma reduziu e estabilizou as nanopartículas.

A boa estabilidade do sistema coloidal das AgNPs pode estar relacionada ao fato da goma de cajueiro, utilizada na redução e estabilização das nanopartículas apresentar grupos hidroxilas livres em sua estrutura, que podem ser oxidados, em virtude da presença de elétrons livres. Esse fato, leva a uma maior redução dos íons de prata e uma melhor estabilização das AgNPs, impedindo o processo de aglomeração das nanopartículas, o que já foi relatado em trabalhos na literatura (EDISON *et al.*, 2016; TERENCEVA *et al.*, 2015).

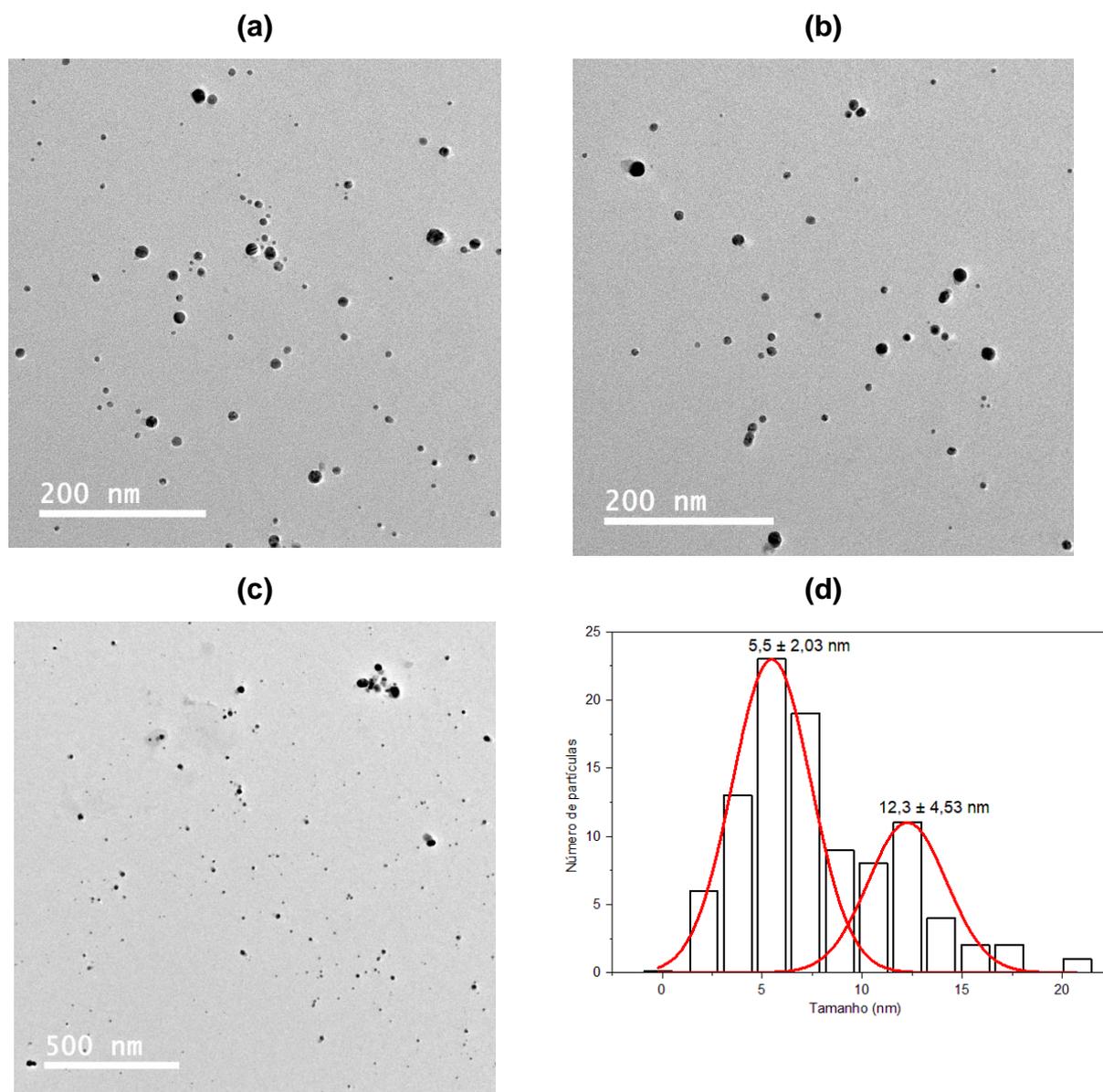
3.1.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) das AgNPs

A morfologia e o diâmetro médio das nanopartículas de prata foram analisados pela técnica TEM. As imagens foram capturadas em regiões escolhidas de forma aleatória. Pelas imagens obtidas foram realizadas contagens e determinação do diâmetro das partículas com o auxílio do software ImageJ. E os histogramas foram gerados no software Origin 10.1.

Capítulo 3

Na Figura 6 (a, b e c), observam-se a formação de nanopartículas esféricas de AgNPs dispersas e com uma distância interpartícula moderada, levando a diminuição de possíveis processos de aglomerações.

Figura 6 - Imagens das AgNPs via síntese verde por Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) (a, b e c) e Histograma de distribuição de tamanhos (d).



Fonte: Autoria Própria, 2019.

Capítulo 3

Tais dados corroboram com os dados obtidos pela espectroscopia UV-Vis, PDI e potencial zeta, mencionados nos itens 3.1.1 e 3.1.2. A forma esférica já era esperada, pois a solução coloidal das AgNPs apresentou uma banda de absorção máxima próxima a 409 nm que é característica de nanopartículas de prata esféricas (NOGUEZ, 2007; SOLOMON *et al.*, 2007), sendo confirmada pelo TEM das AgNPs.

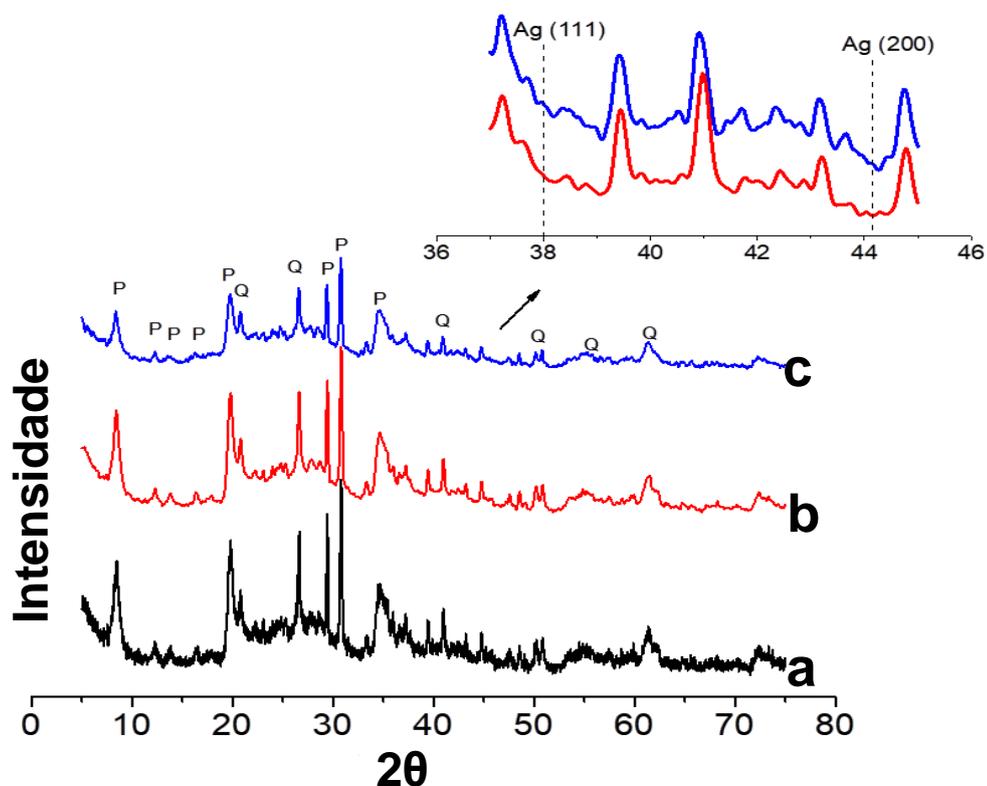
A distribuição do diâmetro médio das nanopartículas foi realizada com uma imagem em escala de 200 nm (Figura 6a), contando-se cerca de 98 nanopartículas. O tamanho das AgNPs segue uma distribuição normal, como uma gaussiana, com máximo de ocorrência nos diâmetros de 5,5 nm ($\pm 8,94$) e 12,3 nm ($\pm 4,53$), conforme Figura 6d. Tais resultados, corroboram com os dados de UV-Vis. e PDI, em que, foi verificado pelo formato da banda de absorção a presença de AgNPs polidispersas.

3.2 Caracterização da Pal *in natura*, da Pal purificada e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC

3.2.1 Difração de Raios - X (DRX)

Os difratogramas de raios - X da Pal *in natura*, da Pal purificada e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC podem ser visualizados na Figura 7. Tal técnica foi realizada para observar possíveis modificações na estrutura cristalina da Pal após os tratamentos físicos e químicos, bem como, a incorporação das AgNPs na superfície da palygorskita.

Figura 7 - Difratograma de raios-X da (a) Pal *in natura*, (b) Pal purificada e (c) nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.



* P = Palygorskita, Q = Quartzo e Ag = Prata

Fonte: Autoria Própria, 2019.

Os picos de difração característicos da Pal e do quartzo (SiO_2) foram identificados com o auxílio dos cartões cristalográficos nº 01-082-1873 e 01-085-0794, respectivamente, obtidos através do banco de dados JCPDF. Picos característicos da Pal e seus respectivos planos de difração foram identificados nas amostras em $8,4^\circ$ (110); $12,3^\circ$ (211); $13,8^\circ$ (200); $16,3^\circ$ (130) e $19,7^\circ$ (121), sendo esses picos já relatados na literatura (SHENG; WANG, 2005; XAVIER *et al.*, 2012; CARAZO *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2018).

A presença do pico em $2\theta = 8,4^\circ$ está relacionado à distância interplanar de 1,05 nm atribuído ao plano basal da estrutura da Pal, ou seja, ao plano primário da face do cristal (OLIVEIRA *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2013). As reflexões em $2\theta = 13,74^\circ$, $16,5^\circ$, $19,7^\circ$, $20,8^\circ$ e $28,1^\circ$ estão relacionados com os grupos Si-O-Si das folhas da argila cristalina. Já o pico $2\theta = 12,3^\circ$ está ligado aos óxidos hidratados de

Capítulo 3

cátions de sódio presentes entre as camadas da argila. As reflexões em $2\theta = 21,02^\circ$; $26,76^\circ$; $36,68^\circ$; $39,60^\circ$; $42,60^\circ$; $50,26^\circ$; $55,00^\circ$; $60,10^\circ$ referem-se ao quartzo (YE *et al.*, 2006; CHEN *et al.*, 2008; XAVIER *et al.*, 2014; XAVIER *et al.* 2016). Os altos teores de quartzo são característicos da palygorskita de Guadalupe - PI. Após, a Pal *in natura* passar por processos de tratamento químico e físico, houve a diminuição da intensidade desses picos e consequente diminuição de teores de quartzo na Pal purificada, além da, presença de outras impurezas, o que foi também, comprovado pelas análises de EDS da Pal *in natura* e da Pal purificada.

Os picos presentes no nanocompósito de Pal/AgNPs/GC (Figura 7c) são evidentes e quase que idênticos aos picos da Pal *in natura* e da Pal purificada com pequenos deslocamentos. O que demonstra que a estrutura da palygorskita foi preservada após a sua modificação com as AgNPs. Entretanto, houve uma pequena diminuição do perfil cristalino da Pal com a incorporação da AgNPs, o que pode ser evidenciado pela diminuição da intensidade de alguns picos característicos da Pal.

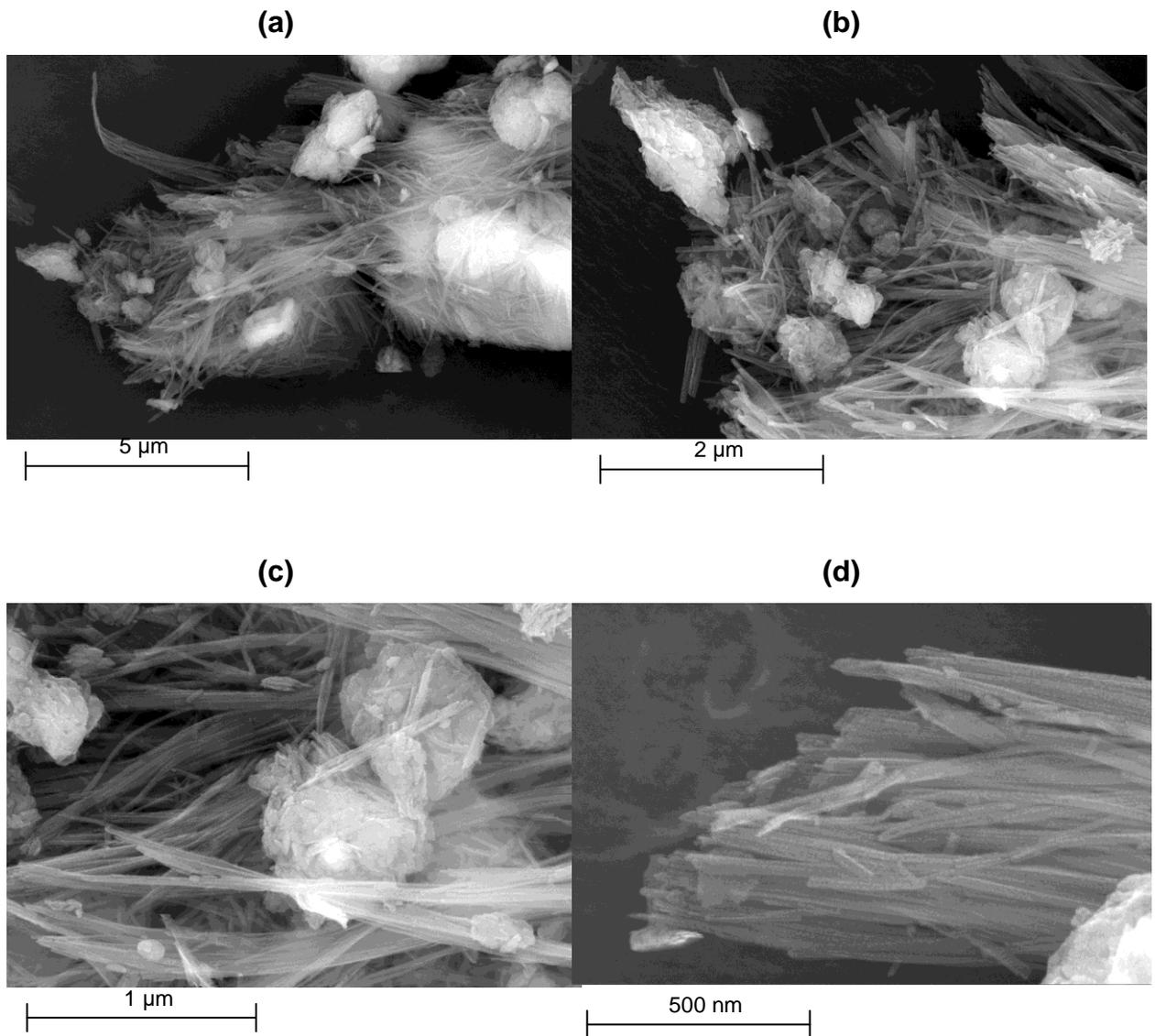
A presença das AgNPs na Pal foi verificado pelo aparecimento de duas novas reflexões em $2\theta = 38,1^\circ$ (111) e $44,2^\circ$ (200) que correspondem aos cristais cúbicos de face centrada da prata, de acordo com a ficha cristalográfica JCPDS N°. 04-0783. O que demonstra que a síntese do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foi bem sucedida e corrobora com os resultados das imagens de TEM do nanocompósito.

3.2.2 Microscopias eletrônicas

3.2.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios - X (EDS) da Pal *in natura* e da Pal purificada

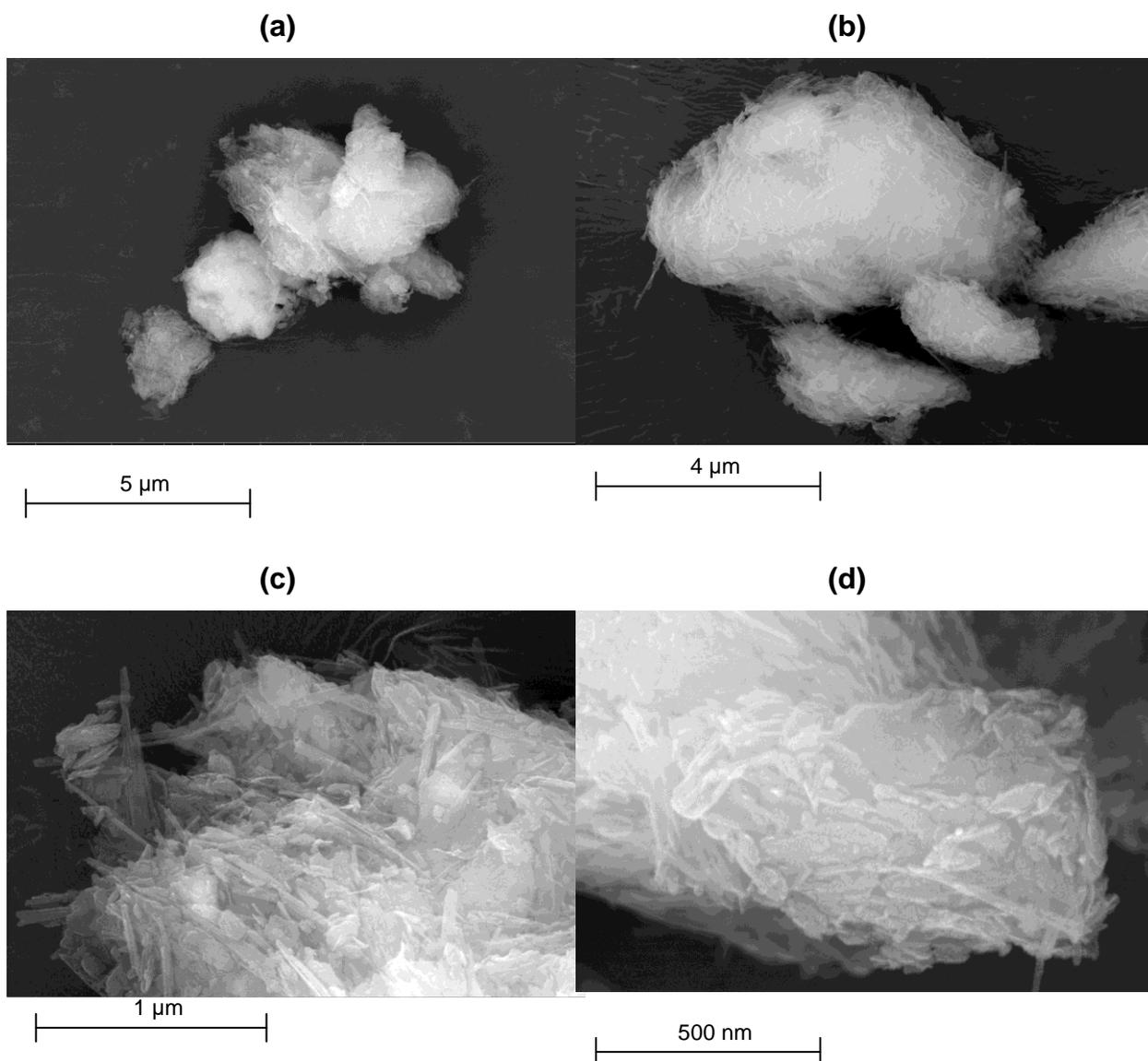
A técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) produz imagens (micrografias) superficiais em altas resoluções, com a função de investigar a estrutura superficial da amostra analisada. Esta técnica foi utilizada para avaliar a superfície das Pal *in natura* e da Pal purificada após os tratamentos físicos e químicos. As imagens da Pal *in natura* e da Pal purificada estão representadas na Figura 9 e Figura 10, respectivamente.

Figura 8 - Imagens obtidas por MEV da Pal *in natura* com as seguintes magnitudes de ampliação: (a) 20.000x; (b) 50.000x; (c) 100.000x; (d) 200.000x.



Fonte: Autoria Própria, 2019.

Figura 9 - Imagens obtidas por MEV da Pal purificada com as seguintes magnitudes de ampliação: (a) 20.000x; (b) 30.000x; (c) 100.000x; (d) 200.000x.



Fonte: Autoria Própria, 2019.

As imagens fornecem informações sobre a morfologia superficial da Pal, apresentando-se em forma de fibras e com formação de aglomerados de fibras, além de, seus comprimentos. Pelas imagens verifica-se que a Pal possui morfologia fibrosa e pode apresentar-se como aglomerados de fitas e agulhas com tamanhos variados, tais resultados estão de acordo com trabalhos já descritos na literatura,

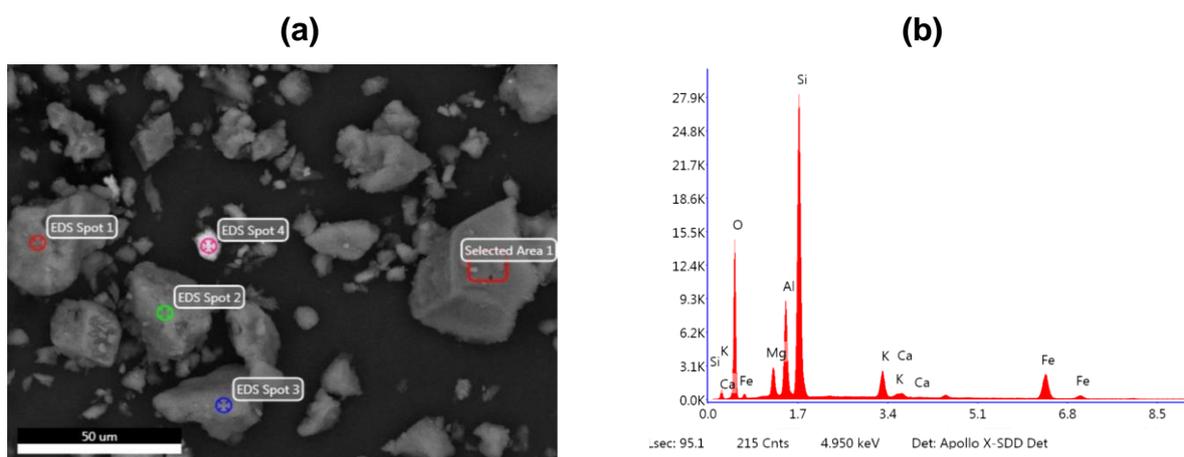
Capítulo 3

como pesquisas Gan e colaboradores (2009), de Frost e colaboradores (2010), Chang e colaboradores (2011) e Xavier e colaboradores (2012).

Pelas imagens é possível observar que tanto a Pal *in natura* quanto a Pal purificada apresentaram morfologia fibrosa, sendo estas fibras bastante aglomeradas. À medida que as micrografias são ampliadas fica mais nítida a visualização dos aglomerados de fibras. Possíveis explicações para esta aglomeração podem estar associadas a possíveis impurezas e matéria orgânica ainda presentes na argila ou em virtude do processo de desidratação na secagem da Pal (FAN *et al.*, 2011). A Pal purificada apresentou pouca diferença em sua morfologia, mantendo a tendência à formação de aglomerados e distribuição irregulares de suas fibras.

Para identificar os elementos químicos e possíveis redução de impurezas na Pal após os tratamentos físicos e químicos, outra técnica utilizada foi a Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios - X (EDS), que é uma análise semi-quantitativa, não destrutiva e permite identificar os elementos presentes em uma amostra, bem como, identificar a proporção (concentração) desses elementos. Para a Pal *in natura* os elementos estão apresentados na Figura 10 e Tabela 1. Já para a Pal purificada os elementos encontram-se na Figura 11 e Tabela 2 a seguir.

Figura 10 - (a) Imagem da Pal *in natura* e (b) Espectro de EDS da Pal *in natura*.

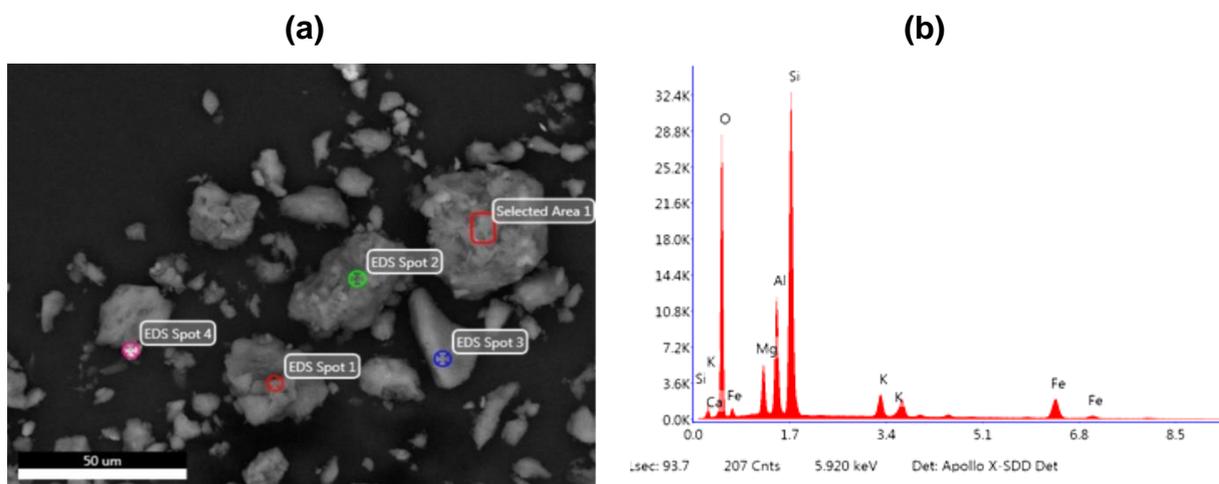


Fonte: Autoria Própria, 2019.

Tabela 1 - Elementos presentes na estrutura da Pal *in natura* obtidos por EDS.

Palygorskita <i>in natura</i>			
Elementos	% massa	% atômica	% erro
Oxigênio	45,5	61,3	8,3
Magnésio	3,3	3,0	7,7
Alumínio	9,6	7,6	5,9
Silício	27,0	22,1	5,2
Potássio	3,5	1,9	3,7
Ferro	7,9	3,1	2,2
Cálcio	3,2	1,0	3,9

Fonte: Autoria Própria, 2019.

Figura 11 - (a) Imagem da Pal purificada e (b) Espectro de EDS da Pal purificada.

Fonte: Autoria Própria, 2019.

Tabela 2 - Elementos presentes na estrutura da Pal purificada obtidos por EDS.

Palygorskita purificada			
Elementos	% massa	% atômica	% erro
Oxigênio	54,4	68,7	7,8
Magnésio	4,6	3,8	7,3
Alumínio	9,0	6,8	5,9
Silício	23,7	17,8	5,2
Potássio	2,0	1,0	3,9
Ferro	4,4	1,6	2,6
Cálcio	0,6	0,3	4,1

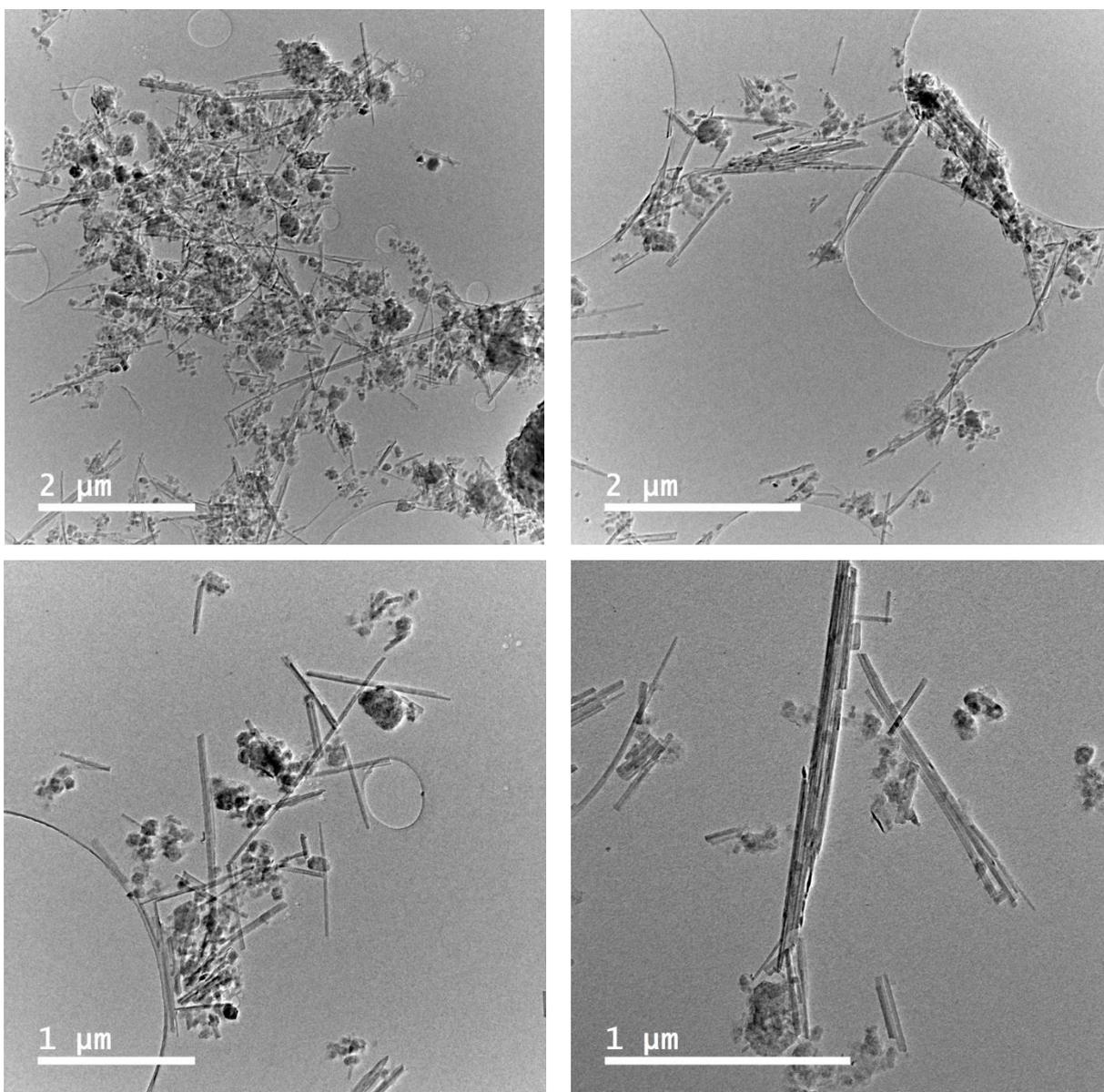
Fonte: Aatoria Própria, 2019.

Pelos resultados é possível observar a presença dos principais elementos constituintes da palygorskita (Si, O, Mg e Al) e de impurezas como K e Ca em pequenas concentrações. Com os processos de purificação dessa argila houve diminuição dos picos característicos dessas impurezas. Bem como, o aumento da intensidade dos picos referentes ao O e Mg. A técnica de EDS mesmo sendo uma análise semi-qualitativa foi possível observar que o processo de purificação da argila foi eficaz na diminuição de impurezas presentes na Pal *in natura*.

3.2.2.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) do nanocompósito Pal/AgNPs/GC

As imagens de TEM do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC são mostradas na Figura 12.

Figura 12 – Imagens de TEM do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.



Fonte: Autoria Própria, 2019.

Capítulo 3

Pode-se observar que após a síntese do nanocompósito, partículas esféricas pequenas apareceram na superfície das fibras da palygorskita. Verifica-se que boa parte das nanopartículas de prata estão adsorvidas nas fibras da Pal. Essa evidência corrobora com os dados de DRX, FTIR e análises térmicas, que demonstram que houve interações entre a Pal e as AgNPs. Os resultados obtidos evidenciam que houve a modificação superficial da Pal pelas AgNPs.

3.2.3 Área Superficial Específica (S_{BET})

Os resultados da área superficial da Pal *in natura*, da Pal purificada e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram obtidos através da técnica adsorção/dessorção de nitrogênio usando o método de BET, conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Valores da área superficial específica da Pal *in natura*, Pal purificada e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.

Amostras	Área superficial específica (m^2/g)
Pal <i>in natura</i>	106,3
Pal purificada	118,5
Pal/AgNPs/GC	69,4

Fonte: Autoria Própria, 2019.

Observou-se que após a Pal *in natura* passar pelos processos de tratamento físicos e químicos houve o aumento da área superficial de 106,3 m^2/g para 118,5 m^2/g na Pal purificada. Possíveis explicações para esse aumento no valor da área superficial da Pal podem estar relacionadas com a diminuição de impurezas como quartzo, carbonatos, matéria orgânica e outros, o contribuiu para o aumento da área superficial, o que foi comprovado pelas análises de DRX e EDS.

A combinação de microcristais na estrutura da Pal, bem como, de sua morfologia fibrilar e granulometria fina conferem a Pal uma elevada área superficial específica. A Pal proveniente da região de Guadalupe-PI apresenta Área superficial específica em torno de 113 m^2/g (XAVIER *et al.*, 2012).

Capítulo 3

O aumento da área superficial pode estar relacionado à limpeza dos canais, bem como, a eliminação de impurezas agregadas como carbonatos, quartzo, mica, esmectitas e feldspatos (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Os tratamentos físicos e químicos realizados na Pal além de terem contribuindo para o aumento da área superficial manteve a estrutura da argila e seu aspecto fibroso, que é característica desse grupo de argilas. Ocorre à desagregação das partículas de palygorskita, levando a formação de mais espaços disponíveis para a adsorção de nitrogênio (KOMADEL, 2016; ZHU *et al.*, 2018).

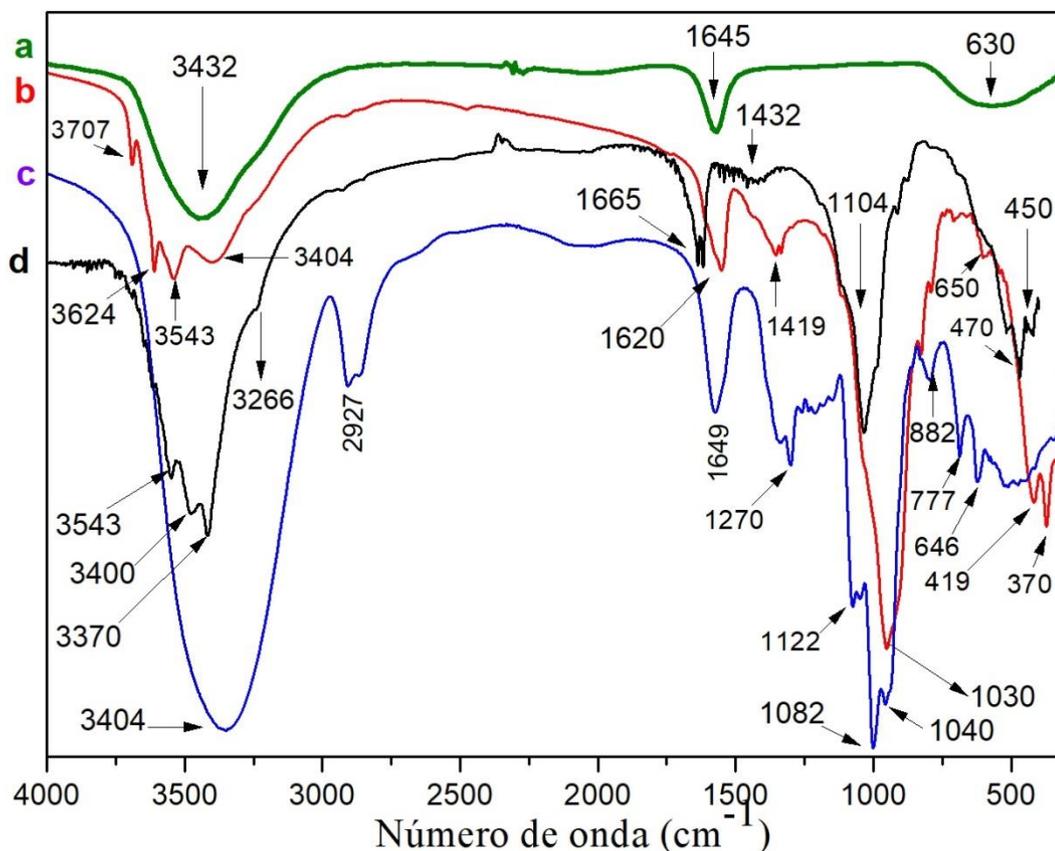
Com relação ao nanocompósito de Pal/AgNPs/GC houve uma grande diminuição de sua área superficial se comparada a da Pal *in natura* e a Pal purificada. Uma possível explicação para esse fato, diz respeito, as AgNPs que se encontram na superfície da Pal, impedirem a entrada de moléculas de nitrogênio nos poros da palygorskita (YILMAZ; YAPAR, 2004). Conforme, imagens de TEM do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.

3.2.4 Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR detecta as vibrações de ligações das moléculas quando estas são irradiadas, tais vibrações produzem “bandas” que são características de cada ligação. Os resultados da FTIR das AgNPs, do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC, da Goma de Cajueiro (GC) e da Pal estão representados na Figura 13.

Capítulo 3

Figura 13 - Espectros de FTIR (a) das AgNPs via síntese verde, (b) do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC, (c) da Goma de Cajueiro (GC) e (d) da Pal.



Fonte: Autoria Própria, 2019.

No espectro de FTIR da Goma de Cajueiro (Figura 12c) observa-se o aparecimento de uma banda larga em 3404 cm^{-1} que pode ser atribuída às vibrações de estiramento das ligações O–H dos grupos hidroxilas delimitadas pelas interações do tipo pontes de hidrogênio (MOURA, 2009) essa mesma banda aparece no espectro das AgNPs (Figura 12a) com um pequeno deslocamento e diminuição de intensidade. Uma segunda banda de absorção fraca aparece em 2927 cm^{-1} que corresponde às vibrações de estiramento das ligações C–H (QUELEMES *et al.*, 2017). Outra banda de absorção pode ser visualizada em 1649 cm^{-1} pode ser atribuída à vibração de deformação angular no plano de O–H das unidades de monossacarídeos (galactose, glicose, ácido glucorônico, ramnose e arabinose) presentes na goma de cajueiro e/ou das águas presentes na estrutura da goma de cajueiro (GANNIMANI *et al.*, 2015; ABREU *et al.*, 2012; PITOMBEIRA *et al.*, 2015), tal banda também aparece no espectro das AgNPs com um pequeno deslocamento

Capítulo 3

(1645 cm^{-1}). A banda em 1270 cm^{-1} é atribuída ao estiramento do grupo C-O dos ácidos carboxílicos ligados ao anel aromático. As bandas em 1040, 1082 e 1122 cm^{-1} são atribuídas às ligações glicosídicas C-O-C, além de ligações O-H dos álcoois (OLIVEIRA *et al.*, 2019). As bandas de 777 cm^{-1} e 646 cm^{-1} correspondem às deformações fora do plano dos grupos OH. O espectro das AgNPs reduzidas e estabilizadas pela GC mostrou alterações na área abaixo de 1300 cm^{-1} , quando comparadas apenas ao espectro da goma de cajueiro, esse fato sugeri que a interação entre as nanopartículas de prata e a goma foi principalmente através dos grupos OH, como pode ser observado nas bandas de 777 cm^{-1} e 646 cm^{-1} (QUELEMES *et al.*, 2013).

A Figura 13d mostra o espectro de FTIR da Pal, onde observa-se que as ligações presentes na estrutura cristalina da Pal dizem respeito aos três tipos de interações entre a água e a estrutura da Pal, sendo elas, a água de coordenação ou cristalina que liga os íons de magnésio as hidroxilas presentes na folha octaédrica, a água zeolítica localizada nos canais que interage com a água coordenada e a folha octaédrica e a água adsorvida fisicamente na superfície da argila (GIONIS *et al.*, 2006). As bandas que aparecem em 3543 cm^{-1} , 3400 cm^{-1} e 3370 cm^{-1} são atribuídas às moléculas de água presente nas posições terminais das folhas octaédricas (águas coordenadas) e as moléculas de águas presentes nos canais da palygorskita (águas zeolíticas). Estas bandas são atribuídas também ao estiramento da OH nos grupos Al – Mg – OH ou Al – Fe⁺³ – OH (LIU *et al.*, 2012; CARAZO *et al.*, 2017).

A banda observada em 1655 cm^{-1} é atribuída à deformação de águas zeolíticas, adsorvidas e coordenadas (SUAREZ; GARCÍA-ROMERO, 2006). A banda em 1104 cm^{-1} diz respeito a vibração de estiramento da ligação Si-O na folha tetraédrica (ZHANG *et al.*, 2015; RUSMIN *et al.*, 2016). As bandas em 450 cm^{-1} e 470 cm^{-1} dizem respeito às vibrações de estiramento Al-O, relacionado às vibrações de deformação do (O-Si-O) na folha tetraédrica (YAN *et al.* 2012).

Já a Figura 13b mostra as bandas do nanocompósito (Pal/AgNPs/GC), onde observa-se a diminuição de intensidade, deslocamento e o aparecimento de bandas se comparadas com os espectros da Pal e das AgNPs individualmente. Na região entre 3624 a 3404 cm^{-1} pode-se observar a diminuição da intensidade das bandas de estiramento dos grupos O-H que podem ser atribuídas as interações intermoleculares entre os grupos hidroxilas ligadas aos metais (Fe, Al e Mg)

Capítulo 3

presentes na estrutura da Pal com os grupos O–H das unidades de monossacarídeos presentes na goma de cajueiro, sugerindo que houve a formação do nanocompósito Pal/AgNPs/GC.

Ainda de acordo com o espectro de FTIR do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC é observado o surgimento de duas novas bandas. A primeira banda em 3707 cm^{-1} que pode ser atribuída às vibrações associadas ao estiramento da hidroxila ligada ao sílcio da folha tetraédrica, a O–H ligada aos metais da argila (Al, Fe e Mg) e hidroxilas de águas adsorvidas e zeolíticas. Já a segunda banda aparece em 650 cm^{-1} que pode estar relacionada à vibração de estiramento da ligação de moléculas de águas zeolíticas e adsorvidas no metal de Mg na folha octaédrica na região das extremidades dos canais (AKYUZ; AKYUZ; AKALIN; 2010; CAI; XUE; POLYA, 2007; YAN *et al.*, 2013).

Esses fatos evidenciam que houve a interação das nanopartículas de prata com a palygorskita corroborando com os resultados de DRX, Área superficial e TEM do nanocompósito Pal/AgNPs/GC.

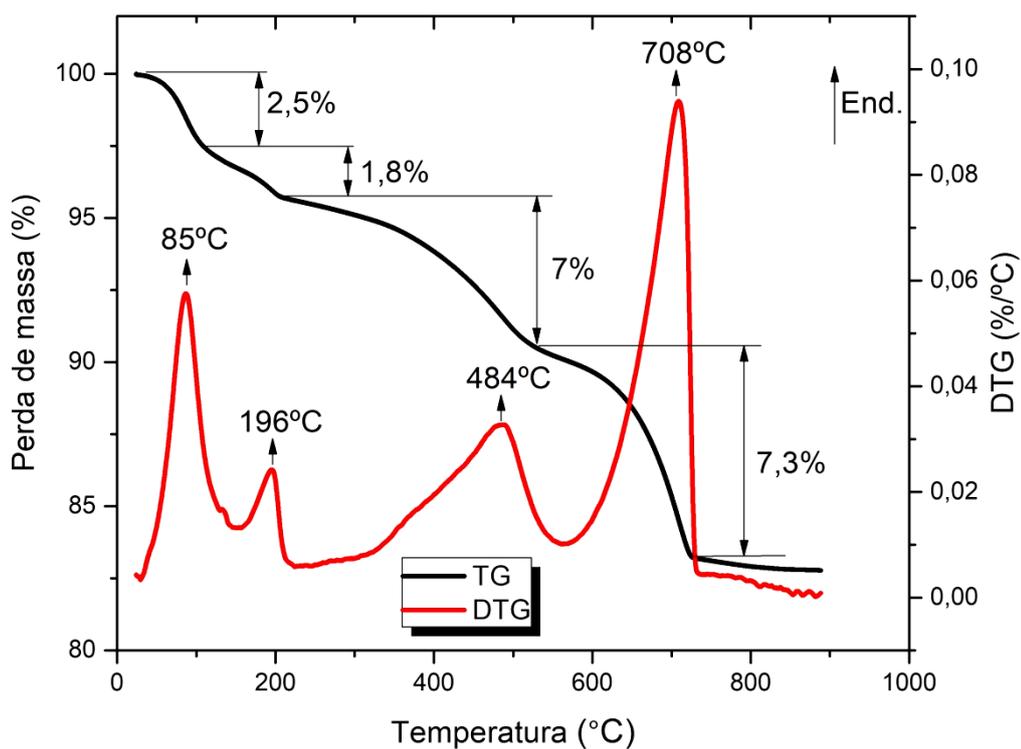
3.2.5 Análises Térmicas

3.2.5.1 Análise Termogravimétrica/Análise Termogravimétrica Derivada (TG/DTG)

As curvas de Análise Termogravimétrica (TG) e Termogravimetria Derivada (DTG) mostram informações sobre o comportamento térmico das amostras no processo de perda de massa.

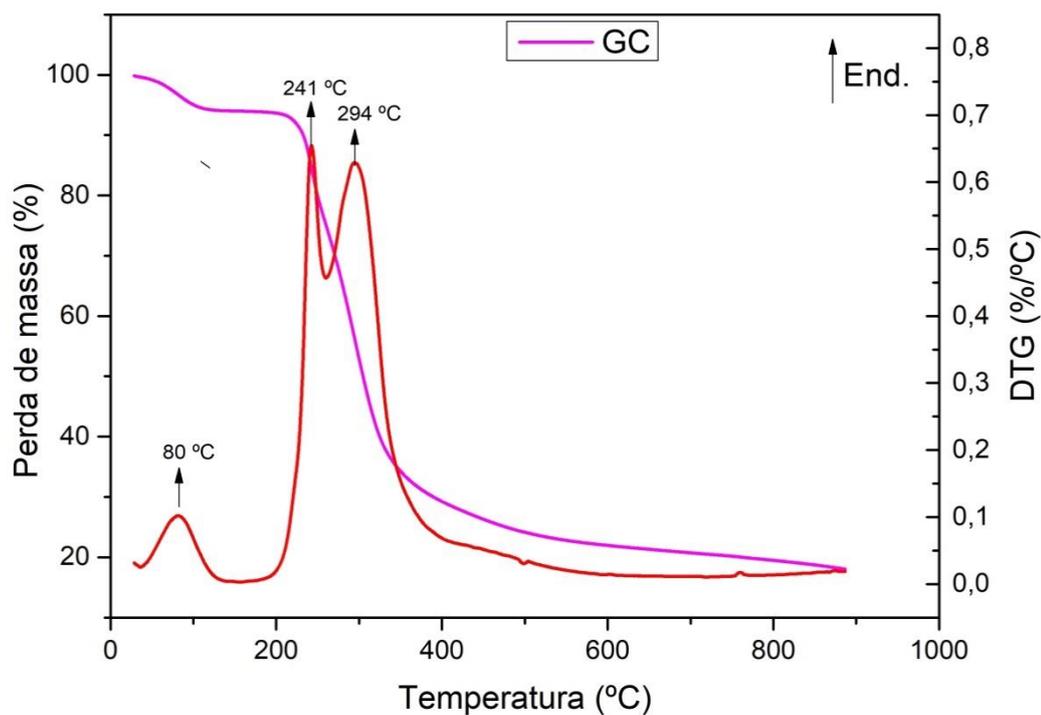
As Figuras 14, 15 e 16 mostram as curvas TG/DTG da palygorskita, da Goma de Cajueiro e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC, respectivamente.

Figura 14 - Curvas TG/DTG da Palygorskita.

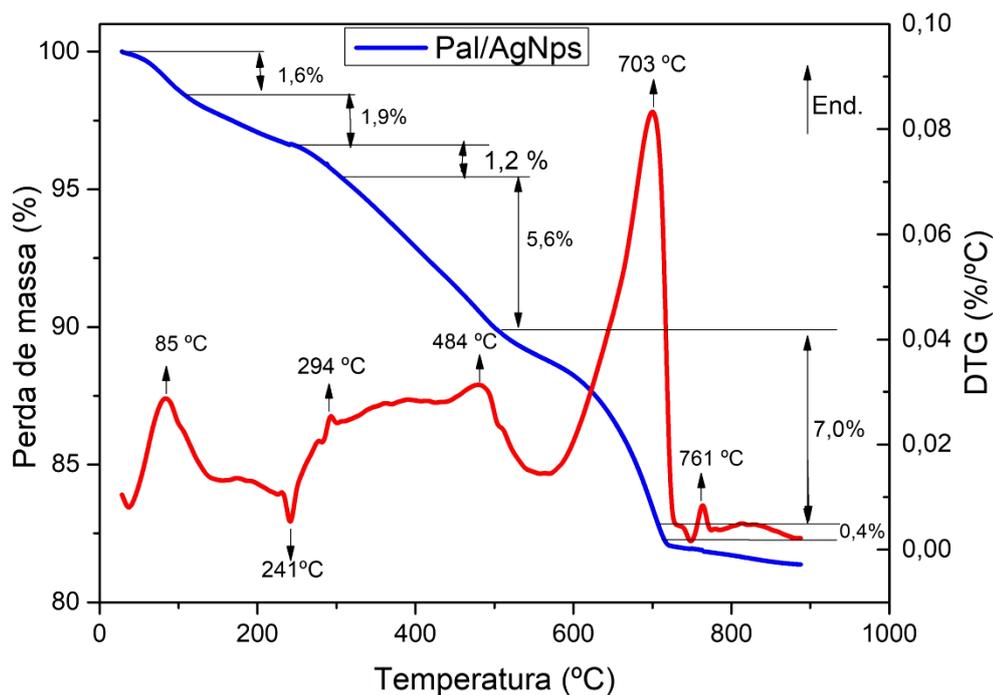


Fonte: Autoria Própria, 2019.

Figura 15 - Curvas TG/DTG da Goma de cajueiro (GC).



Fonte: Autoria Própria, 2019.

Figura 16 - Curvas TG/DTG do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.

Fonte: Autoria Própria, 2019.

Na curva TG/DTG da Pal são observadas quatro perdas de massa principais: a primeira perda de massa de 2,5% ocorreu com a temperatura inicial (T_i) de 25,86 °C, temperatura final (T_f) de 107,37 °C e temperatura máxima (T_m) de 85 °C, que corresponde à perda de moléculas de água fisicamente adsorvidas e uma parte de água zeolítica (localizada nos canais da Pal). A segunda perda de massa de 1,8% ocorreu na temperatura inicial (T_i) de 113,1 °C, temperatura final (T_f) de 204,2 °C e temperatura máxima (T_m) de 196 °C que corresponde à desidratação térmica do restante da água zeolítica da camada estrutural da Paligorskita. A terceira perda de massa de 7% ocorreu com temperatura inicial (T_i) de 206,0 °C, temperatura final (T_f) de 519,2 °C e temperatura máxima (T_m) de 484 °C, que é atribuída a perdas de águas de coordenação ligadas aos íons da folha octaédrica da Pal e hidroxilas estruturais, bem como a condensação dos grupos silanol e aluminol (LIU *et al.*, 2013; OGORODOVA *et al.*, 2015).

A quarta perda de massa de 7,3 % com temperatura inicial (T_i) de 529,1 °C, temperatura final (T_f) de 797,4 °C e temperatura máxima (T_m) de 708 °C, que pode

Capítulo 3

ser atribuída a processos de desidroxilação de grupos Mg-OH da Pal (BOUDRICHE *et al.*, 2012). Nessa faixa de temperatura a eliminação de moléculas de água é acompanhada por uma destruição parcial da estrutura da Pal (PREISINGER, 1963). Outro ponto, a ser considerado na quarta perda de massa é a liberação de hidróxido de carbono, por que acima de 500 °C, os carbonatos presentes na Palygorskita são termicamente instáveis e sua decomposição libera CO₂ (KHORAMI, J.; LEMIEUX, A., 1989; VISERAS; LOPEZ-GALINDO, 1999; FROST; DING, 2003).

No entanto, em estudos com a Paligorskita extraída de diferentes regiões, sugerem que o comportamento térmico está relacionado não apenas com as propriedades físico-químicas da Pal, mas também pela sua origem e quantidade de impurezas (CHENG *et al.*, 2011).

Já a curva TG/DTG do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC apresenta seis perdas de massas. A primeira perda de massa de 1,6% ocorreu com a temperatura inicial (T_i) de 30 °C, temperatura final (T_f) de 112 °C e temperatura máxima (T_m) de 85 °C, essa perda de massa é atribuída à perda de moléculas fisicamente adsorvidas na superfície da Pal e uma parte da água zeolítica. A segunda e a terceira perda de massa de 1,9% e 1,2% da Pal/AgNPs/GC ocorrem com T_i de 117 °C e 245 °C, T_f de 245 °C e 302 °C e T_m de 241 °C e 294 °C respectivamente, que são atribuídas à decomposição da Goma de cajueiro (GC) (Figura 16), provavelmente devido à despolimerização com formação de água, CO e CH₄ (ZOHURIAAN; SHOKROLAHI, 2004; SILVA *et al.*, 2007). Além de, ter ocorrido à mudança de processo endotérmico para processo exotérmico na temperatura de 241 °C na curva TG/DTG do nanocompósito, sugerindo interações da GC com as AgNPs. Já que, no processo de síntese verde do nanocompósito (Pal/AgNPs/GC), as AgNPs foram reduzidas e/ou estabilizadas com polissacarídeos da GC, o que foi comprovado pelos resultados de potencial zeta.

A quarta perda de massa de 5,6% do nanocompósito ocorreu na T_i de 302 °C, T_f de 519 °C e T_m de 484 °C, equivalente à mesma temperatura máxima apresentada pela curva TG da Pal, que está relacionada à perda de moléculas de água de coordenação e condensação de grupos silanol e aluminol. A quinta perda de massa de 7,0%, ocorreu na T_i de 519 °C, T_f de 719 °C e T_m de 703 °C, sendo esse evento atribuído a desidroxilação de grupos Mg-OH, eliminação de moléculas de água e carbonatos, como descritos acima para a curva TG da Pal. Já a sexta perda de massa ocorreu na T_i de 745 °C, T_f de 783 °C e T_m de 761 °C. Sendo que,

Capítulo 3

os eventos que ocorrem a partir de 700 °C indicam a formação da fase cristalina tal como olivina (Mg_2SiO_4), espinélio ($MgAl_2O_4$), enstatita ($MgSiO_3$), silimanita (Al_2SiO_5) e cristobalita (SiO_2) (BALTAR *et al.*, 2009).

A Tabela 4 mostra todos os eventos ocorridos na TG/DTG da Pal e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.

Tabela 4 - Relação dos eventos TG/DTG da Pal e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.

C	Evento Térmico	Temperatura (°C)			Perda de massa (%)	Massa Residual Total (%)
		T _i	T _m	T _f		
Pal	1º	25,86	85	107,37	2,5	
	2º	113,1	196	204,2	1,8	
	3º	206,0	484	519,2	7,0	81,4
	4º	529,1	708	797,4	7,3	
GC	1º	28,19	80	112,8	5,6	
	2º	201,6	241	256,4	16,8	73,1
	3º	259,3	294	343,8	40,5	
Pal/AgNPs/ GC	1º	30	85	112	1,6	
	2º	117	241	245	1,9	
	3º	245	294	302	1,2	
	4º	302	484	519	5,6	82,3
	5º	519	703	719	7,0	
	6º	745	761	783	0,4	

T_i: Temperatura inicial; T_m: temperatura máxima; T_f: Temperatura final.

Fonte: Autoria própria, 2019.

Todos os valores de Temperatura inicial (T_i), Temperatura final (T_f) e perda de massa do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram menores que os valores obtidos da Pal sozinha. Tais resultados comprovam que além, da formação do nanocompósito, houve a melhora na estabilidade térmica do novo material com sua

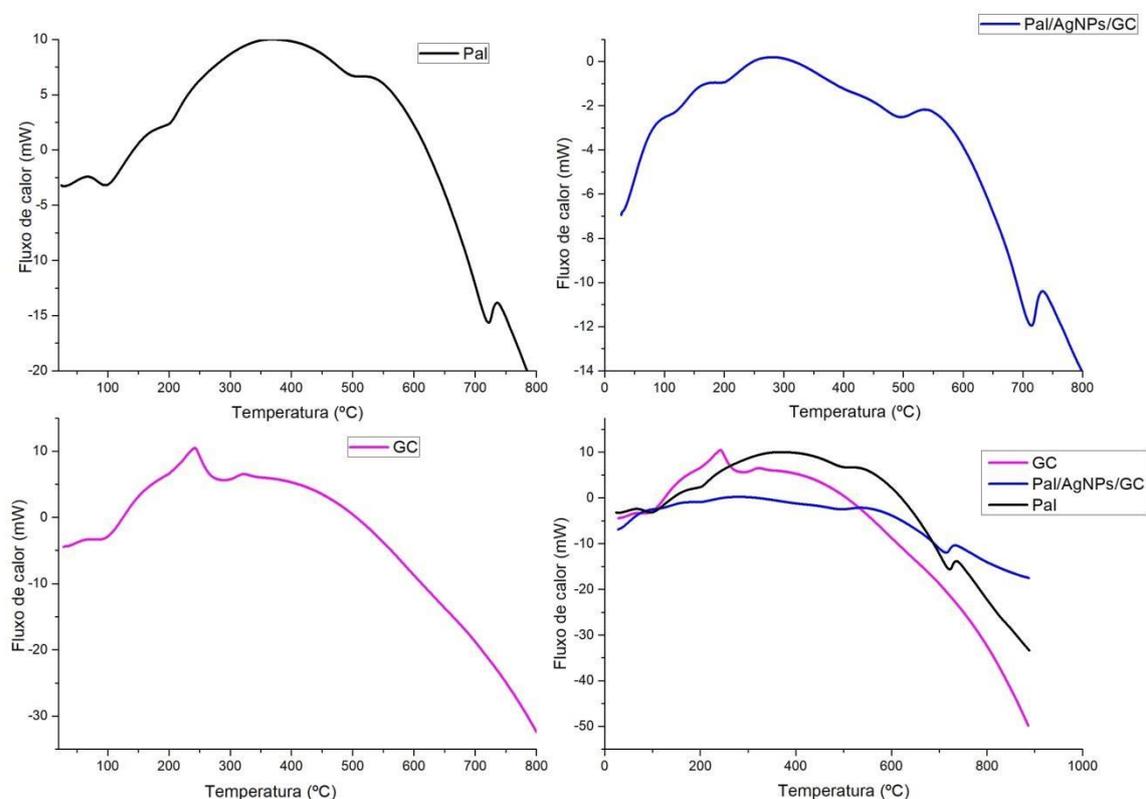
Capítulo 3

modificação com as nanopartículas de prata. Vista que, todos os eventos de perda de massa do nanocompósito obtido começaram com temperaturas superiores aos eventos ocorridos na Pal de forma sozinha. Além, das quantidades de perdas de massa utilizadas nos eventos forem menores para o nanocompósito, pois, no final da análise, a quantidade de massa residual total do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC que foi de 82,3%, foi superior ao da Pal sozinha que foi em torno de 81,4%.

3.2.5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) fornece informações sobre os processos químicos e físicos que envolvem variações de energia. A Figura 17 apresenta as curvas DSCs da Pal, do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC e da Goma de cajueiro.

Figura 17 - Curvas DSC da Pal, do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC e da Goma de cajueiro (GC).



Fonte: Autoria Própria, 2019.

A curva DSC da Pal apresenta quatro picos endotérmicos de baixa intensidade, sendo o primeiro observado entre 120 - 230 °C ($T_{\text{máx}} \approx 196$ °C), o segundo ocorre entre 230 - 526 °C ($T_{\text{máx}} \approx 484$ °C) e entre 566 - 756°C ($T_{\text{máx}} \approx 708$ °C). Tais picos corroboram com os resultados obtidos de perda de massa na curva TG/DTG da Pal.

Já a curva DSC do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC apresentou os quatro picos endotérmicos, descritos anteriormente na curva DSC da Pal, e mais dois picos referentes a GC, que ocorrem na faixa de temperatura de 117-245 °C e 245-302 °C, com temperatura máxima de 241°C e 294 °C, respectivamente, corroborando com os dados da TG/DTG da goma de cajueiro.

3.3 Propriedades antibacterianas da Pal, das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC

Um dos grandes problemas enfrentados na área da saúde pública nos últimos anos, diz respeito ao aumento da resistência de bactérias a produtos bactericidas e antibióticos devido ao desenvolvimento de cepas resistentes (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004).

Assim, vários são os esforços no desenvolvimento de pesquisas para a produção de novos agentes bactericidas. Com isso, as nanopartículas vêm sendo amplamente utilizadas como agentes antibacterianos, como por exemplo, as nanopartículas metálicas, que surgem como alternativas mais eficientes se comparadas ao arsenal de antibióticos convencionais (AHMED; RAMAN; VEERAPPAN, 2016).

Na Tabela 5 são apresentados os testes antibacterianos da Pal, das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC contra cepas de bactérias gram-negativas do tipo *Escherichia coli* (*E. coli*) e bactérias Gram-positivas do tipo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) testadas pelo método de contato direto.

Tabela 5 - Efeito inibitório sobre o crescimento bacteriano pela Pal, AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC sobre cepas padrão do tipo *E. coli* (ATCC 25922) e *S. aureus* (ATCC 25923).

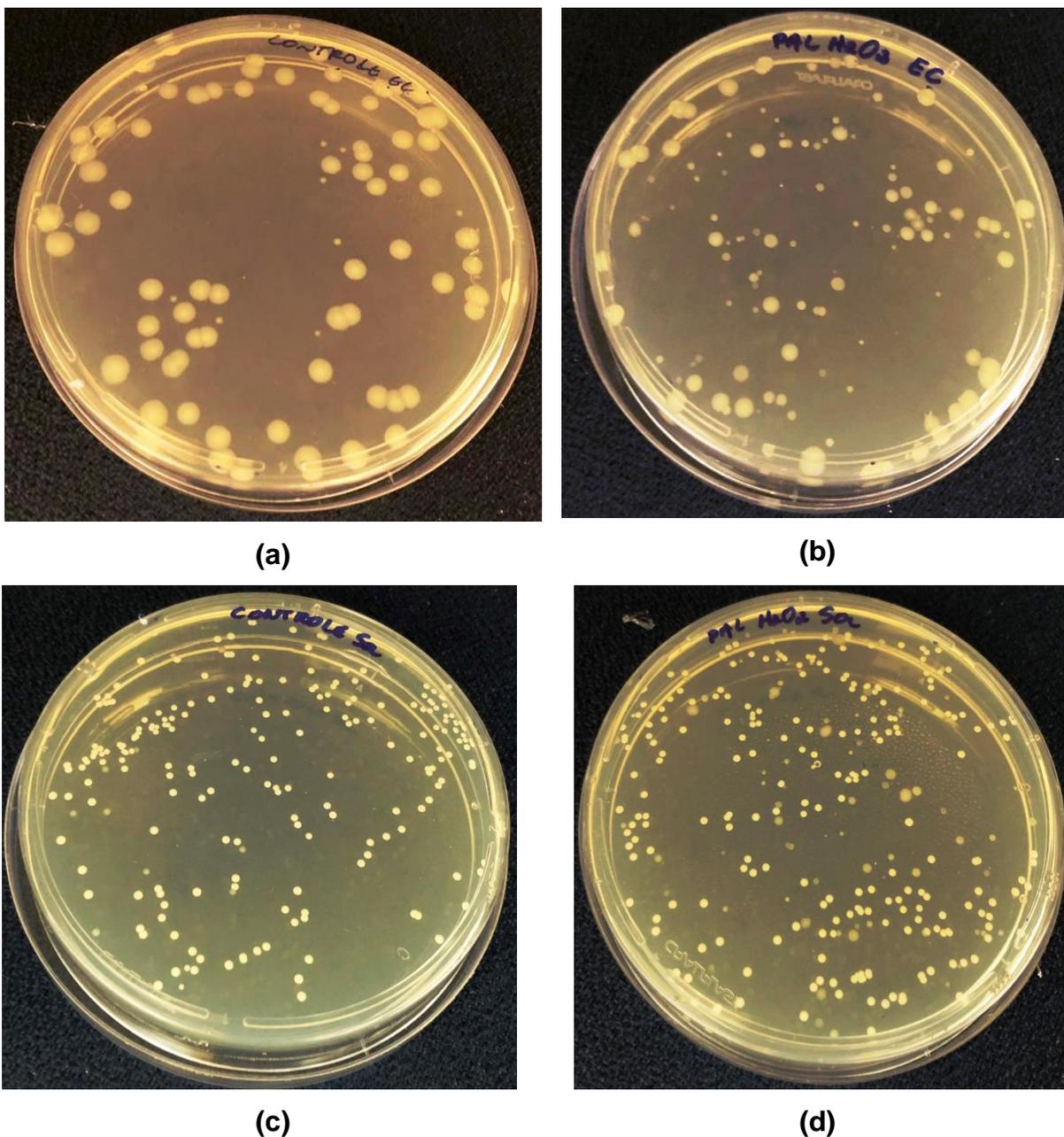
Amostras	Efeito inibitório (%)	
	<i>E.coli</i> (UFC/mL – %)	<i>S. aureus</i> (UFC/mL - %)
Solução Salina	0,0	0,0
Pal	0,0	0,0
AgNPs	64,7 ± 1,23	43,1 ± 0,82
Pal/AgNPs/GC	70,2 ± 1,34	85,3 ± 1,62

Fonte: Autoria própria, 2019.

Os resultados apresentados na Tabela 5 mostram que nenhuma atividade antibacteriana foi observada nos materiais que não possuíam as nanopartículas de prata em sua composição, como foi o caso do controle (solução salina) e da palygorskita. Desta forma, acredita-se que a atividade antibacteriana está relacionada a presença das nanopartículas de prata no compósito.

A Figura 18 mostra os testes antibacterianos da palygorskita contra bactérias do tipo *E. coli* e *S. aureus*. A Pal não apresentou nenhum efeito antibacteriano, além também, de apresentar o surgimento de algumas colônias de bactérias. Esses fatos podem estar relacionados com os processos físicos e químicos utilizados no tratamento de purificação da palygorskita, bem como, a existência de possíveis impurezas que não foram removidas totalmente durante o processo de purificação, o que levou a um ambiente propício para a formação de novas colônias de bactérias do tipo *E. coli* e *S. aureus*.

Figura 18 - (a) Cepa padrão da bactéria *E. coli* (ATCC 25.922), (b) Efeito inibitório da Pal frente à cepa padrão da bactéria *E. coli*, (c) Cepa padrão da bactéria *S. aureus* (ATCC 25.923) e (d) Efeito inibitório da Pal frente à cepa padrão da bactéria *S. aureus*.

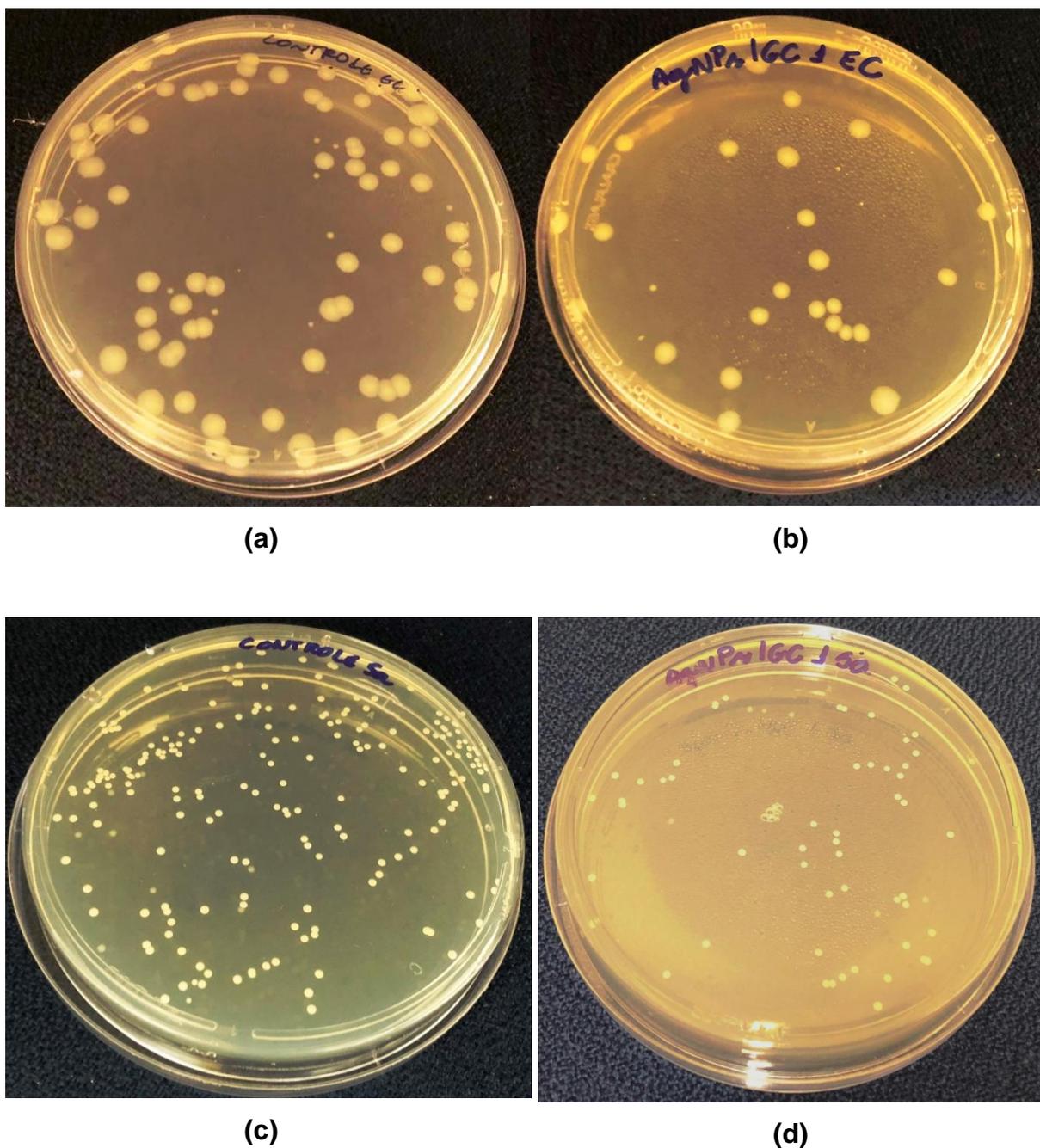


Fonte: Autoria própria, 2019.

Capítulo 3

Já a Figura 19 mostra os testes antibacterianos das AgNPs contra bactérias do tipo *E. coli* e *S. aureus*.

Figura 19 - (a) Cepa padrão da bactéria *E. coli* (ATCC 25.922), (b) Efeito inibitório das nanopartículas de prata (AgNPs) frente à cepa padrão da bactéria *E. coli* (c) Cepa padrão da bactéria *S. aureus* (ATCC 25.923) e (d) Efeito inibitório das AgNPs frente à cepa padrão da bactéria *S. aureus*.



Fonte: Autoria própria, 2019.

Capítulo 3

Utilizando apenas as AgNPs, estas apresentaram atividade antibacteriana para ambos os microrganismos testados, sendo o efeito inibitório de 64,7% ($\pm 1,23$) para *E. coli* e 43,1% ($\pm 0,82$) para *S. aureus*, de acordo com a Figura 19. Tais resultados comprovam que houve atividade antibacteriana das AgNPs via síntese verde utilizando a goma de cajueiro como agente redutor e/ou estabilizante e podem ser justificados com relação à parede celular das bactérias. Pois, o principal constituinte da parede celular de microrganismos é o peptidoglicano e este possui uma estrutura polimérica constituída por açúcares e aminoácidos que rodeiam a membrana plasmática (MOREIRA *et al.*, 2015).

As bactérias Gram-positivas, como por exemplo, a *S. aureus*, apresentam uma parede celular mais espessa se comparadas com a parede celular das bactérias Gram-negativas, como por exemplo, a *E. coli*. Dessa forma, a parede celular das bactérias Gram-positivas, como por exemplo, a *S. aureus*, apresentam uma proteção física maior, o que pode dificultar a ação das AgNPs em sua parede celular, se comparadas com a células das bactérias Gram-negativas, como a *E. coli*. (VENKATPURWAR; POKHARKAR, 2011).

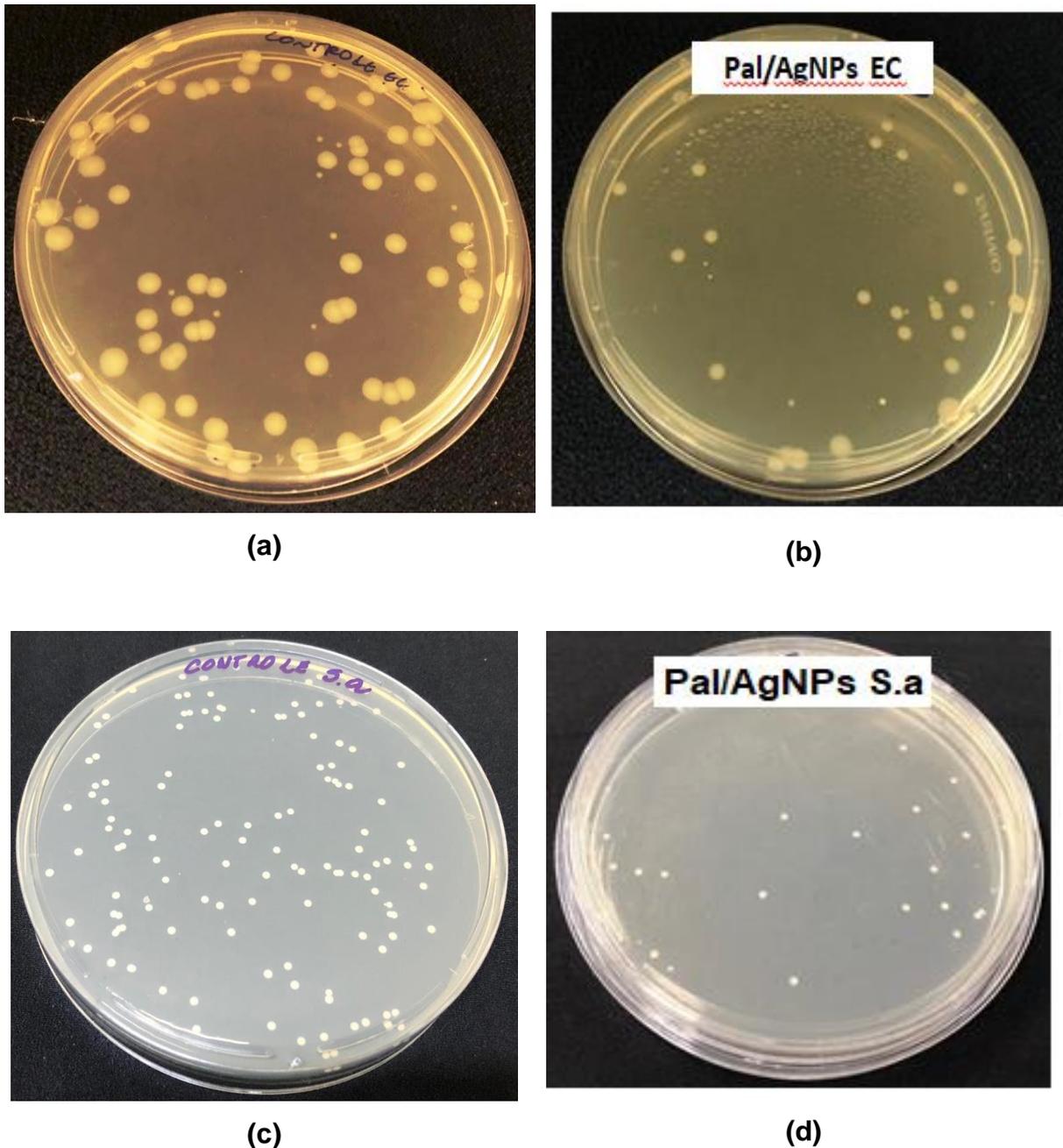
Assim, as bactérias do tipo Gram-negativas por apresentarem camadas finas de peptidoglicano, favorecem a ação das nanopartículas de prata na parede celular das bactérias de forma mais rápida, levando a inativação e/ou alteração da estrutura da proteína e conseqüentemente a morte celular (VENKATPURWAR; POKHARKAR, 2011).

A Figura 20 mostra os testes antibacterianos para o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC contra bactérias do tipo *E. coli* e *S. aureus*. Tais resultados mostraram que a incorporação das AgNPs na Pal, aumentou a atividade bactericida tanto da Pal como das AgNPs para ambos os microrganismos testados. Com um aumento de aproximadamente de 70,2% para a *E.coli* e 85,3% para a *S. aureus*. Já com relação às AgNPs esse aumento foi de 5,5% e 42,2% para a *E.coli* e *S. aureus*, respectivamente.

O efeito bactericida do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foi maior para as bactérias *S. aureus* (Gram-Positivas). Possíveis explicações para esse fato pode estar relacionado com a carga negativa adquirida pelo nanocompósito (Pal/AgNPs/GC) em solução.

Capítulo 3

Figura 20 - (a) Cepa padrão da bactéria *E. coli* (ATCC 25.922), (b) Efeito inibitório do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC frente à cepa padrão da bactéria *E. coli*, (c) Cepa padrão da bactéria *S. aureus* (ATCC 25.923) e (d) Efeito inibitório do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC frente à cepa padrão da bactéria *S. aureus*.



Fonte: Autoria própria, 2019.

A partir da análise de potencial zeta realizada pelo nanocompósito este apresentou o valor de -12,2 mV (pH = 6,7), apresentando uma carga superficial negativa em solução. Essa carga negativa, pode estar associada as hidroxilas livres provenientes da goma de cajueiro que pode ter favorecido uma maior interação

Capítulo 3

eletrostática com a parede celular das bactérias *S. aureus* (Gram-Positivas), causando mudanças estruturais e degradação, conseqüentemente, levando a morte celular da bactéria.

Mesmo as bactérias do tipo *S. aureus* terem uma parede celular mais espessa, o efeito de inibição do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC (85,3% \pm 1,62) foi quase o dobro do efeito de inibição das AgNPs (43,1% \pm 0,82) e maior que o efeito de inibição do nanocompósito contra bactérias do tipo *E. coli* (70,2% \pm 1,34).

Outra possível explicação para os valores maiores de inibição do efeito antibacteriano do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC em relação a Pal e as AgNPs, pode estar relacionado a alta área superficial e elevado poder de adsorção da Pal, que podem ter favorecido a adsorção das bactérias e conseqüentemente a ação das AgNPs, possibilitando uma maior superfície de contato entre as bactérias com as nanopartículas de prata.

Na literatura há relatos que mostram que a atração eletrostática entre células bacterianas negativamente carregadas e nanopartículas carregadas positivamente é crucial para a ação das nanopartículas como materiais bactericidas (STOIMENOV *et al.*, 2002; HAMOUDA; BAKER, 2000). No entanto, as nanopartículas de prata e o nanocompósito utilizados nesse estudo são negativamente carregados e ambos os materiais apresentaram efeito inibitório contra as duas cepas de bactérias testadas, as bactérias do tipo *E. coli* (Gram-negativas) e *S. aureus* (Gram-positivas).

Embora o mecanismo da interação entre nanomateriais e os constituintes da membrana externa de *E. coli* ainda não estejam totalmente resolvido, parece que, apesar de sua carga superficial negativa, os nanomateriais de alguma forma interagem com “elementos de construção” da membrana bacteriana, causando mudanças estruturais e degradação e, finalmente, a morte celular da bactéria (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004).

Assim, a interação das nanopartículas com a parede celular das bactérias, DNA e enzimas, podem resultar em um desequilíbrio no metabolismo celular, causando a indução do elevado nível de espécies reativas de oxigênio (ROS) e conseqüente morte das bactérias (QUINTEROS *et al.*, 2016).

Portanto, de todas as amostras analisadas, os maiores efeitos de inibição encontrados foram os do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC para as cepas de bactérias do tipo *E. coli* (Gram-negativas) e *S. aureus* (Gram-positivas). Confirmando que o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC é um material antibacteriano eficaz como

Capítulo 3

agente bacteriano e que este pode ser utilizado no combate tanto de bactérias Gram-negativas quanto de Gram-positivas. Sendo que seu efeito bactericida pode ser atribuído à elevada área superficial e alto poder de adsorção da palygorskita (SHAO *et al.*, 2017), bem como, as propriedades físico-químicas e antimicrobianas das nanopartículas de prata.

3.4 Ensaio de toxicidade com a espécie *Artemia salina* (*A. salina*)

O bioensaio com a *A. salina* é considerado útil para avaliações preliminares de toxicidade geral, sendo amplamente utilizado por este ser de baixo custo e rapidez (NUNES *et al.*, 2006). *A. salina* (família Artemidae) é um microcrustáceo de água salgada muito consumida por peixes e outros crustáceos em virtude de sua riqueza de proteínas, vitaminas e sais minerais. Os náuplios, que correspondem ao seu estágio larvar ou plactônico de *A. salina*, se reproduzem partogeneticamente e se adapta às mudanças ambientais de temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido. Seus ovos podem ser facilmente encontrados em lojas de piscicultura sendo bastante utilizados em bioensaios de toxicidade pela praticidade e simplicidade na análise (MEYER *et al.*, 1982).

Os resultados sobre a exposição de *Artemia salina* em diferentes concentrações de amostras de Pal e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados dos testes de toxicidade contra *A. salina* das amostras de Pal e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC realizados em triplicata.

Concentração	Número de Artemias Vivas			
	Pal		Pal/AgNPs/GC	
	t = 24 h	t = 48 h	t = 24 h	t = 48 h
Controle	10	10	10	10
0,1 mg/mL	10	9	10	9
0,5 mg/mL	10	9	10	9
1 mg/mL	10	9	10	9
5 mg/mL	10	9	10	9
10 mg/mL	10	9	10	9

Fonte: Autoria própria, 2019.

*Controle: Solução salina artificial.

Pela tabela pode-se verificar que não houve morte de nenhum náuplio nas primeiras 24 horas nas cinco concentrações testadas, tanto para a Pal quanto para o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC, assim, como também para o controle, ou seja, todas as larvas de *A. salina* sobreviveram nessas concentrações. Após 48 horas, houve a morte de apenas uma *A. salina* tanto para amostras de Pal quanto o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC.

Em virtude da elevada sobrevivência dos organismos expostos as amostras de Pal e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC não foi possível calcular o valor responsável pela mortalidade de 50% dos organismos, denominado de Dose Letal 50% (DL₅₀).

Assim, as amostras de Pal e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC não apresentaram toxicidade frente a *A. salina*, uma vez que a DL₅₀ > 10 mg/mL. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) são consideradas substâncias tóxicas aquelas que apresentam valores de DL₅₀ abaixo de 1000 ppm (em *A. salina* (MEYER *et al.*, 1982).

Portanto, o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC obtido a partir de síntese verde utilizando a Goma de Cajueiro pode ser considerado atóxico ou de baixíssima toxicidade, podendo ser utilizado como agente antibacteriano promissor em áreas biotecnológicas.

4 CONCLUSÃO

O presente estudo descreveu a síntese, caracterização e testes antibacterianos do nanocompósito de palygorskita/nanopartículas de prata (Pal/AgNPs/GC) via síntese verde utilizando polissacarídeos presentes na goma de cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) como agente redutor e/ou estabilizante no durante a síntese.

O processo de purificação da palygorskita foi confirmado pelas técnicas de DRX, MEV e EDS. Já a síntese das AgNPs foi confirmada pela mudança da coloração da solução coloidal para amarelo, UV-Vis, pela técnica de Espalhamento

Capítulo 3

de Luz Dinâmico (DLS) e TEM. O nanocompósito obtido de Pal/AgNPs/GC foi caracterizado através das análises de DRX, BET, FTIR, Análises Térmicas e TEM.

A atividade antibacteriana da Pal, das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram testadas contra cepas de bactérias do tipo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Escherichia coli* (*E. coli*). Tais resultados mostraram que o nanocompósito obtido apresentou os maiores efeitos de inibição tanto para as bactérias *S. aureus* (85,3%), quanto para as bactérias *E. coli* (70,2%). Assim, o efeito inibitório do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram mais eficazes do que os efeitos apresentados pela Pal e pelas AgNPs de individualmente.

O nanocompósito de Pal/AgNPs/GC não apresentou toxicidade contra a *Artemia Salina*, podendo ser considerado atóxico ou de baixíssima toxicidade. Sendo um agente antibacteriano promissor em áreas biotecnológicas.

Dessa forma, o método desenvolvido de síntese do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC mostrou-se eficiente e inovador, de modo que pode ser considerado uma alternativa simples, rápida, de baixo custo e uso de recursos naturais, podendo ser utilizado como agente antibacteriano promissor com grande potencial biotecnológico.

AGRADECIMENTOS

Aos autores, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro. A Universidade Federal do Piauí (UFPI) e o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI) por proporcionar condições de trabalho e pesquisa.

REFERÊNCIAS

ABREU, F. O. M. S. *et al.* Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, p. 1277 - 1282, 2012.

Capítulo 3

AHAMED, M. *et al.* Silver nanoparticle applications and human health. *Clinica Chimica Acta*, v. 411, p. 1841 - 1848, 2010.

AKYUZ, S. *et al.* Adsorption of isoniazid onto sepiolite–palygorskite group of clays: An IR study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 75, p. 1304 - 1307, 2010.

ANTUNES, F. S. *et al.* Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, v. 9, p. 20 - 26, 2013.

ARARUNA, F. B. *et al.* Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Reduced and Stabilized by Cashew Tree Gum. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, v. 5, p. 1 - 4, 2013.

AWAKAN, O. J. *et al.* Anti-inflammatory and bronchodilatory constituents of leaf extracts of *Anacardium occidentale* L.. in animal model. *Journal of Integrative Medicine*, v. 16, p. 62 - 70, 2018.

BALTAR, C. A. M. *et al.* Influence of morphology and surface charge on the suitability of Palygorskite as drilling fluid. *Applied Clay Science*, v. 42, p. 597 - 600, 2009.

BAVASSO, I. *et al.* Perspectives in Nanotechnology Based Innovative Applications for the Environment. *Chemical Engineering*, v. 47, p. 55 - 60, 2016.

BHANVASE, B. A. *et al.* Sonochemical process for the preparation of novel calcium zinc molybdate nanoparticles. *International Journal of Nanoscience*, v. 14, p. 1 - 10, 2015.

BINDHU, M. R.; UMADEV, M. Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver Nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 135, p. 373 - 378, 2015.

Capítulo 3

BOTAN, R. *et al.* Síntese e caracterização de Nanocompósitos Esfoliados de Poliestireno - Hidróxido Duplo Lamelar via polimerização *in situ*. *Polímeros*, v. 21, p. 34 - 38, 2011.

BOUDRICHE, L. *et al.* Surface properties evolution of attapulgite by IGC analysis as a function of thermal treatment. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 399, p. 1 - 10, 2012.

BRADLEY, W. The structural scheme of attapulgite. *American Mineralogist*, v. 25, p. 405 - 410, 1940.

CAI, Y. *et al.* A Fourier transform infrared spectroscopic study of Mg-rich, Mg-poor and acid leached palygorskites. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 66, p. 282 - 288, 2007.

CAMPOS, D. A. *et al.* Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. *Carbohydrate Polymers*, v. 90, p. 270 - 274, 2012.

CARAZO, E. *et al.* Assessment of halloysite nanotubes as vehicles of isoniazid. *Colloids Surface B: Biointerfaces*, v. 160, p. 337 - 344, 2017.

CARAZO, E. *et al.* Adsorption and characterization of Palygorskite-isoniazid nanohybrids. *Applied Clay Science*, v. 160, p. 180 - 185, 2018.

CHAHARA, V. *et al.* Study of antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized using green and chemical approach. *Colloids and Surfaces A*, v. 554, p. 149 - 155, 2018.

CHAMBERS, C. W. *et al.* Bactericidal effect of low silver concentrations. *Journal of American Water Work Association*, p. 208-216, 1962.

CHEN, T. *et al.* SAED and HRTEM investigation of Palygorskite. *Acta Geologica Sinica - English Edition*, v. 82, p. 385 - 391, 2008.

CHENG, H. *et al.* Thermogravimetric analysis-mass spectrometry (TG-MS) of selected Chinese Palygorskites-Implications for structural water. *Thermochimica Acta*, v. 512, p. 202 - 207, 2011.

COSTA, P. R. *Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro como ferramenta terapêutica e diagnóstica*. 2012. Dissertação (mestrado) – Instituto de Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais, Comissão Nacional de Energia Nuclear.

DASTJERDI, R.; MONTAZER, M. A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: Focus on anti-microbial properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 79, p. 5 - 18, 2010.

DE PAULA, R. C. M. *et al.* Characterization of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. *Polymer International*, v. 45, p. 27 - 35, 1998.

DE PAULA, R. C. M.; RODRIGUES, J. F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L.. *Carbohydrate Polymers*, v. 26, n. 3, p. 177 - 181, 1995.

DUMAN, O.; TUNÇ, S. Propriedades reológicas e eletrocinéticas da bentonita de sódio em algumas soluções eletrolíticas. *Microporous and Mesoporous Materials*, v. 117, p. 331 - 338, 2009.

EATON, P. *et al.* A direct comparison of experimental methods to measure dimensions of synthetic nanoparticles. *Ultramicroscopy*, v. 182, p. 179 - 190, 2017.

EDELSTEIN, A. S. *et al.* *Nanomaterials: Synthesis, Properties, and Applications* EUA: Taylor and Francis, p. 21-27, 1996.

EDISON, T. N. J. I. *et al.* Reductive-degradation of carcinogenic azo dyes using *Anacardium occidentale* testa derived silver nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 162, p. 604 - 610, 2016.

EIRAS, C. *et al.* Nanocompósitos eletroativos de poli-*o*-metoxianilina e polissacarídeos naturais. *Química Nova*, v. 30, p. 1158 - 1162, 2007.

EREMENKO, A. M. *et al.* Antibacterial and antimycotic activity of cotton fabrics, impregnated with silver and binary silver/copper nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, v. 11, p. 28 - 37, 2016.

FAN, Q. *et al.* Preparation and application of attapulgite/iron oxide magnetic composites for the removal of U(VI) from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, v. 192, p. 1851 - 1859, 2011.

FROST, R. L.; DING, Z. Controlled rate thermal analysis and differential scanning calorimetry of sepiolites and Palygorskites. *Thermochimica Acta*, v. 397, p. 119 - 128, 2003.

FROST, R. L. *et al.* Synthesis, characterization of Palygorskite supported zero-valent iron and its application for methylene blue adsorption. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 341, p. 153 - 161, 2010.

GIONIS, V. *et al.* On the structure of Palygorskite by mid- and near-infrared spectroscopy. *American Mineralogist*, v. 91, p. 1125 - 1133, 2006.

GOLUBOVICH, V. N.; RABOTNOVA, I. L. Kinetics of growth inhibition by silver ions. *Microbiology*, v. 43, p. 948 - 950, 1974.

GONÇALVES, J. *et al.* In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 99, p. 403 - 407, 2005.

GUGGENBICHLER, J. P. *et al.* A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection*, v. 27, p. 16 - 23, 1999.

Capítulo 3

GUO, H. *et al.* Mixed alcohols synthesis from syngas over activated Palygorskite supported Cu–Fe–Co based catalysts. *Applied Clay Science*, v. 111, p. 83 - 89, 2015.

HAMOUDA, T.; BAKER, J. R. Antimicrobial mechanism of action of surfactant lipid preparations in enteric Gram-negative bacilli. *Journal Applied Microbiology*. v. 89, p. 397 - 403, 2000.

HUANG, J. *et al.* Adsorption studies of a water soluble dye, Reactive Red MF-3B, using sonication-surfactant-modified attapulgite clay. *Journal of Hazardous Materials*, v. 143, p. 541 - 548, 2007.

HUANG, Z. *et al.* Controllable synthesis and biomedical applications of silver nanomaterials. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 11, p. 9395 - 9408, 2011.

HUSEN, A.; SIDDIQI, K. S. Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale Research Letters*, v. 9, p. 229 - 253, 2014.

IWASAKI, T. *et al.* Novel mechanochemical process for synthesis of magnetite nanoparticles using coprecipitation method. *Adv. Powder Technol*, v. 20, p. 521 - 528, 2009.

JUANG, R. S. *et al.* Mechanism of the sorption of phenols from aqueous solutions onto surfactant-modified montmorillonite. *Journal Colloid Interface Science*, v. 254, p. 234 - 241, 2002.

KAUR, A. *et al.* Surfactant mediated interaction of vancomycin with silver nanoparticles. *Applied Surface Science*, v. 449, p. 23 - 30, 2018.

KHAYDAROV, R. A. *et al.* Electrochemical method for the synthesis of silver nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 15, p. 1193-1200, 2009.

Capítulo 3

KHORAMI, J.; LEMIEUX, A. Comparison of attapugites from different sources using Tg/Dtg and FTIR. *Thermochimica Acta*, v. 138, p. 97 - 105, 1989.

KOKURA, S. *et al.* Silver nanoparticles as a safe preservative for use in cosmetics. *Nanomedicine*, v. 6, p. 570 - 574, 2010.

KOMADEL, P. Acid activated clays: materials in continuous demand. *Applied Clay Science*, v. 131, p. 84 - 99, 2016.

KUMAR, K. *et al.* Sonochemical synthesis of silver nanoparticles using starch: a comparison. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, v. 12, p. 1 - 8, 2014.

LI, Q. *et al.* Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Research*, v. 42, p. 4591 - 4602, 2008.

LI, Y.; CHAN, Y. C. Effect of silver (Ag) nanoparticle size on the microstructure and mechanical properties of Sn58Bi-Ag composite solders. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 5, p. 566 - 576, 2015.

LIU, H. *et al.* Effect of rehydration on structure and surface properties of thermally treated Palygorskite. *Journal Colloid Interface Science*, v. 393, p. 87 - 91, 2013.

LIU, J. *et al.* A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, v. 5, p. 31 - 61, 2015.

LIU, X. *et al.* Catalysis by silver nanoparticles/porous silicon for the reduction of nitroaromatics in the presence of sodium borohydride. *Applied Surface Science*, v. 292, p. 695 - 701, 2014.

LIU, Q. *et al.* An infrared spectroscopic comparison of four Chinese palygorskites. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 96, p. 784 - 789, 2012.

Capítulo 3

LIZ-MARZÁN, L. M. Nanometals: Formation and color. *Materials Today*, v. 7, p. 26 - 31, 2004.

LOPEZ-QUINTELÁ, M. A. Synthesis of nanomaterials in microemulsions: formation mechanisms and growth control, *Curr. Opin. Journal of Colloid and Interface Science*, v. 8, p. 137-144, 2003.

MELO JR., M. A. *et al.* Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. *Química Nova*, v. 35, p. 1872 - 1878, 2012.

MEYER, B. N. *et al.* Brine shrimp: A conveniente general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medical Plant Research*, v. 45, n. 1, p. 31 - 34, 1982.

MOHANTY, S. *et al.* An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. *Nanomedicine*, v. 8, p. 916 - 924, 2012.

MORAES, S. B. *et al.* Síntese e caracterização de nanocompósitos de poliestireno/hidroxissal lamelar. *Química Nova*, v. 37, p. 18 - 21, 2014.

MOREIRA, B. R. *et al.* A bioactive film based on cashew gum polysaccharide for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, v. 122, p. 69 - 76, 2015.

MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M.; FROTA, C. C. *Visualização bacteriana e colorações*. 1ª edição. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2015.

MOTSHEKGA, S. C. *et al.* Microwave assisted synthesis, characterization and antibacterial activity of Ag/ZnO nanoparticles supported bentonite clay. *Journal of Hazardous Materials*, v. 15, p. 439 - 446, 2013.

MOURA, R. E. *Síntese de nanopartículas à base de goma de cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos*. 2009, 79 f. Dissertação. (Pós-Graduação em Química), Universidade Federal do Ceará. 2009.

NOGUEZ, C. Surface plasmons on metal nanoparticles the influence of shape and physical environment. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 111, p. 3806 - 3819, 2007.

NUNES, B. S. *et al.* Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental Pollution*, v. 144, p. 453 - 462, 2006.

OLPHEN, H. *An Introduction to Clay Colloid Chemistry*. 2nd ed. John Wiley & Sons: New York, 1977.

OGORODOVA, L. *et al.* Thermochemical study of natural magnesium aluminum phyllosilicate: Palygorskite. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, v. 89, p. 205 - 211, 2015.

OLIVEIRA, A. M. B. M. *et al.* Brazilian Palygorskite as adsorbent for metal ions from aqueous solution-kinetic and equilibrium studies. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 224, p. 1 - 13, 2013.

OLIVEIRA, R. N. *et al.* The Increase of Surface Area of a Brazilian Palygorskite Clay Activated with Sulfuric Acid Solutions Using a Factorial Design. *Materials Research*. v. 16, p. 924 - 928, 2013.

PAL, S. *et al.* Does antibacterial activity of silver nanoparticle depend on shape of nanoparticle? A study on Gram-negative *E. coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, n. 6, p. 1712 - 1720, 2007.

PARASHAR, V. *et al.* Parthenium leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles: a novel approach towards weed utilization. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, v. 4, p. 45 - 50, 2009.

PAULA, H. C. B. *et al.* Alginate/cashew gum floating bead as a matrix for larvicide release. *Materials Science and Engineering: C*, v. 32, p. 1421 - 1427, 2012.

Capítulo 3

PERRET, G. *et al.* Nano Systems and Devices for Applications in Biology and Nanotechnology. *Solid-State Electronics*, v. 115, p. 66-73, 2016.

PESSANHA, N. F. N. *et al.* Preparation and Characterization of Silver/Organo-clay Nanocomposites. *Chemical and Materials Engineering*, v. 2, p. 173 - 178, 2014.

PINTO, V. V. *et al.* Long time effect on the stability of silver nanoparticles in aqueous medium: Effect of the synthesis and storage conditions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*, v. 364, p. 19 - 25, 2010.

PITOMBEIRA, N. A. O. *et al.* Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. *Carbohydrate Polymers*, v. 117, p. 610 - 615, 2015.

PREISINGER, A. Sepiolite and related compounds: its stability and application. *Clays and Clay Minerals*, v.10, p. 365 - 371, 1963.

QUELEMES, P. V. *et al.* Development and Antibacterial Activity of Cashew Gum-Based Silver Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 14, p. 4969 - 4981, 2013.

QUELEMES, P. V. *et al.* Quaternized cashew gum: An anti-staphylococcal and biocompatible cationic polymer for biotechnological applications. *Carbohydrate Polymers*, v. 157, p. 567 - 575, 2017.

QUINTEROS, M. A. *et al.* Oxidative stress generation of silver nanoparticles in three bacteria genera and its relationship with the antimicrobial activity. *Toxicology in Vitro*, v. 36, p. 216 - 223, 2016.

RAJUA, A. *et al.* Adduct modified nano-clay mineral dispersed polystyrene nanocomposites as advanced corrosion resistance coatings for aluminum alloys. *Applied Clay Science*, v.126, p. 81 - 88, 2016.

Capítulo 3

RAO, C. N. R. *et al.* Size-dependent chemistry: Properties of nanocrystals. *Chemistry a European Journal*, v. 8, p. 28 - 35, 2002.

RIBEIRO, B. T. *et al.* Cargas superficiais da fração argila se solos influenciadas pela vinhaça e fósforo. *Química Nova*, v. 34, p. 5 - 10, 2011.

RIVERO, P. J. *et al.* Nanomaterials for functional textiles and fibers. *Nanoscale Research Letters*, v. 10, p. 501- 523, 2015.

RUSMIN, R. *et al.* Structural, electrokinetic and surface properties of activated palygorskite for environmental application. *Applied Clay Science*, v. 134, p. 95 - 102, 2016.

SALEH, T. A. Nanomaterials for pharmaceuticals determination. *Bioenergetics*, v. 5, p. 226 - 232, 2016.

SANTANA, A. C. S. G. V. *et al.* Preparation and physicochemical characterization of binary composites palygorskite-chitosan for drug delivery. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 128, p. 1327 - 1334, 2017.

SANTOS, G. H. F. *et al.* Antibacterial activity of irradiated extracts of *Anacardium occidentale* L.. on multiresistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 140, p. 327 - 332, 2018.

SATHYAVATHI, R. *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles using coriandrum sativum leaf extract and their application in nonlinear optics. *Advanced Science Letters*, v. 3, p. 1 - 6, 2009.

SHARMA, V. K. *et al.* Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, p. 16248 - 16253, 2006.

SHENG, J.; WANG, L. Preparation and properties of polupropylene/org-attapulgate nanocomposite. *Polymer*, v. 46, p. 6243 - 249, 2005.

SHI, L. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 92, p. 37 - 48, 2016.

SILVA, D. A. *et al.* Graft copolymerisation of acrylamide onto cashew gum. *European Polymer Journal*, v. 43, p. 2620 - 2629, 2007.

SILVA, M. L. G. *et al.* Palygorskite organophilic for dermatopharmaceutical application. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 115, p. 2287 - 2294, 2014.

SHUAI, H. *et al.* A Convenient Ultraviolet Irradiation Technique for Synthesis of Antibacterial Ag-Pal Nanocomposite. *Nanoscale Research Letters*, v. 11, p. 1 - 7, 2016.

SOHRABNEZHAD, S. H. Green synthesis of Ag nanoparticles in montmorillonite. *Materials Letters*, v. 168, p. 28 - 30, 2016.

SOLOMON, S. D. *et al.* Synthesis and study of silver nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, v. 84, p. 322 - 325, 2007.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 275, p. 177 - 182, 2004.

STOIMENOV, P. K. *et al.* Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents. *Langmuir*, v. 18, p. 6679 - 6686, 2002.

SUÁREZ, M.; GARCÍA-ROMERO, E. FTIR spectroscopic study of palygorskite: influence of the composition of the octahedral sheet. *Applied Clay Science*, v. 31, p. 154 - 163, 2006.

TERENTEVA, E. A. *et al.* Formation of plasmonic silver nanoparticles by flavonoid reduction: A comparative study and application for determination of these

Capítulo 3

substances. *Spectrochimica Acta Part a: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 151, p. 89 - 95, 2015.

THAKKAR, K. N. *et al.* Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles. *Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine*, v. 6, p. 257 - 262, 2010.

TOURINHO, O. S *et al.*, Metal-based nanoparticles in soil: fate, behavior, and effects on soil invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 31, p. 1679 -1692, 2012.

VANITHA, G. *et al.* Physiochemical charge stabilization of silver nanoparticles and its antibacterial applications. *Chemical Physics Letters*, v. 669, n. 3, p. 71- 79, 2017.

VENKATPURWAR, V.; POKHARKAR, V. Green synthesis of silver nanoparticles using marine polysaccharide: Study of *in-vitro* antibacterial activity. *Materials Letters*, v. 65, p. 999 - 1002, 2011.

VISERAS, C.; LOPEZ-GALINDO, A. Pharmaceutical applications of some spanish clays (sepiolite, Palygorskite, bentonite): some preformulation studies. *Applied Clay Science*, v. 14, p. 69 - 82, 1999.

WANG, L. *et al.* Variation of anions in layered double hydroxides: Effects on dispersion and fire properties. *Polymer Degradation and Stability*, v. 94, p. 770 - 781, 2009.

WIJNHOFEN, S. W. P. *et al.* Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*, 2009, v. 3, p. 109 - 138, 2009.

WOJTYSIAK, S.; KUDELSKI, A. Influence of oxygen on the process of formation of silver nanoparticles during citrate/borohydride synthesis of silver sols. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 410, p. 45 - 51, 2012.

Capítulo 3

XAVIER, K. C. M. *et al.* Effects of acid treatment on the clay Palygorskite: XRD, surface area, morphological and chemical compositions. *Materials Research*, v. 17, p. 3 - 8, 2014.

XAVIER, K. C. M. *et al.* Thermally activated Palygorskites as agents to clarify soybean oil. *Applied Clay Science*, v. 119, p. 338 - 347, 2016.

XAVIER, K. C. M. *et al.* Caracterização mineralógica, morfológica e de superfície da atapulgita de Guadalupe-PI. *Holos*, v. 5, p. 60 - 70, 2012.

YAN, W. *et al.* FTIR spectroscopy study of the structure changes of palygorskite under heating. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 97, 1052 - 1057, 2012.

YAN, W. *et al.* Infrared spectroscopic evidence of a direct addition reaction between palygorskite and pyromellitic dianhydride. *Applied Surface Science*, v. 265, p. 585 - 590, 2013.

YANG, D. *et al.* Adsorption properties and mechanisms of Palygorskite for removal of various ionic dyes from water. *Applied Clay Science*, v. 151, p. 20 - 28, 2018.

YE, H. *et al.* Adsorption of phosphate from aqueous solution onto modified Palygorskites. *Separation and Purification Technology*, v. 50, p. 283 - 290, 2006.

YILMAZ, N.; YAPAR, S. Adsorption properties of tetradecyl- and hexadecyl trimethylammonium bentonites. *Applied Clay Science*, v. 27, p. 223 - 228, 2004.

ZARBIN, A. J. G. Química de Nano(materiais). *Química Nova*, v. 30, p. 1469 -1479, 2007.

ZENG, H. F. *et al.* Effects of raw and heated Palygorskite on rumen fermentation in vitro. *Applied Clay Science*, v. 138, p. 125 - 130, 2017.

Capítulo 3

ZHANG, J. *et al.* Removal of fluoride ions from aqueous solution using modified attapulgite as adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, v. 165, p. 218 -222, 2009.

ZHANG, D. *et al.* Synthesis of clay minerals. *Applied Clay Science*, v. 50, p. 1 - 11, 2010.

ZHANG, Y. *et al.* A comparative study about adsorption of natural Palygorskite for methylene blue. *Chemical Engineering Journal*, v.15, p. 390 - 398, 2015.

ZHENG, L.; ZHU, J. Study on antimicrobial activity of chitosan with diferente molecular weights. *Carbohydrate Polymers*, v. 54, p. 527 - 530, 2003.

ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer Testing*, v. 23, p. 575-579, 2004.

ZHU, J. *et al.* Effect of acid activation of palygorskite on their toluene adsorption behaviors. *Applied Clay Science*, v. 159, p. 60 - 67, 2018.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa teve como objetivo o desenvolvimento de um nanocompósito utilizando a argila Palygorskita (Pal) e nanopartículas de prata (AgNPs) produzidos via síntese verde usando a goma de cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) (GC), como agente antibacteriano para posterior uso em aplicações biotecnológicas.

Com a intenção de verificar a originalidade da pesquisa, foi realizado um estudo prospectivo e tecnológico nas bases científicas da *Scopus*, *Web of Science* e *Scielo*, bem como, em bancos de patentes nacional e internacional, do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), *European Patent Office* (Espacenet) e *United States Patent and Trademark Office* (USPTO), constatando que o uso do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC via síntese verde utilizando polissacarídeos naturais exsudados da goma de cajueiro para aplicação como agente antibacteriano, é algo inovador e promissor, visto que, não foi encontrado na literatura nenhuma abordagem semelhante com o da proposta por essa pesquisa.

A argila Palygorskita, foi selecionada para uso por se tratar de uma argila natural, de baixo custo e abundante, principalmente no Estado do Piauí – PI, na cidade de Guadalupe, onde encontram-se grandes depósitos dessa argila. A Pal inicialmente passou por um processo de purificação, com a utilização de tratamentos físicos e químicos para a remoção de impurezas e matéria orgânica. A diminuição dessas impurezas foi confirmada pelas técnicas de DRX, EDS e Área superficial específica (S_{BET}).

O nanocompósito de (Pal/AgNPs/GC) foi produzido via síntese verde, usando polissacarídeos exsudados da árvore de cajueiro (*Anacardium occidentale L.*), denominada de goma de cajueiro (GC), que reduziu e/ou estabilizou as AgNPs. As AgNPs foram caracterizadas pelas técnicas de Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-vis), Tamanho hidrodinâmico médio, Potencial Zeta e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) confirmando a formação das nanoestruturas. O espectro de absorção UV-vis apresentou uma banda de absorção máxima em torno de 409 nm característica da formação de AgNPs esféricas. O

Considerações Finais

tamanho hidrodinâmico médio das AgNPs foi de aproximadamente 3,8 nm \pm 0,95 (99,1%), o Índice de Polidispersão (PDI) de 0,3 e potencial zeta em torno de - 33 mV (\pm 3,72 em pH=6,7), confirmando a formação das nanopartículas. Pelas imagens TEM mais uma vez foi comprovado a formação de AgNPs esféricas.

A Pal e o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram caracterizados pelas técnicas de DRX, Área Superficial Específica (S_{BET}), Análises Térmicas, FTIR, MEV, EDS e TEM. Por essas técnicas foi comprovada a redução de impurezas na Pal, bem como, a formação do nanocompósito.

A atividade antibacteriana da Pal, das AgNPs e do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC foram analisadas pelo método de contato direto contra cepas de bactérias do tipo *Staphylococcus aureus* (Gram-positivas) e *Escherichia coli* (Gram-negativas). De acordo com os resultados obtidos, o nanocompósito (Pal/AgNPs/GC) apresentou os maiores efeitos de inibição tanto para as bactérias de *S. aureus* (85,3%), quanto para as bactérias de *E. coli* (70,2%). Sendo seu efeito inibitório mais eficaz do que os apresentados pela Pal e pelas AgNPs de forma individual.

Por fim, foi realizado testes de toxicidade contra a *Artemia salina*, sendo que nenhuma das amostras analisadas, principalmente, o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC não apresentaram toxicidade nas concentrações analisadas.

Assim, o nanocompósito de Pal/AgNPs/GC pode ser considerado um material promissor, de fácil obtenção, rápido e eficiente, sendo uma alternativa simples para ser utilizado como agente antibacteriano em aplicações biotecnológicas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Tendo em vista que os objetivos desta pesquisa foram alcançados, provando que o nanocompósito de palygorskita/nanopartículas (Pal/AgNPs/GC) sintetizado via síntese verde utilizando a Goma de Cajueiro (GC) como agente redutor e/ou estabilizante, proporcionou a formação de um nanocompósito com maior atividade antibacteriana. A seguir são propostas algumas sugestões para trabalhos futuros.

- ↪ Sintetizar nanocompósitos de palygorskita/nanopartículas (Pal/AgNPs/GC) variando a concentração da argila palygorskita;
- ↪ Modificar superficialmente a argila Palygorskita através de processos de organofilização, como por exemplo, troca de íons por íons de sais quaternários de amônio;
- ↪ Efetuar a síntese das AgNPs na presença de outros metais, como por exemplo, o ouro (Au), formando nanopartículas com estrutura *core-shell* (em português: casca-núcleo), para posterior desenvolvimento de nanocompósitos Pal/nanopartículas bimetálicas;
- ↪ Analisar as propriedades mecânicas e reológicas do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC;
- ↪ Utilização do nanocompósito de Pal/AgNPs/GC na preparação de filmes utilizando a técnica de automontagem camada por camada ou LbL (do *inglês Layer-by-Layer*) para posterior caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana utilizando bactérias e fungos;
- ↪ Avaliar a toxicidade do nanocompósito e do filme através da investigação das potencialidades citotóxicas (morte celular e índice mitótico) e genotóxicas (presença de alterações cromossômicas) frente à *Allium cepa*.

ANEXOS



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA - PROPESQ
NÚCLEO DE INOVAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Setor de Convivência L09 e L10
Bairro Ininga CEP: 64049-550 - Teresina-PI Fone/Fax (86)3237-1638

DECLARAÇÃO

O Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia – NINTEC, órgão da Universidade Federal do Piauí, através deste instrumento, DECLARA para as finalidades de direito, a requerimento de CRISTIANY MARINHO ARAÚJO– Doutoranda, que se encontra em nosso poder solicitação para depósito de pedido de PATENTE, com data de entrada neste órgão em 01/02/2019, cujo título denomina-se “**SÍNTESE VERDE E OBTENÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS UTILIZANDO ARGILA NATURAL E NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA APLICAÇÕES COMO AGENTE BACTERICIDA**”, do qual a solicitante participa como inventor (a), e que está em fase de análise dos requisitos necessários à sua formalização junto ao INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial.

Informamos ainda que para a consecução da postulação pretendida, o objeto deste pleito deve necessariamente atender às seguintes fases:

- a) pré-análise à patenteabilidade da criação;
- b) busca de anterioridade para verificação do estado da técnica;
- c) envio do resultado da busca de anterioridade, juntamente com cópias de pedido já requerido no Brasil e em outros países, bem como orientações para a redação do pedido de patente (IN 031/13 e LPI 9.279/96 – INPI);
- d) solicitação de pagamento das taxas de depósito e abertura de processo no Protocolo Geral para depósito de pedido;
- e) apreciação e assinatura da Reitoria da UFPI.
- f) encaminhamento da documentação ao INPI para depósito.

Salientamos ainda que, para cada fase acima descrita, é necessário tempo hábil para as respostas, a fim de cumprir com fidelidade e segurança a pretensão perquerida.

Por ser verdade, firmo a presente.

Teresina (PI), 07 de fevereiro de 2019.

Prof.^a. Dr.^a. Maria Rita de Moraes Chaves Santos
Coordenadora do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia da UFPI

APÊNDICE



**MAPEAMENTO TECNOLÓGICO SOBRE O USO DE NANOCOMPÓSITOS
PALYGORSKITA/NANOPARTÍCULAS DE PRATA COMO AGENTE BACTERICIDA EM APLICAÇÕES
BIOTECNOLÓGICAS**

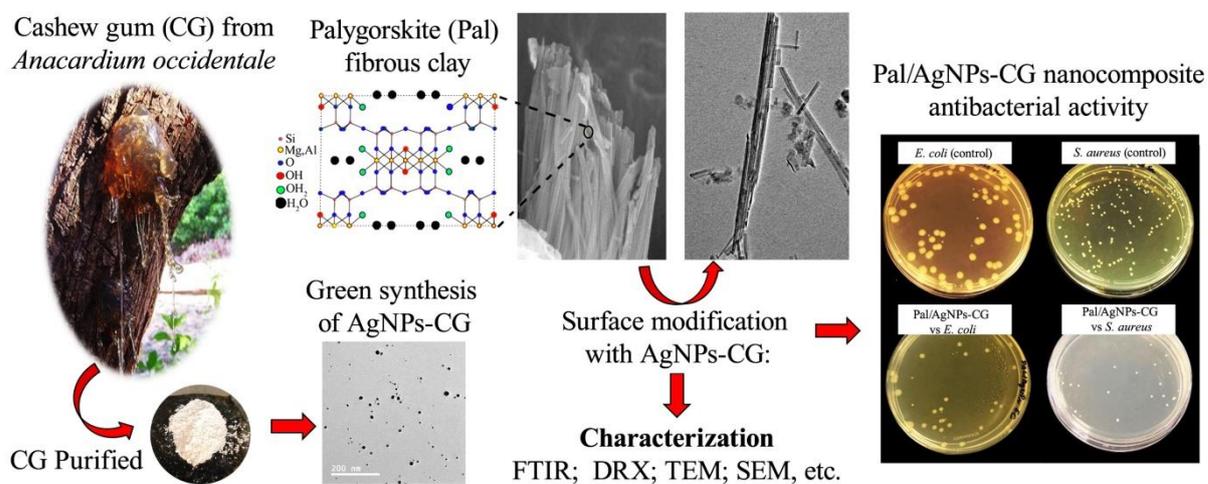
**TECHNOLOGICAL MAPPING ON THE USE OF PLYGORSKITA NANOCOMPOSITALS / SILVER
NANOPARTICLES AS A BACTERICIDE AGENT WITH VIEWS IN BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS**

Resumo

A procura por novos materiais nanoestruturados que possuam atividade antimicrobiana e que possam surgir como alternativa em aplicações biotecnológicas vem despertando grande interesse pela comunidade científica. O emprego de recursos naturais no desenvolvimento desses materiais torna-se interessante não só pela sua disponibilidade e baixo custo como também por se tratar de materiais, geralmente com baixa ou nenhuma toxicidade e que possui propriedades de interesse, como é o caso da argila palygorskita (PAL), também denominada de atapulgita. Dessa forma, uma nova aplicabilidade é proposta com a utilização desse recurso natural com vistas ao desenvolvimento de produtos biotecnológicos, como o desenvolvimento de nanocompósitos constituídos pela incorporação de nanopartículas de prata (AgNPs) na PAL para a sua utilização como agente bactericida. O objetivo da pesquisa foi realizar um estudo prospectivo em bases de periódicos da Scopus, Web of Science e Scielo, como também, nos bancos de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), European Patent Office (Espacenet) e United States Patent and Trademark Office (USPTO), no período de 2006 a 02/2017. Pelos resultados encontrados de artigos e patentes, constatou-se um número considerável de artigos e patentes utilizando a palavra “Palygorskite” ou “Atapulgite”. Já quando utilizou-se as combinações “Palygorskite or Atapulgite AND silver of nanoparticle AND antimicrobial” e “Palygorskite or Atapulgite AND silver of nanoparticle AND bactericidal” não foi encontrado nenhum artigo ou patente até a presente data. Dessa forma, o desenvolvimento de nanocompósitos Pal/AgNPs/GC para aplicações biotecnológicas pode ser bastante promissor e inovador pelas características apresentadas por ambos os materiais.

Palavras chave: Nanocompósitos; Palygorskita; Atapulgita; Nanopartículas de prata; Agente bactericida.

ARTIGO - Cashew-gum-based silver nanoparticles and palygorskite as green nanocomposites for antibacterial applications



Cashew-gum-based silver nanoparticles and palygorskite as green nanocomposites for antibacterial applications

Cristiany Marinho Araújo^{1,2}, Moisés das Virgens Santana¹, Antonio do Nascimento Cavalcante³, Lívio César Cunha Nunes⁴, Luiz Carlos Bertolino⁵, Carla Adriana Rodrigues de Sousa Brito⁶, Humberto Medeiros Barreto⁶ e Carla Eiras^{1*}.

- 1- Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Novos materiais e Sistemas Sensores – MatSens - Departamento de Engenharia de Materiais – Centro de Tecnologia (CT), *Campus* Ministro Petrônio Portela, Universidade Federal do Piau í-UFPI, Teresina-PI, 64049-550, Brasil.
- 2- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piau í - IFPI, Teresina – PI, 64018-900, Brasil.
- 3- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA, *campus* Presidente Dutra, Maranhão - MA, 65760-000, Brasil.
- 4- Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piau í – UFPI, Teresina - PI, 64049-550, Brasil.
- 5- Centro de Tecnologia Mineral - CETEM. Cidade Universitária, Ilha do Fundão - 21941-908, Rio de Janeiro – RJ, Brasil.
- 6- Departamento de Parasitologia e Microbiologia, Universidade Federal do Piau í – Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina - PI, Brasil.

*carla.eiras.ufpi@gmail.com

ABSTRACT

Nanocomposite materials have been proposed to enhance the properties of different materials. In this study, palygorskite (Pal) clay is proposed as a support matrix for silver nanoparticles stabilised with cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) (AgNPs-CG), producing the Pal/AgNPs-CG nanocomposite, whose bactericidal activity was studied. AgNPs-CG was synthesised using a green method in which CG acted as a reducing and stabilising agent for these nanostructures. AgNPs-CGs were subsequently characterised then adsorbed to the Pal surface, which was previously treated to remove impurities such as quartz. Pal and Pal/AgNPs-CG were characterised by X-ray diffraction, specific surface area, thermal analysis, Fourier transform infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, energy dispersive spectroscopy, and transmission electron microscopy. The antibacterial activity assay by the direct contact method showed that the synergistic effect of the combination of AgNPs-CG and Pal increased the bactericidal effect of the nanomaterial compared with the AgNPs-CG activity, reaching a percentage inhibition of up to 70.2% against *E. coli* and 85.3% against *S. aureus*. Nanocomposite atoxicity was demonstrated by the *Artemia Salina* model. Thus, the Pal/AgNPs-CG nanocomposite emerges as a nanomaterial with potential antibacterial applications.

Keywords: biopolymer; clay minerals; green synthesis; nanocomposite; antibacterial agent.

1. INTRODUCTION

Silver nanoparticles (AgNPs) have been long reported in the literature as antimicrobial agents. In the form of nanoparticles, the antimicrobial activity of silver is increased due to the higher number of particles per unit area (increase of area/surface/volume ratio) [1].

Interest in research using silver as an antimicrobial agent is due to its high toxicity to pathogenic microorganisms among the chemical elements of the periodic table, considering the following sequence: Ag > Hg > Cu > Cr > Pb > Co > Au > Zn > Fe > Mn > Mo > Sn [2], besides their low toxicity to animal cells. Also, AgNPs have been proposed as viable alternatives against antibiotic-resistant bacteria [3,4].

AgNPs have applications in various sectors, such as in water purification, catalysis, nanoelectronics, food packaging, biomedicine, biosensors, cosmetics, dressings, catheters, and bone prostheses [5-7]. In pharmacological applications, they are used as antiplasmodial, anticancer, anti-inflammatory, and antifungal agents [8].

AgNPs can be synthesised using a variety of routes, including physical, chemical, photochemical, and biological. Among these routes, "green methods" are attractive because they do not use environmentally aggressive chemical reagents. Green synthesis employs products of natural origin that act as reducing or stabilising agents, providing the final product with antibacterial, antioxidant, and antitumor activity [9,10]. Several biological methods have been proposed for the synthesis of nanoparticles. These methods include the use of microorganisms, enzymes, plant extracts, and plant exudates as possible ecologically correct alternatives to conventional methods [11].

Among common exudates, cashew gum (CG) is attractive because it is an acid polysaccharide extracted from the *Anacardium occidentale* L. tree that has been successfully used in the green synthesis of metallic nanoparticles, especially AgNPs. This biopolymer can act both as a metal reducing agent and a stabilising agent for nanostructures, thus favouring the reduction of the aggregation processes [12,13]. GC polysaccharide also has several biological applications such as antibacterial activity [14], anti-inflammatory activity [15], antidiarrheal activity (SANTOS et al., 2018), and application as a film in wound dressings [16].

An additional property of AgNPs reported by medical practitioners is a support matrix capable of the controlled release of these nanoparticles [17]. Another reported limitation is the possible aggregation of these nanoparticles, thus limiting its application [18]. A viable alternative to remedy these issues is to combine AgNPs with other environmentally friendly materials that can act as a nanoparticle support matrix [19].

Clays are attractive support materials for the immobilisation of nanoparticles due to their low cost, attractive chemical and physical properties, availability, high surface area, and high thermal and mechanical stability [20]. Also, they have "swelling" and adsorption properties, which rank them as excellent support materials for nanoparticles [21,22].

Palygorskite (Pal), $\text{Si}_8\text{Mg}_5\text{O}_{20}(\text{OH})_2(\text{OH}_2)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, is a hydrated silicate of magnesium and aluminium with reactive hydroxyl groups on the surface [23]. Pal is a non-

planar clay mineral with an open channel structure, forming elongated crystals and a fibrous morphology of type 2:1, with a double layer of silicon tetrahedron and a central layer of magnesium, aluminium, or iron octahedron [24,25]. Due to its unique structure, stability, and large surface area, there are several efforts to use Pal in new applications in its natural or modified form [26].

In this context, the objective of this work was to produce a nanocomposite material with antimicrobial properties using Pal as a support material for AgNPs synthesised by a green method, using CG as a reduction and stabilising agent (Pal/AgNPs-CG nanocomposite). The antibacterial activity of Pal/AgNPs-CG was tested against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) bacterial strains. A toxicity test was also carried out using the *Artemia salina* model.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials and Reagents

Pal from Guadalupe, Piauí, Brazil was purchased from the JL company, located at BR-316, 19 km from Teresina, Piauí, Brazil. During the beneficiation process, Pal was acid-activated using sulfuric acid (H_2SO_4) following the instructions provided by JL.

The CG used in the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs-CG) was isolated from the exudate of the *Anacardium occidentale* L. tree, following the procedure described by De Paula et al. (1998) [27]. The collection process occurred in Ilha Grande, Piauí, Brazil, in April 2016. The entire process of isolation and purification was carried out by the Biodiversity and Biotechnology Research Center (BIOTEC), Federal University of Piauí, Ministro Reis Veloso campus, Parnaíba, Piauí, Brazil.

All reagents used in the research were analytical-purity grade and were used as received. Hydrogen peroxide (H_2O_2) was obtained from Merck, Brazil. Silver nitrate (AgNO_3) was obtained from Vetec, Brazil. In all experiments, ultrapure water was obtained from a MilliQ system.

2.2 Palygorskite (Pal) Treatment

Pal samples were macerated to reduce their size then sieved using a 200 mesh (0.074 mm) screen. Then the samples underwent successive washes with ultrapure water obtained from the Milli-Q system. After each wash, the samples were centrifuged for 3 minutes at 5000 rpm using a Nova Instruments model NI 1812.

The samples then underwent a chemical treatment adapted from the literature [24,28]. In this procedure, aqueous H_2O_2 (1:2 m/v) was employed to remove impurities and organic matter. Removal was performed by mechanical stirring for 24 h at 100 rpm. The samples were then washed and centrifuged. The supernatant was discarded, and the residue dried in a lyophilizer then macerated, sieved, and autoclaved for 15 min at 121 ± 1 °C.

2.3 Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs-CG) and the Palygorskite/Silver (Pal/AgNPs-CG) Nanocomposite

The synthesis of AgNPs-CG was adapted from the procedure outlined by Quelemes et al. (2013). A 0.3% (w/v) CG solution was added to an aqueous solution of AgNO₃ (v/v) then heated at 78±2 °C with magnetic stirring for 1 hour. The product formed was centrifuged for 3 minutes at 5000 rpm. Pal was added (0.8 g) to the colloidal AgNPs-CG solution, and the samples were taken to a shaker table where the mixture was stirred at 200 rpm for 24 h. The nanocomposite obtained was centrifuged, the supernatant discarded, and the solid residue oven-dried, macerated and stored protected from light and moisture.

2.4 Characterisation of AgNPs-CG, Pal and the Pal/AgNPs-CG Nanocomposite

2.5 AgNPs-CG spectroscopic characterization

Spectroscopic characterisation of AgNPs-CG was performed by ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy using a Hitachi U-300 spectrophotometer.

2.6 Average hydrodynamic size, polydispersion index (PDI) and zeta potential (ζ)

The average hydrodynamic size, polydispersion index (PDI) and zeta potential (ζ) of AgNPs-CG were determined by a Dynamic Light Scattering (DLS) technique using a Zetasizer model Nano Series ZS-90 from Malvern Instruments, with a 90° measurement angle, 633-nm He-Ne gas laser, and photodiode detector. Analyses were performed by diluting 1/10 (v/v) suspensions of AgNPs-CG in ultrapure water.

2.7 Electronics microscopies

The morphology was analysed by Pal *in natura* and purified Pal were performed by scanning electron microscopy (SEM). Subsequently, in order to evaluate whether the Pal purification process (removal of impurities) was effective, energy dispersive spectroscopy (EDS) analyses were performed, which enable a qualitative and semi-quantitative microanalysis of chemical elements present in the sample. The images were obtained on a Quanta FEG 250 F electron microscope with an energy-dispersive x-ray detector (SEM/EDS) with an acceleration voltage from 1 to 30 kV, equipped with an SDD (silicon drift detector), Ametek, model HX-1001 (Apollo X-SDD detector). In prior analyses, the samples were covered with a thin layer of gold deposited using a Quorum Q150R metalliser for 30 s at 20 mA under an argon atmosphere.

Transmission electron microscopy (TEM) was employed to verify the morphology of AgNPs-CG and Pal/AgNPs-CG. The images were obtained using a JEOL model JEM - 2100 with a lanthanum hexaboride (LaB₆) filament operating at 200 kV. From the images obtained, counts were made, and the particle size distribution was measured with the aid of ImageJ software. The data obtained in the program were processed using Origin 10.1 software.

2.8 X-ray Diffraction (XRD)

Pal and Pal/AgNPs-CG x-ray diffractograms were obtained using a Shimadzu D6000-RX diffractometer with CuK α radiation ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$), a nickel filter with a voltage of 40 kV, 30 mA current, $2^\circ \cdot \text{min}^{-1}$ sweep rate, and 2θ in the range 5° to 75° .

2.9 Specific Surface Area (S_{BET})

Specific surface area measurements were calculated using the BET method [29] using the adsorption/desorption isotherms of nitrogen at 77 K. Analyses were performed on a Quantachrome (version 10.01). Before the adsorption/desorption measurements, the samples were treated at 200°C for 12 h under N_2 gas flow. Surface area calculations were performed using nitrogen physisorption data, and a linear regression from graphing $1/v[(p/p_0)-1]$ vs (p/p_0) and Equation 01.

$$V_A = \frac{V_m \cdot C_t \cdot P}{(P_0 - P)[1 + (C_t - 1)P/P_0]} \quad \text{Equation 01}$$

Where:

C_t = adsorption energy constant;

P = pressure;

P_0 = gas saturation pressure;

V_A = amount of adsorbed gas (in mL);

V_m = amount of adsorption on monolayer (in mL).

2.10 Thermal Analysis

Thermogravimetric analysis/derived thermogravimetric analysis (TG/DTG) and differential scanning calorimetry (DSC) were performed using an SDT Q600 V.20.9 Build TA, model DSC-TGA Standard, under an argon atmosphere with a flow rate of $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, a heating rate of $10^\circ \text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ and a temperature range from 20°C to 900°C .

2.11 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Fourier transform infrared (FTIR) spectra were recorded on a Perkin-Elmer (USA) Paragon 1000 spectrophotometer using KBr pellets. Measurements were taken in the wavelength range of 4000 to 400 cm^{-1} during 32 scans and a resolution of 4 cm^{-1} .

2.12 Study of antibacterial activity

2.12.1 Bacterial Strains

Bacterial strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) from the collection of microorganisms at the Laboratory of Microbiology

Research (LPM) of the Federal University of Piau  UFPI were used for the study of antibacterial activity.

2.12.2 Bacterial Inoculum Preparation

Bacterial cultures were maintained on nutrient agar at 4.0  C. A bacterial growth loop was transferred from this bacterial culture to a falcon tube containing 3.0 mL of 3% brain heart infusion (BHI) culture medium. The falcon tube sample was incubated at 37  C for 24 h. From this culture in BHI, a standard bacterial suspension with a density equivalent of 0.5 on the Mac Farland scale, with approximately 1.5×10^8 CFU mL⁻¹ (Colony Forming Units) was prepared. After this step, serial decimal dilutions were made (in physiological saline solution) with a suspension of 1.5×10^4 CFU mL⁻¹ for both microorganisms.

2.12.3 Direct Contact Test

The antibacterial activity of Pal, AgNPs-CG, and the Pal/AgNPs-CG nanocomposite was investigated by the direct contact method, following the procedure of Zheng and Zhu (2003), the results being expressed in CFU. For the tests, a standardised bacterial suspension was subjected to decimal serial dilutions until 1.5×10^4 CFU mL⁻¹ in BHI medium was obtained.

Then, 2000  L of this diluted suspension was transferred to a sterile falcon tube, containing 2000  g of a solid sample or 2000  L of a liquid sample. To determine the inhibitory effect, 100  L of this solution was transferred to Petri dishes containing the Mueller-Hinton Agar culture medium and seeded with a Drigalski loop using the spread plate method. The plates were incubated in a microbiological oven at 37  C for 24 h, and the inhibitory effect was determined by CFU counting. All analyses were performed in triplicate.

The inhibitory effect produced by each sample analysed was calculated using the following equation:

$$\eta = \frac{N_1 - N_2}{N_1} \times 100\% \quad \text{Equation 02}$$

Where η is defined as the inhibitory effect, N_1 is the arithmetic mean of the colony-forming units of the control plates, and N_2 is the arithmetic average of the colony-forming units of each of the tested solutions.

2.13 Toxicity Test

The lethality test against *Artemia salina* (*A. salina*) was performed using the procedure described by Meyer (1982) [30], with some modifications. All assays were performed in triplicate. Pal and Pal/AgNPs-CG suspensions were prepared at 10.0 mg mL⁻¹, from which dilutions were obtained (1.0 mg mL⁻¹, 0.5 mg mL⁻¹, and 0.1 mg mL⁻¹).

In the test, synthetic seawater (1.0 L) was prepared and used by dissolving the following substances with their respective masses: 15.153 g NaCl, 1.398 g MgCl, 1.888 g MgSO₄, 0.652 g CaCl₂, 0.414 g of KCl, and 0.116 g of NaHCO₃.

A. salina hatching was performed using 50 mg of eggs added to 1.0 L of previously prepared synthetic seawater that was sat under artificial illumination and aeration for 48 h. After hatching, ten nauplii (with adequate movement) were separated for each test tube containing the triplicate test concentrations. Synthetic seawater (9.0 mL) and 1.0 mL of the test concentration were added to each tube. A negative control containing only ten nauplii and 10 mL of synthetic seawater was also prepared. After incubation of the tubes, surviving nauplii were counted with a magnifying glass after 24 and 48 h.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 AgNPs-CG characterization

Figure 1 presents the UV-Vis, TEM, and size distribution results obtained from the characterisation of AgNPs-CG produced via green synthesis. The first evidence of the successful formation of AgNPs-CG was the change in colour of the reaction medium, in which the silver ion solution (AgNO₃) changed from colourless to light yellow (colloidal suspension of AgNPs-CG), confirming the reduction of Ag⁺ to Ag (insert in Figure 1A).

The UV-Vis absorption spectrum (Figure 1A) confirmed the formation of AgNPs-CG by the presence of an absorption band characteristic of the surface plasmon resonance at 409 nm, which is assigned to the formation of spherically shaped AgNPs, as previously reported in the literature [31,32]. Araruna et al. (2013) [12] and Quelemes et al. (2013) [14] identified maximum absorption bands around 420 nm using cashew gum for silver nanoparticle synthesis.

Cashew gum acted as both a silver ion reducing agent and a stabilising agent for the nanoparticles formed in the process of obtaining AgNPs-CG using a green synthesis method, as reported in the literature. This dual role can be explained by the fact that CG is an anionic heteropolysaccharide, derived from OH⁻ groups that involve the surface of nanoparticles [12,14]. The negative charges on OH⁻ create an electrostatic repulsion between the nanoparticles, avoiding the aggregation process [14,33].

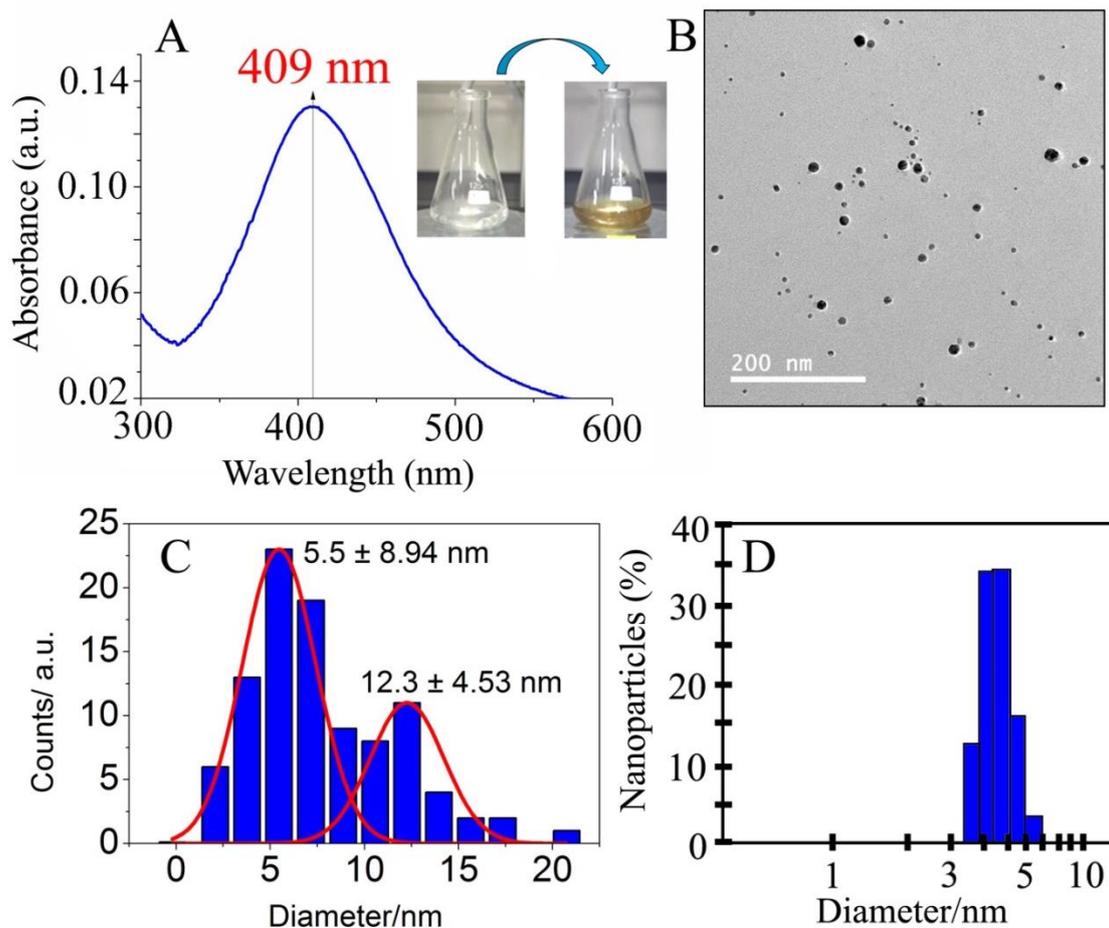


Figure 1. A) Ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption spectrum of a colloidal suspension of silver nanoparticles stabilized with cashew gum (AgNPs-CG) (insert shows the colour change after the reaction producing the nanoparticles); B) shows a transmission electron microscopy (TEM) image of AgNPs-CG; C) corresponds to the size histogram obtained from transmission electron microscopy (TEM) data and processed by ImageJ software. D) shows the size histogram obtained by dynamic light scattering (DLS).

Nanoparticles obtained from biopolymers have a large number of hydroxyl groups that can complex with metal ions [14], which is an advantage over the use of conventional synthetic chemical agents, such as macromolecular chains of biopolymers.

The TEM micrographs obtained for AgNPs-CG shown in Figure 1B corroborate the UV-Vis data concerning the expected spherical shape of these nanoparticles [34, 35], since the maximum absorption was observed close to 409 nm. These micrographs also show that AgNPs-CG is dispersed at a moderate interparticle distance, which likely hinders the process of agglomeration.

The average diameter distribution of the nanoparticles was determined using 200-nm-scale images (Figure 1C), counting about 98 nanoparticles. In the supplementary material (Figure S1), additional TEM micrographs of AgNPs-CG can be viewed.

As shown in Figure 1C, the size of AgNPs-CG follows a normal Gaussian-shaped distribution, with maximum diameters of 5.5 ± 8.94 nm and 12.3 ± 4.53 nm. These results are

Apêndice

consistent with the broadband absorption shown in the UV-Vis spectrum, characteristic of polydisperse nanosystems.

Dynamic Light Scattering (DLS) was also used to observe the size of the nanoparticles. Figure 1D shows a histogram of the distribution of AgNPs-CG in which populations range in size from 3 to 10 nm, agreeing with the data obtained by TEM. However, the mean diameter values obtained by DLS (3.8 ± 0.95 nm) were slightly lower (0.9%) than those obtained by TEM. The DLS technique measures the average hydrodynamic diameter, which encompasses the actual diameter and the passivating layer of nanoparticles, thus making more representative measurements of the sample as a whole. In the TEM results, the size distribution was performed only with image magnification and generally corresponded to a small fraction of the total sample, which may explain the difference in the average diameters observed between the two techniques.

The polydispersion index (PDI) obtained by DLS was approximately 0.3. According to Costa (2012), PDI values between 0.08 and 0.7 are characteristic of systems that show an average polydispersity, per the results found by UV-Vis and TEM in this study.

Using DLS, ζ can be determined, which is related to the electrostatic repulsion between the nanoparticles and the stability of the colloidal system. The higher the value of ζ , the greater the stability of the suspension, since the force with which particles repel each other is higher than the natural tendency to aggregate [36]. Thus, ζ for CG-AgNPs, estimated at -33 ± 3.72 mV at pH = 6.7 and 25 ° C allows us to classify this system as stable.

Finally, it is important to emphasise that the negative charge observed for ζ for AgNPs-CG in an aqueous medium is due to the presence of free hydroxyls from the monosaccharide groups present in the CG, which occur due to the acidic, branched, and anionic character of heteropolysaccharides [13]. Also, the stability of the AgNPs-CG colloidal system may be due to the presence of free hydroxyl groups in the CG structure. These groups can be oxidized in the presence of free electrons. This fact leads to a further reduction of Ag^+ to Ag and a better stabilisation of AgNPs-CG, preventing the process of agglomeration of these nanoparticles [37].

3.2 Characterization of Pal *in natura*, purified Pal, and the Pal/AgNPs-CG nanocomposite

3.2.1 X-Ray Diffraction (XRD)

To investigate the Pal crystalline structure, the influence of physical and chemical treatments, and the incorporation of CG-AgNPs on the Pal surface, XRD was used, whose diffractograms are shown in Figure 2.

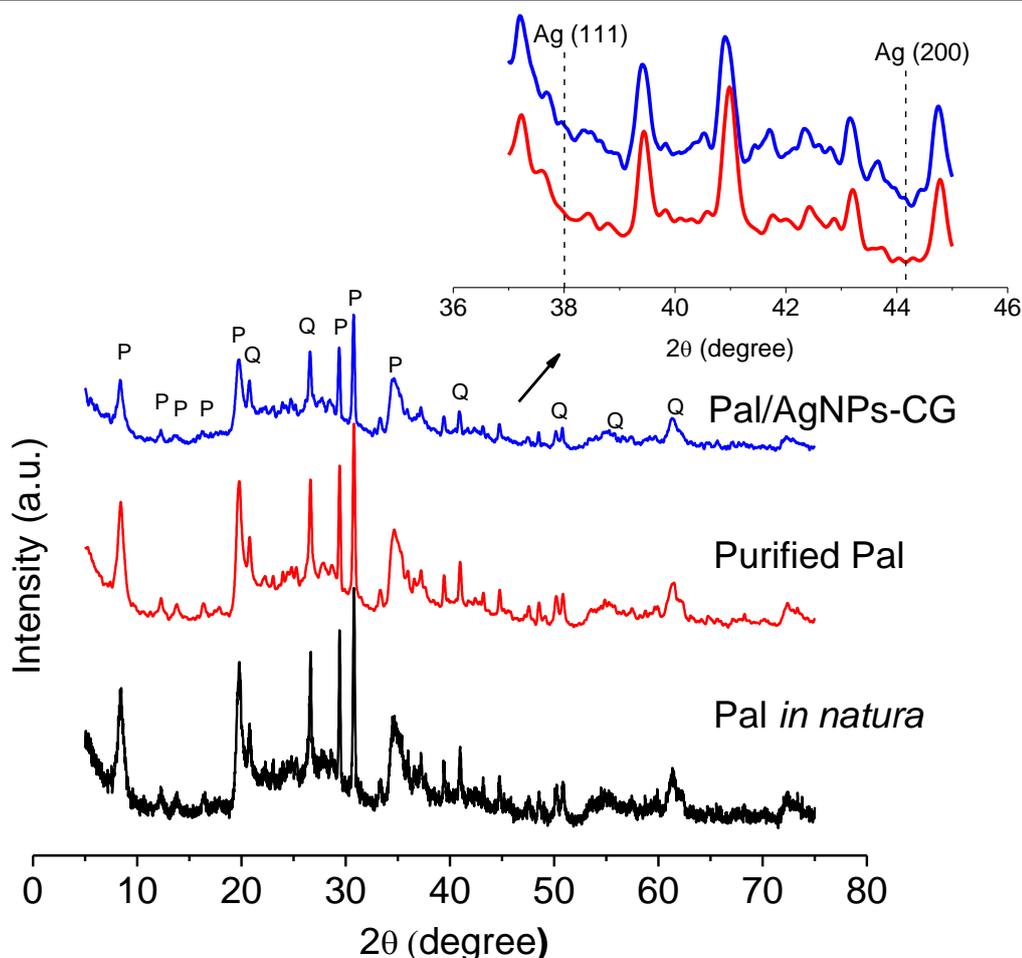


Figure 2. X-ray diffractogram of (a) Pal *in natura*, (b) purified Pal, and (c) Pal/AgNPs-CG nanocomposite. (P = Palygorskite, Q = Quartz and Ag = Silver).

The characteristic diffraction peaks of Pal and quartz (SiO_2) are identified with the aid of crystallographic card no. 01-082-1873 and 01-085-0794, respectively, which were obtained from the Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS) database. Pal characteristic peaks and their respective diffraction planes are identified in the samples at 8.4° (110), 12.3° (211), 13.8° (200), 16.3° (130), and 19.7° (121). These peaks are well described in the literature [24, 25, 38].

The presence of the peak at $2\theta = 8.4^\circ$ is assigned to the 1.05-nm interplanar distance attributed to the basal plane of the Pal structure, that is, to the primary plane of the crystal face [39]. Reflections at $2\theta = 13.74^\circ$, 16.5° , 19.7° , 20.8° , and 28.1° are assigned to the Si-O-Si groups of crystalline clay layers. The peak at $2\theta = 12.3^\circ$ is assigned to the hydrated sodium cation oxides present between the clay layers. The reflections at $2\theta = 21.02^\circ$, 26.76° , 36.68° , 39.60° , 42.60° , 50.26° , 55.00° , and 60.10° are due to quartz [24,40]. The high quartz contents are characteristic of the palygorskite of Guadalupe, PI, Brazil. After *in natura* chemical and physical treatment of Pal, there was a decrease in the intensity of these peaks and a consequent decrease of the quartz content in the purified Pal. The presence of other impurities was also detected, which was confirmed by EDS analysis (Figure S1 and Figure S2).

The peaks present in the Pal/AgNPs-CG nanocomposite (blue curve, Figure 2) are almost identical to the peaks observed in the *in natura* Pal and purified Pal samples, showing

small displacements. This behaviour suggests that the structure of Pal is preserved after its modification with AgNPs-CG.

The diffractogram of the Pal/AgNPs-CG nanocomposite shows a rapid decrease in the crystalline profile when compared with the Pal diffractogram. Also, after incorporation of CG-AgNPs, new discrete reflection peaks are observed, such as peaks at $2\theta = 38.1^\circ$ (111) and 44.2° (200), which correspond to the centre-faced cubic crystals of silver, according to JCPDS 04-0783. These results indicate the incorporation of nanoparticles on the clay surface, which is later confirmed by the FTIR and TEM results (Figures 3 and 4, respectively).

3.2.2 Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

Figure 3 shows the FTIR spectra obtained for GG, AgNPs-CG, Pal, and the Pal/AgNPs-CG nanocomposite. In the CG FTIR spectrum (red curve, Figure 3), that is, of the biopolymer used in the synthesis of CG-AgNPs, a broadband at 3404 cm^{-1} is observed due to the stretching vibrations of the O–H bonds present in the CG hydroxyl groups [14]. The absorption bands at 2927 cm^{-1} and 1649 cm^{-1} are respectively attributed to the C–H bond stretching vibrations and angular deformation of the O–H plane of the monosaccharide units (galactose, glucose, glucuronic acid, rhamnose, and arabinose) or water present in the biopolymer structure [41]. The band at 1270 cm^{-1} is due to the stretching of C–O groups in the carboxylic acids bonded to the aromatic ring. The bands at 1040 cm^{-1} , 1082 cm^{-1} , and 1122 cm^{-1} are assigned to C–O–C glycosidic bonds, as well as O–H bonds of alcohols [13]. The bands at 777 cm^{-1} and 646 cm^{-1} correspond to the out-of-plane deformations in the OH-groups [12].

In the AgNPs-CG spectrum (black curve), the bands previously observed for CG at 3404 cm^{-1} and 1649 cm^{-1} shift to 3432 cm^{-1} and 1645 cm^{-1} , respectively, due to the interaction of silver with the biopolymer. More significant evidence of this interaction is observed in the GC-AgNPs spectrum below 1300 cm^{-1} . This behaviour suggests that the primary interaction between AgNPs and CG occur through OH groups since the 777 cm^{-1} and 646 cm^{-1} bands observed in CG correspond to the out-of-plane deformation of these groups [12].

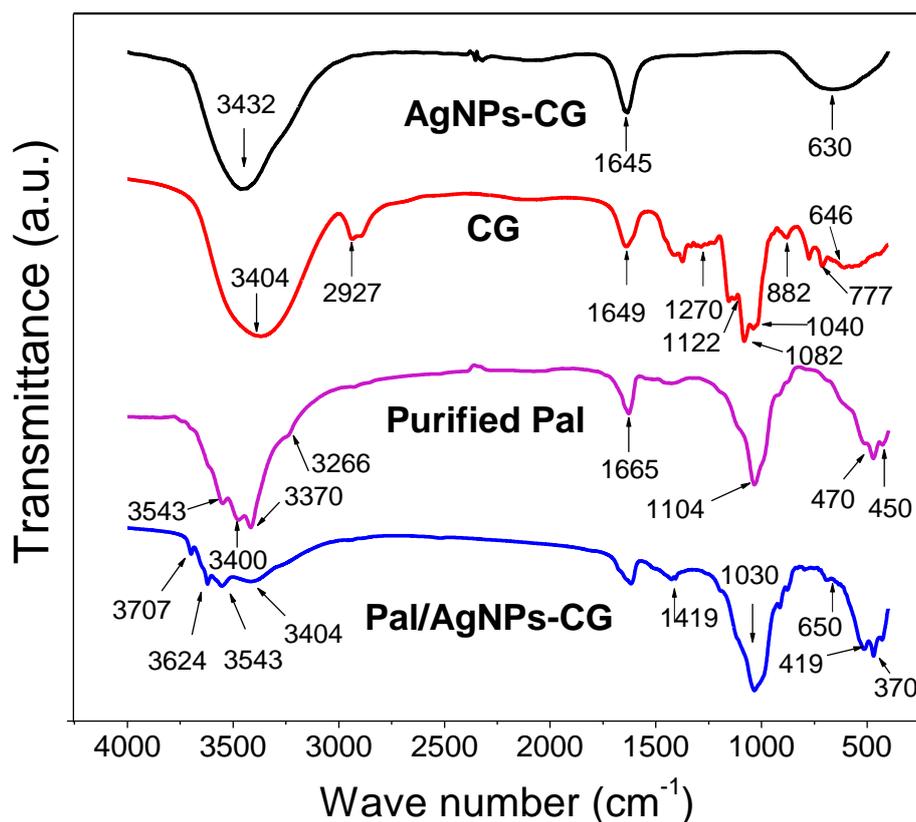


Figure 3. Fourier transform infrared (FTIR) spectra of silver nanoparticles stabilised with cashew gum (AgNPs-CG) obtained via green synthesis and the Pal/AgNPs-CG (Pal is palygorskite) nanocomposite. For comparative purposes, the FTIR of CG and Pal is also shown.

In the FTIR spectrum for purified Pal (Figure 3, violet curve), it is observed that the bonds present in its crystalline structure correspond to three types of interactions between water and clay: 1) coordinated or crystalline water that binds the magnesium ions to the hydroxyls in the octahedral sheet, 2) zeolitic water located in the channels that interact with coordinated water and the octahedral leaf, and 3) water physically adsorbed on the clay surface [42]. The bands at 3543 cm^{-1} , 3400 cm^{-1} , and 3370 cm^{-1} are water molecules present in the octahedral leaf terminal positions (coordinated water) and the water molecules present in the Pal channels (zeolitic water). These bands are also attributed to OH stretching in the Al-Mg-OH or Al-Fe⁺³-OH present in Pal groups [43]. The band observed at 1655 cm^{-1} is caused by the deformation of zeolitic water, adsorbed and coordinated [44]. The band at 1030 cm^{-1} refers to the stretching vibration of the Si-O bond in the tetrahedral sheet [45]. The bands at 450 cm^{-1} and 470 cm^{-1} refer to the Al-O stretching vibrations and O-Si-O strain on the tetrahedral sheet [46].

In the Pal/AgNPs-CG FTIR spectrum (blue curve, Figure 3) changes in intensity, displacement, and the appearance of new bands are observed when compared with isolated spectra of the materials that make up the nanocomposite. In the region between 3624 cm^{-1} and 3404 cm^{-1} , it is possible to observe a reduction in the intensity of the stretching bands of the O-H groups. This behaviour is caused by the intermolecular interactions between the O-H

groups in CG that bind with metals (Fe, Al, and Mg) present in the Pal structure, reinforcing the formation of the Pal/AgNPs-CG nanocomposite.

In the Pal/AgNPs-CG spectrum, a new band is observed at 3707 cm^{-1} , which is attributed to the vibrations associated with the stretching of the hydroxyls bound to the silica of the tetrahedral sheet, the O-H bound to the metals (Al, Fe, and Mg) of the clay, and the hydroxyls of adsorbed and zeolitic water. Another new band is observed at 650 cm^{-1} and may be related to the stretching vibration of zeolitic and adsorbed water bound to the Mg present in the octahedral sheet in the region of the Pal canal ends [47].

3.2.3 Morphological characterization of Pal and Pal/AgNPs-CG nanocomposite

Before examining the nanocomposite morphology, we investigated the effect of the Pal purification process on its morphology using SEM (see Figure 4). In addition to this study, analyses were performed by EDS seeking to clarify the composition of the clay mineral after the purification process (Supplementary Material, Figures S2 and S3). Finally, the incorporation of CG-AgNPs on the Pal surface was confirmed by TEM (see Figure 5).

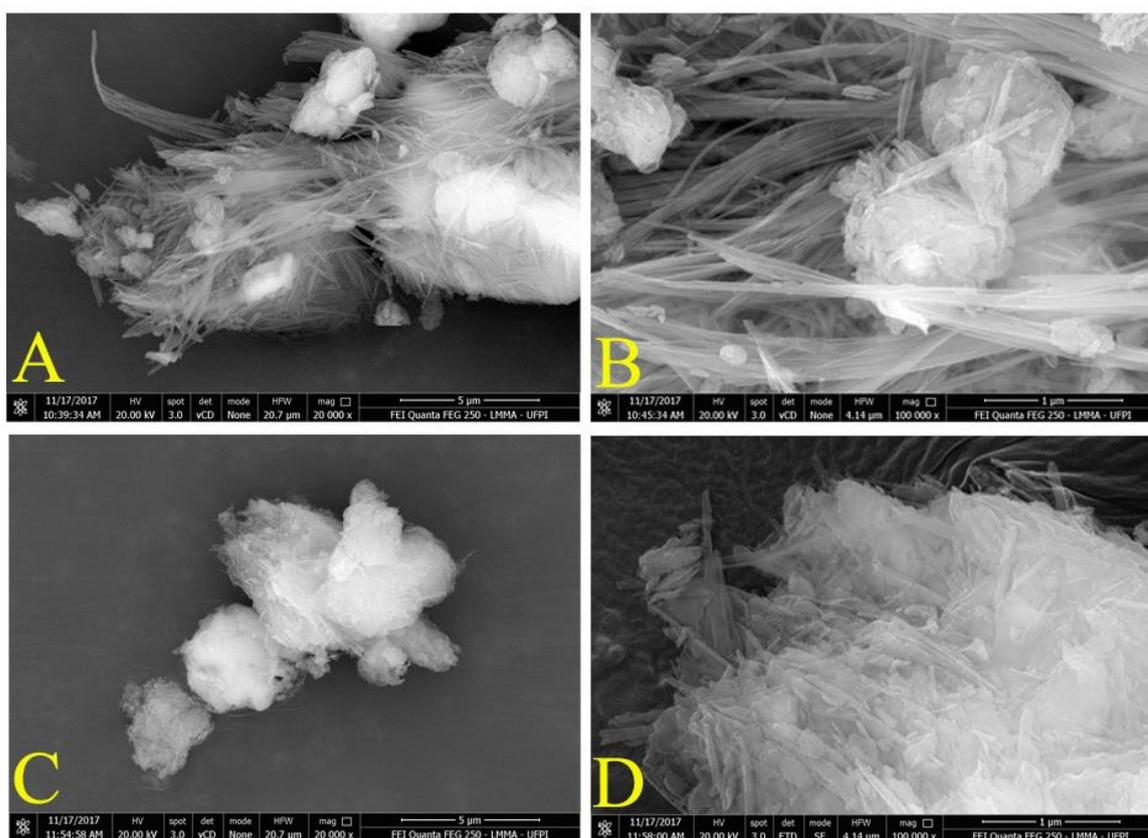


Figure 4. Scanning electron microscopy (SEM) micrographs of palygorskite (Pal) *in natura* (A and B) and purified Pal (C and D) enlarged to 20,000x and 100,000x, respectively.

The SEM micrographs, Figure 4, show that *in natura* Pal has a fibrous structure and can appear as agglomerates of tapes and needles of varying sizes. Such results are in agreement with the studies described in the literature [48,49]. Purified Pal presented little

Apêndice

difference in its morphology, maintaining the tendency to form irregular agglomerates and distribution of its fibres.

Pal fibre agglomerates may be caused by impurities and organic matter still present in the clay, or due to the dehydration process in the Pal drying process [50]. A summary of the results obtained from the EDS analyses (Figures S2 and S3) are presented in Table 1, where a reduction in the concentration of K, Ca, and Fe can be seen, which are generally reported as impurities present in Pal. An increase in the intensity of the peaks related to O and Mg, which are among the main constituents (Si, O, Mg, and Al) of this clay are also seen. Although the EDS technique is semi-quantitative, it is observed that the Pal purification process is successful and promotes a decrease in the number of impurities present in Pal *in natura*.

Table 1. Elements present in the structure of Pal *in natura* and purified Pal (obtained by EDS).

Elements	Pal <i>in natura</i>			Purified Pal		
	% mass	% atomic	% error	% mass	% atomic	% error
Oxygen	45.5	61.3	8.3	54.4	68.7	7.8
Magnesium	3.3	3.0	7.7	4.6	3.8	7.3
Aluminum	9.6	7.6	5.9	9.0	6.8	5.9
Silicon	27.0	22.1	5.2	23.7	17.8	5.2
Potassium	3.5	1.9	3.7	2.0	1.0	3.9
Iron	7.9	3.1	2.2	4.4	1.6	2.6
Calcium	3.2	1.0	3.9	0.6	0.3	4.1

Figure 5 shows the TEM micrographs of the Pal/AgNPs-CG nanocomposite. It can be observed that after the nanocomposite synthesis, small spherical particles appear on the surface of the Pal fibres. Most silver nanoparticles are found to be adsorbed on the Pal fibres. These results corroborate the data obtained by XRD, FTIR, and thermal analysis (Figure 6), which confirm that there are interactions between Pal and AgNPs-CG during the formation of the Pal/AgNPs-CG nanocomposite.

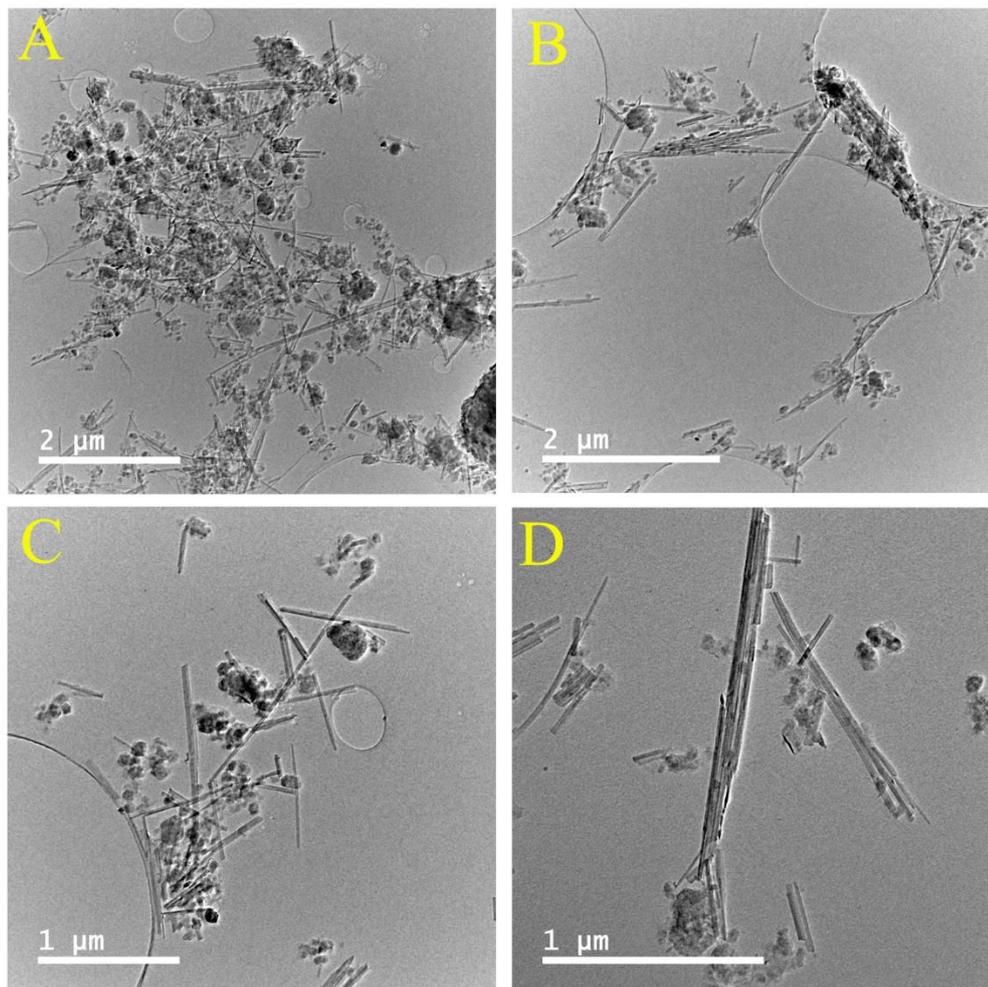


Figure 5. Transmission electron microscopy (TEM) images of the Pal supporting the silver nanoparticles stabilised with cashew gum (Pal/AgNPs-CG) nanocomposite.

3.2.4 Specific Surface Area (S_{BET})

Table 2 shows the results obtained in determining the surface area of Pal *in natura*, purified Pal, and the Pal/AgNPs-CG nanocomposite.

Table 2. Specific surface area values for Pal *in natura*, purified Pal, and the Pal/AgNPs-CG nanocomposite.

Sample	Surface Area ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)
Pal <i>in natura</i>	106.3
Purified Pal	118.5
Pal/AgNPs-CG	69.4

The results listed in Table 2 show that after Pal *in natura* passed the physical and chemical treatment processes, the surface area increased from $106.3 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ to $118.5 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. The surface area value found for Pal increased after impurities were removed (confirmed by

the XRD and EDS results). According to the literature, Pal sourced from the Guadalupe-PI region has a specific area of $\sim 113 \text{ m}^2/\text{g}$ [49], corroborating the results obtained here. This high specific surface area is due to the combination of microcrystals on the Pal structure and its fibrillar morphology and small grain size.

The increase in the surface area observed after the Pal purification process may be due to the cleanliness of the channels and the elimination of aggregate impurities such as carbonates, quartz, mica, smectites, and feldspars [39]. The treatment performed for Pal *in natura* possibly aids the disintegration of Pal particles, leading to the formation of more available spaces for nitrogen adsorption [51,52]. For the Pal/AgNPs-CG nanocomposite, a considerable decrease in specific surface area (almost half) was observed when compared to Pal, whether purified or not. This result was probably due to CG-AgNPs on the Pal surface, thus preventing the entry of nitrogen molecules into the clay pores [53]. The results obtained by TEM reinforce these conclusions.

3.2.5 Thermal analysis by thermogravimetry/derived thermogravimetry (TG/DTG) and differential scanning calorimetry (DSC)

The thermogravimetric analysis (TG) and derived thermogravimetry (DTG) curves show information about the thermal stability of the samples in the decomposition process. Differential scanning calorimetry (DSC) analysis provides information on the chemical and physical processes involving energy variations.

Figure 6 shows TG/DTG curves for Pal (Figure 6A), CG (Figure 6B), and Pal/AgNPs-CG (Figure 6C). Figure 6D shows the DSC results for all these systems. Pal's TG/DTG curve (Figure 6A) shows four major mass losses: the first 2.5% mass loss occurs at a maximum temperature (T_m) of $85 \text{ }^\circ\text{C}$, which corresponds to the loss of water molecules physically adsorbed, and a part of zeolitic water (located in the channels of Pal). The second mass loss of 1.8% occurs with a T_m of $196 \text{ }^\circ\text{C}$, which corresponds to the thermal dehydration of the remaining zeolitic water of the Pal structural layer. The third mass loss (approximately 7%) occurs at $T_m = 484 \text{ }^\circ\text{C}$ and is attributed to the coordination water loss linked to Pal's octahedral sheet ions and structural hydroxyls, as well as the condensation of silanol and aluminium groups [26]. The fourth mass loss (7.3%) for Pal is observed at a T_m of $708 \text{ }^\circ\text{C}$ and is attributed to the dehydroxylation processes of the Pal Mg-OH groups [54]. In this temperature range, the elimination of water molecules is accompanied by partial destruction of the Pal structure. Another point to be considered in the fourth mass loss is the release of carbon dioxide, since above $500 \text{ }^\circ\text{C}$ the carbonates present in Pal are thermally unstable, and their decomposition releases CO_2 [55].

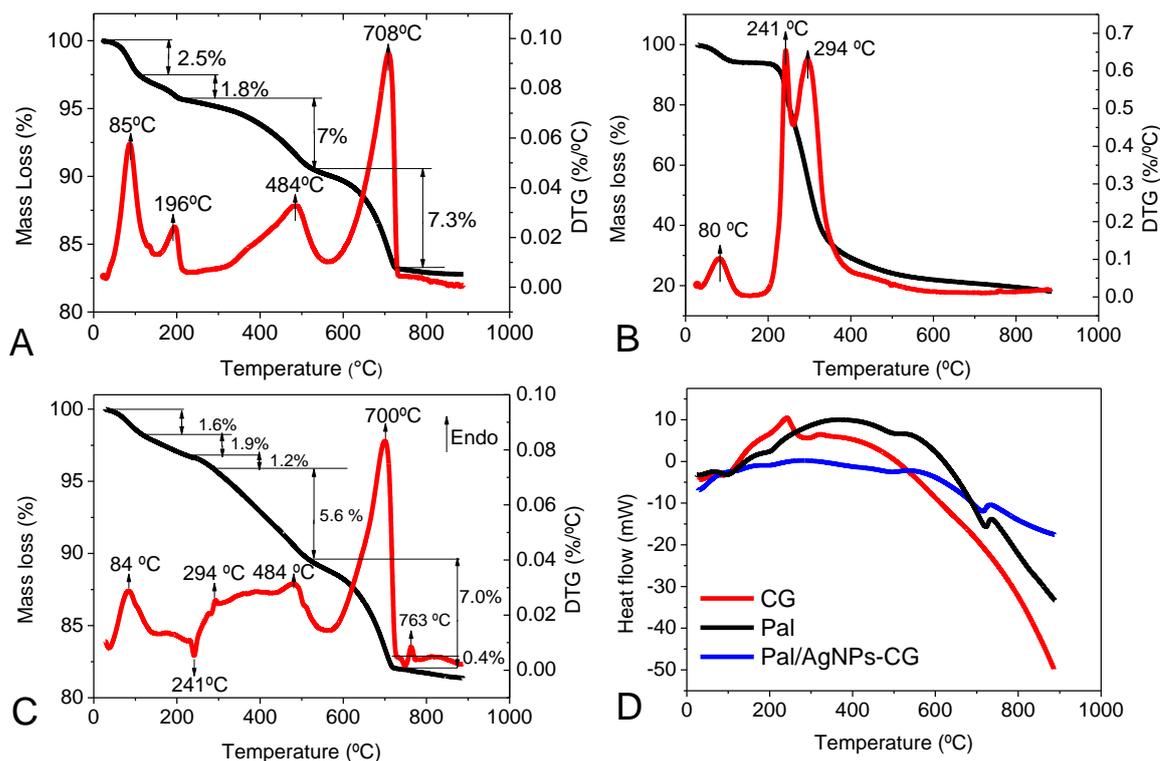


Figure 6. Thermogravimetric/differential thermogravimetric (TG/DTG) curves for A) Pal, B) CG and C) Pal/AgNPs-CG. D) shows the differential scanning calorimetry (DSC) results obtained for these systems. (Pal is Palygorskite, AgNPs-CG is silver nanoparticles stabilised with cashew gum.)

It is noteworthy that studies conducted with Pal extracted from different geographic regions suggest that the thermal behaviour may vary with Pal's physicochemical properties, as well as with its origin and quantity of impurities [48].

The TG/DTG curve for the Pal/AgNPs-CG nanocomposite (Figure 6C) shows six phases of mass loss. The first mass loss of 1.6% occurred at $T_m = 84^\circ\text{C}$, which is attributed to the loss of physically adsorbed molecules on the Pal surface and a portion of the zeolitic water. The second and third mass loss of 1.9% and 1.2% for Pal/AgNPs-CG occurs at the T_m of 241°C and 294°C , respectively, and are attributed to GC decomposition (also shown in Figure 6B), generating H_2O , CO , and CH_4 [56,57]. Also, the change from an endothermic to exothermic processes is observed at $T_m = 241^\circ\text{C}$, suggesting interactions between GC and AgNPs. The fourth mass loss of 5.6% for the nanocomposite occurs at $T_m = 484^\circ\text{C}$, equivalent to the maximum temperature shown by the Pal TG curve, which is due to the loss of coordination water molecules and condensation of silanol and aluminol groups. The fifth mass loss of 7.0% at $T_m = 703^\circ\text{C}$ occurs due to dehydroxylation of the Mg-OH groups, elimination of water and carbonate molecules, as described above for the Pal TG curve. The sixth mass loss observed at T_m of 761°C (which starts at 700°C) is due to the crystalline phase formation of Pal, such as olivine (Mg_2SiO_4), spinel (MgAl_2O_4), enstatite (MgSiO_3), sillimanite (Al_2SiO_5), and cristobalite (SiO_2) [58].

Table S1 (supplemental material) shows a summary of all TG/DTG events occurring for Pal, CG, and the Pal/AgNPs-CG nanocomposite. All values of initial temperature (T_i),

Apêndice

final temperature (T_f), and mass loss for the Pal/AgNPs-CG nanocomposite are lower than the values obtained for Pal. These results prove that, besides the nanocomposite formation, there is an improvement in thermal stability after modification of Pal with silver nanoparticles. At the end of the thermal analysis, the amount of total residual mass of the Pal/AgNPs-CG nanocomposite was 82.3%, higher than Pal (81.4%).

In the current source density (CSD) analysis, Figure 6D, Pal shows four low-intensity endothermic peaks, the first being observed between 120-230 °C ($T_{max} \sim 196$ °C), the second between 230-526 °C ($T_{max} \sim 484$ °C), and the third between 566-756 °C ($T_{max} \sim 708$ °C). These peaks corroborate the results obtained from the mass loss on the Pal TG/DTG curve.

The DSC curve of the Pal/AgNPs-CG nanocomposite (Figure 6D) shows the four endothermic peaks also reported for Pal DSC, as well as two other GC-related peaks, which occurred in the temperature range between 117-245 °C and 245-302 °C, with a maximum temperature of 241 °C and 294 °C, respectively, corroborating the CG data obtained using TG/DTG.

3.3 Evaluation of the antibacterial activity of the Pal/AgNPs-CG nanocomposite

The antibacterial activity of the Pal/AgNPs-CG nanocomposite was evaluated by the direct contact method against *E. coli* (gram-negative) and *S. aureus* (gram-positive). The results are presented in Figure 7 and Table 3. For comparative purposes, the inhibitory effect of AgNPs-CG and Pal also was evaluated.

From the results shown in Figure 7, we can see that Pal has no inhibitory effect against *E. coli* (Figure 7C) or *S. aureus* (Figure 7D) when compared with the control groups (Figures 7A and 7B, respectively). It is possible that the presence of Pal in the culture medium favours the growth of a larger amount of CFUs compared with the control groups, probably due to the occurrence of impurities and organic matter that was not completely removed during the purification process. On the other hand, CG-AgNPs inhibits the growth of *E. coli* (Figure 7E) at 64.7% and *S. aureus* (Figure 7F) at 43.1%.

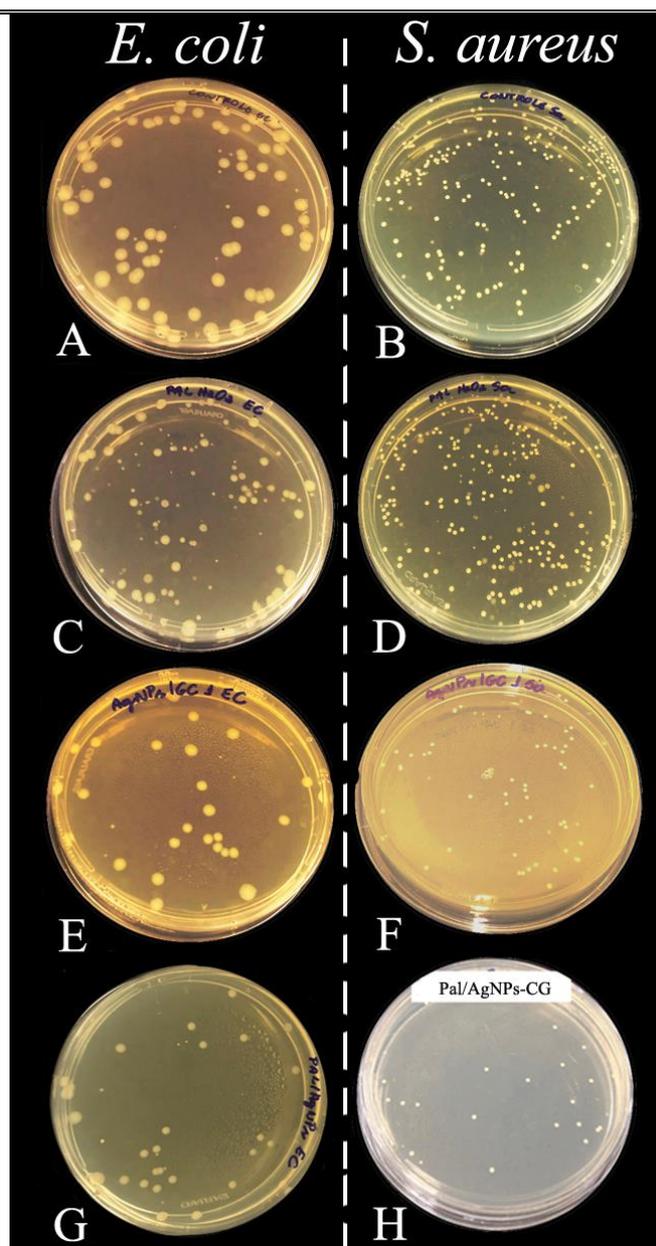


Figure 7. Inhibitory effect of Pal/AgNPs-CG nanocomposite against gram-positive and gram-negative bacteria. The left column shows the results obtained using an *E. coli* strain (ATCC 25.922): A) control; C) Pal vs *E. coli*; E) AgNPs-CG vs *E. coli* and G) Pal/AgNPs-CG vs *E. coli*. The right column shows the results obtained using *S. aureus* strain (ATCC 25.923): B) control; D) Pal vs *S. aureus*; F) AgNPs vs *S. aureus*; H) Pal/AgNPs-CG vs *S. aureus*. (Pal = palygorskite; AgNPs-CG = silver nanoparticles stabilized with cashew gum.)

The lower CG-AgNPs activity (Table 3) observed against *S. aureus* can be explained by the fact that these bacteria have a thicker cell wall (composed of peptidoglycan) when compared with the cell wall of gram-negative bacteria. Therefore, the gram-positive bacterial cell wall has greater physical protection, which may hinder the action of CG-AgNPs on its cell wall. The peptidoglycan layer in gram-negative bacteria is thinner, favouring faster action of CG-AgNPs on the cell wall of these bacteria, leading to inactivation or alteration of the bacterial protein structure that leads to cell death [59].

Table 3. The inhibitory effect on bacterial growth of *E. coli* (ATCC 25922) and *S. aureus* (ATCC 25923) promoted by the Pal/AgNPs-CG nanocomposite and their constituents. (Pal = palygorskite; AgNPs-CG = silver nanoparticles stabilized with cashew gum.)

Samples	Inhibitory effect (%)	
	<i>E. coli</i> (UFC/mL - %)	<i>S. aureus</i> (CFU/mL - %)
Saline Solution (Control)	0.0	0.0
Pal	0.0	0.0
AgNPs-CG	64.7 ± 1.23	43.1 ± 0.82
Pal/AgNPs-CG	70.2 ± 1.34	85.3 ± 1.62

A surprising effect was observed when CG-AgNPs were incorporated into Pal as a support matrix, generating the nanocomposite of interest. The synergistic effect between these nanomaterials increased the bactericidal activity previously observed for CG-AgNPs. The inhibitory effect of the nanocomposite against *E. coli* was 70.2% (Figure 7G) while for *S. aureus*, it was 85.3% (Figure 7H), almost double that observed when GC-AgNPs were used alone. Although the mechanisms of action between the nanocomposite and bacterial strains are not entirely understood, it is believed that the increased bactericidal effect against *S. aureus* may be related to the controlled release of CG-AgNPs from their support matrix (Pal) onto the membrane of these microorganisms. The high Pal surface area facilitates the contact of the nanocomposite with bacteria, improving the action of the CG-AgNPs.

The zeta potential (charge) of Pal/AgNPs-CG nanocomposite in solution is -12.2 mV (pH = 6.7), thus presenting a negative surface charge. This negative charge may have favoured a greater electrostatic interaction of the nanocomposite with the cell wall of *S. aureus* (positively charged), causing structural changes and degradation, leading these cells to death [60].

3.4 Toxicity test with *Artemia salina* (Acute toxicity test)

The bioassay with *A. salina* nauplii is considered useful for preliminary general toxicity assessments and is widely used because it is low cost and fast [61]. Results on the exposure of *Artemia salina* at different concentrations of Pal and Pal/AgNPs-CG nanocomposite are shown in Table 4.

Table 4. Toxicity test results (in triplicate) against *A. salina* using Pal and Pal/AgNPs-CG.

Concentration	Number of Living <i>A. Salina</i> (n)			
	Pal		Pal/AgNPs-CG	
	t = 24 h	t = 48 h	t = 24 h	t = 48 h
Control	10	10	10	10
0.1 mg·mL ⁻¹	10	9	10	9
0.5 mg·mL ⁻¹	10	9	10	9
1 mg·mL ⁻¹	10	9	10	9

Apêndice

5 mg·mL ⁻¹	10	9	10	9
10 mg·mL ⁻¹	10	9	10	9

* Control: Artificial saline solution.

In Table 4, it can be seen that no death of *A. Salina* nauplii occurred after the first 24 h in the five concentrations tested when Pal or Pal/AgNPs-CG were used. After 48 h, only one *A. salina* nauplii died for both samples tested.

Due to the high survival rate of organisms exposed to the samples and concentrations tested, it was not possible to calculate the lethal dose 50% (LD₅₀%).

Through the test performed, it is possible to suggest that the proposed nanocomposite presents low toxicity or is nontoxic since the LD₅₀ > 10 mg·mL⁻¹. According to the World Health Organization (WHO), toxic substances are those with LD₅₀ values below 1000 ppm [30].

4. CONCLUSION

The present study proposes a green synthesis and characterisation of a new nanocomposite based on palygorskite and silver nanoparticles reduced and stabilised with cashew gum (Pal/AgNPs-CG). The CG-AgNPs were adsorbed on the Pal surface, which acts as a support matrix for the nanoparticles. The incorporation of CG-AgNPs into Pal considerably increases the thermal stability and bactericidal effect of this nanocomposite against *E. coli* and *S. aureus* bacteria. For *S. aureus*, the inhibitory effect is 85.3% when Pal/AgNPs-CG is used, almost double that observed for CG-AgNPs (43.1%). A preliminary toxicity test using *A. salina* nauplii shows that the proposed nanocomposite has low toxicity. Therefore, this material is an excellent candidate for antimicrobial applications in biotechnology and related applications.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brazil) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, Brazil) for their financial support. The Federal University of Piauí (UFPI, Brazil) and the Federal Institute of Education, Science and Technology of Piauí (IFPI, Brazil) for providing working and research conditions.

REFERENCES

- 1- ALABDULMOHSEN, Z. A.; SAAD, A. Y. Antibacterial effect of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis*. *Saudi Endodontic Journal*, v.7, p. 29 - 35, 2017. DOI: 10.4103/1658-5984.197989

Apêndice

-
- 2- Patil, R. S., Kokate, M. R., Salvi, P. P., & Kolekar, S. S. (2011). A novel one step synthesis of silver nanoparticles using room temperature ionic liquid and their biocidal activity. *Comptes Rendus Chimie*, 14(12), 1122–1127. doi:10.1016/j.crci.2011.07.009.
 - 3- Sohrabnezhad, S., Rassa, M., & Seifi, A. (2016). Green synthesis of Ag nanoparticles in montmorillonite. *Materials Letters*, 168, 28–30. doi:10.1016/j.matlet.2016.01.025.
 - 4- Kaur, A., Goyal, D., & Kumar, R. (2018). Surfactant mediated interaction of vancomycin with silver nanoparticles. *Applied Surface Science*, 449, 23–30. doi:10.1016/j.apsusc.2017.12.066
 - 5- Kokura, S., Handa, O., Takagi, T., Ishikawa, T., Naito, Y., & Yoshikawa, T. (2010). Silver nanoparticles as a safe preservative for use in cosmetics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(4), 570–574. doi:10.1016/j.nano.2009.12.002 .
 - 6- Huang, Z., Jiang, X., Guo, D., & Gu, N. (2011). Controllable Synthesis and Biomedical Applications of Silver Nanomaterials. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(11), 9395–9408. doi:10.1166/jnn.2011.5317
 - 7- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Debut, A., & Pathak, R. N. (2014). Sonochemical Synthesis of Silver Nanoparticles Using Starch: A Comparison. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2014, 1–8. doi:10.1155/2014/784268
 - 8- Chahar, V., Sharma, B., Shukla, G., Srivastava, A., & Bhatnagar, A. (2018). Study of antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized using green and chemical approach. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 554, 149–155. doi:10.1016/j.colsurfa.2018.06.012
 - 9- Parashar, Vyom & Parashar, Rashmi & Sharma, Bechan & Pandey, Avinash. (2009). Parthenium leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles: A novel approach towards weed utilization. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 4, 4–50.
 - 10- Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., & Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(2), 257–262. doi:10.1016/j.nano.2009.07.002
 - 11- Bindhu, M. R., & Umadevi, M. (2015). Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 135, 373–378. doi:10.1016/j.saa.2014.07.045.
 - 12- Araruna, F. B., Quelemes, P. V., de Faria, B. E. F., Kuckelhaus, S. A. S., Marangoni, V. S., Zucolotto, V., da Silva, D. A., Júnior, J. R. S., Leite, J. R. S. A., Eiras, C. (2013). Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Reduced and Stabilized by Cashew Tree Gum. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 5, 1 - 4. Doi: 10.1166/ asem.2013.1366
 - 13- Quelemes, P. V., de Araújo, A. R., Plácido, A., Delerue-Matos, C., Maciel, J. S., Bessa, L. J. Leite, J. R. S. A. (2017). Quaternized cashew gum: An anti-staphylococcal and biocompatible cationic polymer for biotechnological applications. *Carbohydrate Polymers*, 157, 567–575. doi:10.1016/j.carbpol.2016.10.026 .

Apêndice

-
- 14- Quelemes, P., Araruna, F., de Faria, B., Kuckelhaus, S., da Silva, D., Mendonça, R., Leite, J. R. (2013). Development and Antibacterial Activity of Cashew Gum-Based Silver Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 4969–4981. doi:10.3390/ijms14034969
- 15- Moreira, B. R., Batista, K. A., Castro, E. G., Lima, E. M., & Fernandes, K. F. (2015). A bioactive film based on cashew gum polysaccharide for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, 122, 69–76. doi:10.1016/j.carbpol.2014.12.067
- 16- Awakan, O. J., Malomo, S. O., Adejare, A. A., Igundu, A., Atolani, O., Adebayo, A. H., & Owoyele, B. V. (2018). Anti-inflammatory and bronchodilatory constituents of leaf extracts of *Anacardium occidentale* L. in animal models. *Journal of Integrative Medicine*, 16(1), 62–70. doi:10.1016/j.joim.2017.12.009.
- 17- Rivero, P.J., Urrutia, A., Goicoechea, J., Arregui F. J. (2015) Nanomaterials for functional textiles and fibers. *Nanoscale Research Letters*, 10, 501- 523. doi:10.1186/s11671-015-1195-6
- 18- Li, Y., & Chan, Y. C. (2015). Effect of silver (Ag) nanoparticle size on the microstructure and mechanical properties of Sn58Bi–Ag composite solders. *Journal of Alloys and Compounds*, 645, 566–576. doi:10.1016/j.jallcom.2015.05.023
- 19- Eremenko, A. M., Petrik, I. S., Smirnova, N. P., Rudenko, A. V., & Marikvas, Y. S. (2016). Antibacterial and Antimycotic Activity of Cotton Fabrics, Impregnated with Silver and Binary Silver/Copper Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 11(1). doi:10.1186/s11671-016-1240-0
- 20- Husen, A., & Siddiqi, K. (2014). Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale Research Letters*, 9(1), 229. doi:10.1186/1556-276x-9-229
- 21- Raju, A., Lakshmi, V., Vishnu Prataap, R. K., Resmi, V. G., Rajan, T. P. D., Pavithran, C., Mohan, S. (2016). Adduct modified nano-clay mineral dispersed polystyrene nanocomposites as advanced corrosion resistance coatings for aluminum alloys. *Applied Clay Science*, 126, 81–88. doi:10.1016/j.clay.2016.03.005 .
- 22- Han, S., Zhang, H., Kang, L., Li, X., Zhang, C., Dong, Y., & Qin, S. (2016). A Convenient Ultraviolet Irradiation Technique for Synthesis of Antibacterial Ag-Pal Nanocomposite. *Nanoscale Research Letters*, 11(1). doi:10.1186/s11671-016-1643-y
- 23- Zeng, H. F., Lin, L. J., Xi, Y. M., & Han, Z. Y. (2017). Effects of raw and heated palygorskite on rumen fermentation in vitro. *Applied Clay Science*, 138, 125–130. doi:10.1016/j.clay.2017.01.006
- 24- Xavier, K. C. M., Santos, M. S. F., Osajima, J. A., Luz, A. B., Fonseca, M. G., & Silva Filho, E. C. (2016). Thermally activated palygorskites as agents to clarify soybean oil. *Applied Clay Science*, 119, 338–347. doi:10.1016/j.clay.2015.10.037
- 25- Carazo, E., Borrego-Sánchez, A., García-Villén, F., Sánchez-Espejo, R., Viseras, C., Cerezo, P., & Aguzzi, C. (2018). Adsorption and characterization of palygorskite-isoniazid nanohybrids. *Applied Clay Science*, 160, 180–185. doi:10.1016/j.clay.2017.12.027
-

Apêndice

- 26- Ogorodova, L., Viggasina, M., Melchakova, L., Krupskaya, V., & Kiseleva, I. (2015). Thermochemical study of natural magnesium aluminum phyllosilicate: Palygorskite. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 89, 205–211. doi:10.1016/j.jct.2015.05.023
- 27- De Paula, R. C. M., Heatley, F., & Budd, P. M. (1998). Characterization of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. *Polymer International*, 45(1), 27–35. doi:10.1002/(sici)1097-0126(199801)45:1<27::aid-pi900>3.0.co;2-9
- 28- Santana, A. C. S. G. V., Soares Sobrinho, J. L., da Silva Filho, E. C., & Nunes, L. C. C. (2017). Preparation and physicochemical characterization of binary composites palygorskite–chitosan for drug delivery. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 128(3), 1327–1334. doi:10.1007/s10973-016-6075-5
- 29- Brunauer, S., Emmett, P. H., & Teller, E. (1938). Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60(2), 309–319. doi:10.1021/ja01269a023
- 30 Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., & McLaughlin, J. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(05), 31–34. doi:10.1055/s-2007-971236
- 31- Pinto, V. V., Ferreira, M. J., Silva, R., Santos, H. A., Silva, F., & Pereira, C. M. (2010). Long time effect on the stability of silver nanoparticles in aqueous medium: Effect of the synthesis and storage conditions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 364(1-3), 19–25. doi:10.1016/j.colsurfa.2010.04.015
- 32- Antunes, F. S., Dal'Acqua, N., Bergmann, C. P., Giovanela M. (2013) Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, 9, 20 - 26. doi: 10.4013/ete.2013.91.03
- 33- Melo Jr., M. A., Santos, L. S. S., Gonçalves, M. do C., & Nogueira, A. F. (2012). Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. *Química Nova*, 35(9), 1872–1878. doi:10.1590/s0100-40422012000900030 .
- 34- Noguez, C. Surface plasmons on metal nanoparticles the influence of shape and physical environment. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 111, p. 3806 - 3819, 2007.
- 35- Mulfinger, L., Solomon, S. D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A. V., Rutkowsky, S. A., & Boritz, C. (2007). Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, 84(2), 322. doi:10.1021/ed084p322
- 36- Vanitha, G., Rajavel, K., Boopathy, G., Veeravazhuthi, V., & Neelamegam, P. (2017). Physicochemical charge stabilization of silver nanoparticles and its antibacterial applications. *Chemical Physics Letters*, 669, 71–79. doi:10.1016/j.cplett.2016.11.037.
- 37- Edison, T. N. J. I., Atchudan, R., Sethuraman, M. G., & Lee, Y. R. (2016). Reductive-degradation of carcinogenic azo dyes using *Anacardium occidentale* testa derived silver nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 162, 604–610. doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.07.040.

Apêndice

- 38- Yang, R., Li, D., Li, A., & Yang, H. (2018). Adsorption properties and mechanisms of palygorskite for removal of various ionic dyes from water. *Applied Clay Science*, 151, 20–28. doi:10.1016/j.clay.2017.10.016.
- 39- Oliveira, A. M. B. M., Coelho, L. F. O., Gomes, S. S. S., Costa, I. F., Fonseca, M. G., de Sousa, K. S., da Silva Filho, E. C. (2013). Brazilian Palygorskite as Adsorbent for Metal Ions from Aqueous Solution—Kinetic and Equilibrium Studies. *Water, Air, & Soil Pollution*, 224(9). doi:10.1007/s11270-013-1687-x.
- 40- Tao, C., Hejing, W., Xiaoping, Z., & Nan, Z. (2010). SAED and HRTEM Investigation of Palygorskite. *Acta Geologica Sinica - English Edition*, 82(2), 385–391. doi:10.1111/j.1755-6724.2008.tb00588.x.
- 41- Silva, F. E. F., Batista, K. A., Di-Medeiros, M. C. B., Silva, C. N. S., Moreira, B. R., & Fernandes, K. F. (2016). A stimuli-responsive and bioactive film based on blended polyvinyl alcohol and cashew gum polysaccharide. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 927–934. doi:10.1016/j.msec.2015.09.064.
- 42- Gionis, V. (2006). On the structure of palygorskite by mid- and near-infrared spectroscopy. *American Mineralogist*, 91(7), 1125–1133. doi:10.2138/am.2006.2023
- 43- Carazo, E., Borrego-Sánchez, A., García-Villén, F., Sánchez-Espejo, R., Aguzzi, C., Viseras, C., Cerezo, P. (2017). Assessment of halloysite nanotubes as vehicles of isoniazid. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 160, 337–344. doi:10.1016/j.colsurfb.2017.09.036.
- 44- Suárez, M., & García-Romero, E. (2006). FTIR spectroscopic study of palygorskite: Influence of the composition of the octahedral sheet. *Applied Clay Science*, 31(1-2), 154–163. doi:10.1016/j.clay.2005.10.005.
- 45- Rusmin, R., Sarkar, B., Biswas, B., Churchman, J., Liu, Y., & Naidu, R. (2016). Structural, electrokinetic and surface properties of activated palygorskite for environmental application. *Applied Clay Science*, 134, 95–102. doi:10.1016/j.clay.2016.07.012.
- 46- Yan, W., Liu, D., Tan, D., Yuan, P., & Chen, M. (2012). FTIR spectroscopy study of the structure changes of palygorskite under heating. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 1052–1057. doi:10.1016/j.saa.2012.07.085.
- 47- Yan, W., Yuan, P., Chen, M., Wang, L., & Liu, D. (2013). Infrared spectroscopic evidence of a direct addition reaction between palygorskite and pyromellitic dianhydride. *Applied Surface Science*, 265, 585–590. doi:10.1016/j.apsusc.2012.11.051.
- 48- Cheng, H., Yang, J., & Frost, R. L. (2011). Thermogravimetric analysis-mass spectrometry (TG-MS) of selected Chinese palygorskites—Implications for structural water. *Thermochimica Acta*, 512(1-2), 202–207. doi:10.1016/j.tca.2010.10.008.
- 49- Xavier, K. C. M., Silva Filho E. C., Santos, M. S. F., Santos, M. R. M. C., da Luz, A. B. (2012). Caracterização mineralógica, morfológica e de superfície da atapulgita de Guadalupe-PI. *Holos*, 5, 60 – 70. Doi: 10.15628/holos.2012.1111
- 50- Fan, Q., Li, P., Chen, Y., & Wu, W. (2011). Preparation and application of atapulgite/iron oxide magnetic composites for the removal of U(VI) from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, 192(3), 1851–1859. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.07.022.

Apêndice

-
- 51- Komadel, P. (2016). Acid activated clays: Materials in continuous demand. *Applied Clay Science*, 131, 84–99. doi:10.1016/j.clay.2016.05.001.
- 52- Zhu, J., Zhang, P., Wang, Y., Wen, K., Su, X., Zhu, R., Xi, Y. (2018). Effect of acid activation of palygorskite on their toluene adsorption behaviors. *Applied Clay Science*, 159, 60–67. doi:10.1016/j.clay.2017.07.019.
- 53- YILMAZ, N., & YAPAR, S. (2004). Adsorption properties of tetradecyl- and hexadecyl trimethylammonium bentonites. *Applied Clay Science*, 27(3-4), 223–228. doi:10.1016/j.clay.2004.08.001
- 54- Boudriche, L., Calvet, R., Hamdi, B., & Balard, H. (2012). Surface properties evolution of attapulgite by IGC analysis as a function of thermal treatment. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 399, 1–10. doi:10.1016/j.colsurfa.2012.02.015.
- 55- Frost, R. L., & Ding, Z. (2003). Controlled rate thermal analysis and differential scanning calorimetry of sepiolites and palygorskites. *Thermochimica Acta*, 397(1-2), 119–128. doi:10.1016/s0040-6031(02)00228-9.
- 56- Zohuriaan, M. ., & Shokrolahi, F. (2004). Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer Testing*, 23(5), 575–579. doi:10.1016/j.polymertesting.2003.11.001.
- 57- Da Silva, D. A., de Paula, R. C. M., & Feitosa, J. P. A. (2007). Graft copolymerisation of acrylamide onto cashew gum. *European Polymer Journal*, 43(6), 2620–2629. doi:10.1016/j.eurpolymj.2007.03.041.
- 58- Baltar, C., Da Luz, A., Baltar, L., De Oliveira, C., & Bezerra, F. (2009). Influence of morphology and surface charge on the suitability of palygorskite as drilling fluid. *Applied Clay Science*, 42(3-4), 597–600. doi:10.1016/j.clay.2008.04.008.
- 59- Venkatpurwar, V., & Pokharkar, V. (2011). Green synthesis of silver nanoparticles using marine polysaccharide: Study of in-vitro antibacterial activity. *Materials Letters*, 65(6), 999–1002. doi:10.1016/j.matlet.2010.12.057 .
- 60- Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177–182. doi:10.1016/j.jcis.2004.02.012 .
- 61- Nunes, B. S., Carvalho, F. D., Guilhermino, L. M., & Van Stappen, G. (2006). Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental Pollution*, 144(2), 453–462. doi:10.1016/j.envpol.2005.12.037 .