

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA
ENGENHARIA

**Cobertura com potencial para tratamento de ferida de
queimadura a partir de membrana de poli (vinil álcool),
dendrímero de poliglicerol, extrato de *Cinnamomum*
zeylanicum, e nanopartículas de prata**

Pollyanna Marcondes

ITAJUBÁ/MG

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA
ENGENHARIA

Pollyanna Marcondes

**Cobertura com potencial para tratamento de ferida de
queimadura a partir de membrana de poli (vinil álcool),
dendrímico de poliglicerol, extrato de *Cinnamomum*
zeylanicum, e nanopartículas de prata**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Materiais para Engenharia como parte dos requisitos
para obtenção do Título de Doutor em Ciência e
Engenharia de Materiais

Área de concentração: Não metais

Orientadora: Prof^a Dr.^a Maria Elena Leyva González

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Gisela M. Rosas Helou

ITAJUBÁ/MG

2023

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Mauá –
Bibliotecária XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA
ENGENHARIA

Pollyanna Marcondes

**Cobertura com potencial para tratamento de ferida de
queimadura a partir de membrana de poli (vinil álcool),
dendrímero de poliglicerol, extrato de *Cinnamomum*
zeylanicum, e nanopartículas de prata**

Tese aprovada pela Banca Examinadora em 07 de
março de 2023, conferindo à autora o título de
Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais.

Banca examinadora:

Prof.^a Dr.^a Maria Elena Leyva Gonzalez

Prof.^a Dr.^a Mirta Mir Caraballo

Prof. Dr. Sandro José de Andrade

Prof.^a Dr.^a Maria Fernanda Xavier Pinto Medeiros

Prof.^a Dr.^a Gisela Maria Rosas Helou

Prof.^a Dr.^a Cristiane Giffone Braga

ITAJUBÁ/MG

2023

DEDICATÓRIA

Ao meu filho Nathan Marcondes, que sempre me apoiou, mesmo nas ausências e nos momentos de dificuldade. Dedico-lhe todo o meu trabalho e a minha conquista.

AGRADECIMENTOS

Ao nosso Pai Todo Poderoso, autor do dom da vida, que nos sustentou todo o tempo para vencer as dificuldades. Deus é bom, em todo o tempo Ele é bom. A Ele toda Honra e Glória.

À professora Doutora Maria Elena Leyva González, que me acolheu filialmente no seu grupo de pesquisa e depositou em mim a confiança necessária para levar adiante esse projeto. Pelo apoio e pela disponibilidade constantes e acompanhamento científico, no percurso acadêmico, meus sinceros agradecimentos.

Também agradeço imensamente ao professor Doutor Álvaro Antônio Alencar de Queiroz, exemplo de sabedoria, dedicação e brilhantismo. Muita honra pelo início de sua orientação, incentivo e conselhos em cada momento que passamos juntos.

Agradeço a todos os técnicos dos laboratórios pela colaboração nas atividades laboratoriais.

Ao meu filho Nathan Marcondes agradeço com muito orgulho, pois me ajudou com os primeiros conhecimentos sobre assuntos na área da Engenharia de Materiais, e sempre acreditou em mim com orgulho, estímulo, carinho e presença constante, suportando comigo cada dor ao longo deste caminho. Deus lhe abençoe, meu filho!

“Cuidem para que ninguém retribua o mal com mal, mas procurem sempre o bem uns dos outros e de todos.”

(1Te 5, 15)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 Queimaduras	20
2.1.1 Processo de Cicatrização	21
2.2 Técnicas e Curativos utilizados em queimaduras	23
2.2.1 Nanopartículas de prata	24
2.2.2 Principais usos das Nanopartículas de Prata	28
2.2.3 Toxicidade ambiental das Nanopartículas de Prata	29
2.3 Síntese Verde de Nanopartículas de Prata	30
2.4 Liberação controlada de fármacos a partir de membranas poliméricas	31
3. OBJETIVOS	32
3.1 Objetivos específicos	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1 Materiais	33
4.2 Preparação da membrana PVA/DPG-NPsAg	33
4.4 Técnicas de Caracterização	38
4.4.1 Espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-vis)	38
4.4.2 Espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	39
4.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)	39
4.4.4 Estudo de liberação “ <i>in vitro</i> ” das NPsAg	39
4.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	40
4.4.7. Difração de raios-X	40
4.4.8. Atividade antimicrobiana	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 Caracterização físico-química do extrato vegetal de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	41
5.2 Síntese verde e preparação dos filmes PVA/DPG-NPsAg	45
5.2 Caracterização dos filmes e membranas de PVP/DPG-NPsAg	51
5.2.1 Análises da estrutura molecular (FTIR)	51
5.2.2 Análises do comportamento térmico (TGA)	54
5.2.3 Difração de Raios-X	63
5.2.4 Microscopia eletrônica (MEV)	65
	66
5.3 Estudo de liberação	68
5.4 Atividade antimicrobiana	70
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	72

6.1 Conclusões	72
6.2 Recomendações para trabalhos futuros	73
REFERÊNCIAS	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ação das nanopartículas de prata em uma bactéria	27
Figura 2: Materiais utilizados	33
Figura 3: Solução do extrato-Cz sendo filtrada a gravidade	34
Figura 4: Sistemas A, B e C nas concentrações descritas na Tabela 2, após a síntese verde...36	
Figura 5: Filmes PVA/DPG-NPsAg sobre moldes de teflon	36
Figura 6: Filmes antes de serem levados à estufa para processo de cura	37
Figura 7: Espectro UV-vis do extrato-Cz	42
Figura 8: Espectro FTIR do extrato-Cz	43
Figura 9: Curva TGA/DTGA do extrato-Cz	44
Figura 10: Esquema de síntese verde de NPsAg com extrato-Cz (Fonte: próprio autor)	45
Figura 11: Espectro UV-vis da solução da síntese verde de PVA/DPG-NPsAg 5.....	46
Figura 12: Espectro UV-vis da solução da síntese verde de PVA/DPG-NPsAg 10.....	46
Figura 13: Espectro UV-vis da solução da síntese verde de PVA/DPG-NPsAg 20.....	47
Figura 14: Comportamento da banda RPS com a concentração de extrato-Cz.....	48
Figura 15: Normalização das curvas UV-vis das Figuras 11, 12 e 13	49
Figura 16: Filmes de PVP/DPG-NPsAg após evaporação do solvente.....	50
Figura 17: Imagens das membranas de PVP/DPG-NPsAg, após a reação de curado dos filmes.	50
Figura 18: Espectro FTIR comparativo do filme e da membrana PVP/DPG-NPsAg 5.....	51
Figura 19: Reação de curado do ácido cítrico e as macromoléculas PVA e DPG. (Fonte: próprio autor).....	52
Figura 20: Espectro FTIR comparativo das membranas de PVP/DPG-NPsAg.....	53
Figura 21: Perfil TGA/DTGA do filme PVA/DPG- NPsAg 5 a 20 °C/min	55
Figura 22: Perfil TGA/DTGA da membrana PVA/DPG- NPsAg 5 a 20°C/min	56
Figura 23: Perfil TGA/DTGA do filme PVA/DPG-NPsAg 10 a 20 °C/min.	57
Figura 24: Perfil TGA/DTGA da membrana PVA/DPG- NpsAg10 a 20°C/min	58
Figura 25: Perfil TGA/DTGA do filme PVA/DPG- NPsAg20 a 20°C/min	59
Figura 26: Perfil TGA/DTGA da membrana PVA/DPG-NPsAg 20 a 20 °C/min	60
FIGURA 27: Curvas TGA comparativa dos filmes “sistemas sem curar” e das membranas “filmes curados” (a) PVA/DPG- NPsAg 5, (b) PVA/DPG- NPsAg 10, (c) PVA/DPG- NPsAg 20	61
Figura 28: Curvas TGA comparativa das diferentes amostras PVA/DPG-NPsAg estudadas filmes (a) e membranas (b).....	63
Figura 29: DRX das membranas PVA/DPG-NPsAg	64
Figura 30: MEV das membranas PVA/DPG curadas (a) NPsAg 5, (b) NPsAg 10, (c) NPsAg 20	66
Figura 31: MEV-EDS PVA/DPG curadas (a) NPsAg 5, (b) NPsAg 10, (c) NPsAg 20	67
Figura 32: Liberação das NPsAg no tempo a 25°C.....	69
Figura 33: Atividade antimicrobiana, (a) PVA/DPG-NPsAg 5; (b) PVA/DPG-NPsAg 10; (c) PVA/DPG-NPsAg 20	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tamanho da Nanopartícula x Redução dos Microrganismos	27
Tabela 2. Composição das membranas de PVA/DPG-NPsAg.....	37
Tabela 3. Assinalamento das bandas dos espectros FTIR apresentados na Figura 13	52
Tabela 4. Determinação da razão de intensidade entre as bandas de vibração de estiramento das ligações OH e CH.	53
Tabela 5. Principais eventos térmicos e perdas de massa do filme PVA/DPG-NPsAg 5	55
Tabela 6. Principais eventos térmicos e perdas de massa da membrana PVA/DPG-NPsAg 5	56
Tabela 7. Principais eventos térmicos e perdas de massa do filme PVA/DPG-NPsAg 10	57
Tabela 8. Principais eventos térmicos e perdas de massa da membrana PVA/DPG-NPsAg 10	58
Tabela 9. Principais eventos térmicos e perdas de massa do filme PVA/DPG-NPsAg 20	59
Tabela 10. Principais eventos térmicos e perdas de massa da membrana PVA/DPG-NPsAg 20	60
Tabela 11. Parâmetros da cinética de liberação das NPsAg	69

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag ⁺	Prata
AgNO ₃	Nitrato de prata
ATR Reflexão	Total Atenuada
AGE	Ácidos Graxos Essenciais
Ag-SD	Sulfadiazina de prata
CE	Celulose
Cz	<i>Cinnamomum zelanicum</i>
DNA	Desoxirribonucleic Acid (AND – Ácido Desoxirribonucleico)
DTGA	Termogravimetria derivada
DRX	Difração de Raio X
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva
EGF	Fator de crescimento epidérmico
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Extrato-Cz	Extrato de <i>Cinnamomum zeulanicum</i>
FGF	Fator de crescimento derivado dos fibroblastos
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NPsAg	Nanopartículas de prata
PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
PVA	Poli (vinil álcool)
PNIPAm	Poli (n-isopropilacrilamida)
RNA	Ribonucleic Acid (ARN – Ácido Ribonucleico)
RPS	Ressonância de plasmon de superfície
TGA	Análise Termogravimétrica
TGAF-β	Fator de crescimento de transformação beta
UV-vis	Ultravioleta visível

RESUMO

MARCONDES, P. **Cobertura com potencial para tratamento de ferida de queimadura a partir de membrana de poli (vinil álcool), dendrímero de poliglicerol, extrato de *Cinnamomum zeylanicum*, e nanopartículas de prata.** Tese de Doutorado. Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI), Itajubá/MG, 2023.

Neste trabalho, estudou-se a síntese verde de nanopartículas de prata (NPsAg) usando extrato vegetal de *Cinnamomum zeylanicum* (extrato-Cz) como agente redutor. A síntese verde das NPsAg foi realizada na presença da matriz polimérica de poli (vinil álcool) (PVA) e dendrímero de poliglicerol (DPG). O extrato-Cz foi preparado pela técnica ultrassônica e caracterizado por espectroscopia UV-visível (UV-vis), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), visando avaliar a composição química. O espectro UV-vis confirmou a presença de cinamaldeído. O FTIR confirmou a presença de ligações carbonila (C=O) de aldeído, álcool (O-H) e glicosídica (C-O-C). A análise termogravimétrica (TGA) do extrato-Cz confirmou a presença de compostos termicamente estáveis no extrato vegetal. A síntese verde de NPsAg foi realizada usando diferentes quantidades (5, 10 e 20 mL) de extrato-Cz. A banda de ressonância de plasmon de superfície (RPS), no espectro de UV-vis, confirmou a formação das NPsAg nas sínteses verdes estudadas. Os filmes PVA/DPG-NPsAg foram obtidos pela técnica de vazado (evaporação do solvente) sobre moldes de teflon. As membranas foram obtidas a partir dos filmes após a reticulação do PVA com ácido cítrico, visando a uma maior estabilidade dimensional. As membranas foram caracterizadas por FTIR, TGA, difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e atividade antimicrobiana. A caracterização por FTIR e TGA mostraram diferenças entre os sistemas PVA/DPG-NPsAg sem curar (filmes) e curados (membranas). O padrão de DRX confirmou a presença de prata metálica, com média de tamanho dos cristalitos, calculados por Scherrer, de 13,64 nm, 16,63 nm e 20,27 nm para NPsAg preparadas com 5 mL, 10 mL e 20 mL de extrato-Cz, respectivamente. Para estudar o mecanismo de liberação das NPsAg, foi utilizado o modelo cinético de Korsmeyer-Peppas e Higuchi. Os resultados sugeriram que a liberação de NPsAg se ajustou ao modelo cinético de Korsmeyer-Peppas. Os resultados antimicrobianos revelaram que o sistema PVA/DPG-NPsAg5 foi o que apresentou melhor comportamento antibacteriano contra *Escherichia coli*.

Palavras-chave: *Cinnamomum zeylanicum*, síntese verde, nanopartículas de prata poli (álcool vinílico), dendrímero de poliglicerol

ABSTRACT

MARCONDES, P. **Coverage with potential for burn wound treatment from poly (vinyl alcohol) membrane, polyglycerol dendrimer, Cinnamomum zeylanicum extract, and silver nanoparticles.** Doctoral thesis. Federal University of Itajubá (UNIFEI), Itajubá/MG, 2023.

In the present article, the green synthesis of silver nanoparticles (NPsAg) was studied using plant extract of *Cinnamomum zeylanicum* (Cz-extract) as the reducing agent. The green synthesis of NPsAg was performed in the presence of the polymer matrix of poly (vinyl alcohol) (PVA) and polyglycerol dendrimer (DPG). The Cz-extract was prepared by ultrasonic technique and characterized by UV-visible spectroscopy (UV-vis), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), aiming to evaluate the chemical composition. The UV-vis spectrum confirmed the presence of cinnamaldehyde. FTIR confirmed the presence of carbonyl (C=O) aldehyde, alcohol (O-H) and glycosidic (C-O-C) bonds. The thermogravimetric analysis (TGA) of the Cz-extract confirmed the presence of thermally stable compounds in the plant extract. The green synthesis of NPsAg was performed using different amounts (5, 10 and 20 mL) of Cz-extract. The surface plasmon resonance (SPR) band in the UV-vis spectrum confirmed the formation of NPsAg in the green syntheses studied. The PVA/DPG-NPsAg films were obtained by the pouring technique (solvent evaporation) on Teflon molds. The membranes were obtained from the films after crosslinking PVA with citric acid, aiming at greater dimensional stability. Membranes were characterized by FTIR, TGA, X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM) and antimicrobial activity. FTIR and TGA characterization showed differences between uncured (films) and cured (membranes) PVA/DPG-NPsAg systems. The XRD pattern confirmed the presence of metallic silver, with an average crystallite size, calculated by Scherrer, of 13.64 nm, 16.63 nm and 20.27 nm for AgNPs prepared with 5 mL, 10 mL and 20 mL of extract-Cz, respectively. To study the release mechanism of NPsAg, the Korsmeyer-Peppas and Higuchi kinetic model was used. The results suggested that the NPsAg release fit the Korsmeyer-Peppas kinetic model. The antimicrobial results revealed that the PVA/DPG-NPsAg₅ system was the one that presented the best antibacterial behavior against *Escherichia coli*.

Keywords: *Cinnamomum zeylanicum*, green synthesis, poly(glycerol) dendrimer, poly(vinyl alcohol), silver nanoparticles.

1. INTRODUÇÃO

A pele e suas estruturas anexas, tais como pelos, unhas e glândulas, formam uma estrutura que reveste todo o organismo, separando o meio interno dos fatores extrínsecos. Ela tem uma estrutura com camadas distintas: a exterior, chamada epiderme, composta por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. Abaixo desta, constituída por tecido conjuntivo, está a derme, rica em proteínas de matriz extracelular, facilitando a difusão de nutrientes; abaixo da derme, está a hipoderme. Esta última, também chamada de tela subcutânea, é considerada um órgão endócrino e tem as funções de armazenar reserva energética, proteger contra choques, formar uma manta térmica e modelar o corpo, por ser muito rica em tecido adiposo (LOWE; ANDERSON, 2015; BERNARDO *et al.*, 2019).

Vários fatores podem prejudicar a integridade deste grande órgão que é a pele, resultando em descontinuidade dos tecidos, desenvolvendo feridas. Os fatores que resultam os vários tipos de lesões de pele são diversos: pressão, traumas mecânicos, químicos, físicos e isquêmicos, a intenção no caso de cirurgias, e constituem sério problema de saúde pública e de abrangência mundial em razão do número de pessoas com alterações na integridade da pele. (FÉLIX *et al.*, 2019)

De acordo com OLIVEIRA *et al.* (2016), no Brasil, aproximadamente 3% da população do país têm algum tipo de lesão de pele. Estima-se que o número de ocorrências de queimaduras no Brasil chegue a aproximadamente um milhão de casos por ano.

As lesões por queimadura representam uns dos maiores traumas a que um ser humano pode estar exposto; sendo uma lesão intensa, ela tem grande impacto desde o ponto de vista físico, fisiológico e psicológico. (ROCHA *et al.*, 2020).

A lesão é acompanhada de uma resposta metabólica e inflamatória que se amplifica com o tecido queimado. É ainda uma das principais causas de morte e invalidez no mundo. As queimaduras são acompanhadas de dor intensa e geralmente prolongada, gerando sofrimento para o paciente, a família e a comunidade (LEE *et al.*, 2008).

Existe um grande número de fatores que podem acarretar a ocorrência de queimaduras, tais como substâncias quentes (líquidos ou sólidos), radiação, radioatividade, eletricidade, fricção ou contato com produtos químicos. (SOUSA *et al.*, 2021). A queimadura pode destruir algumas ou todas as células da pele ou de outros tecidos. LIANGPENG *et al.* (2014) afirmam que elas podem ser influenciadas por temperatura de agente externo, tempo de exposição, tipo de agente e seu calor específico. Esses fatores determinam a classificação do grau de

profundidade da lesão e a área de superfície corporal queimada. Sendo assim, as queimaduras podem ser classificadas em relação ao mecanismo de lesão, grau, profundidade, área corporal atingida, região ou parte do corpo afetada e sua extensão.

De maneira geral, as queimaduras são classificadas como de primeiro, segundo e terceiro grau. (ZEBALLOS, 2022). As queimaduras de primeiro grau são de espessura parcial superficial; portanto, elas atingem só a epiderme, resultando em uma simples resposta inflamatória. Geralmente, são causadas pela exposição ao sol ou contato não prolongado com substâncias quentes. Caracterizam-se por uma rápida cicatrização, sem manifestações visuais de mudanças de coloração, espessura ou textura da pele e normalmente não têm repercussões sistêmicas. As queimaduras de segundo grau são de espessura parcial profunda; portanto, decorrentes de uma lesão que ultrapassa a epiderme e atinge a derme. Porém, essa queimadura não evolui para destruição da pele. Suas principais características são: manutenção da sensibilidade tátil (preservação de nociceptores); presença da umidade (aumento local da permeabilidade vascular), cicatrização espontânea se não houver complicações. Já as queimaduras de terceiro grau são de espessura total, há lesão de todos os elementos da pele (epiderme, derme, tecido celular subcutâneo). Na queimadura de terceiro grau, há destruição de folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas receptoras para dor e da coagulação do plexo vascular. Portanto, as feridas não se regeneram, necessitando de algum tipo de cobertura cutânea, usualmente enxerto cutâneo (LIANGPENG *et al.*, 2014; MOUSAVI *et al.*, 2019).

Perante a complexidade e as particularidades no atendimento à vítima de queimaduras, tanto para o cuidado clínico, melhor prognóstico e diminuição da mortalidade, bem como o grande número de casos deste acidente, uma abordagem inicial metódica e bem estruturada são primordiais. Desse modo, faz-se necessário que o enfermeiro, bem como sua equipe, seja capacitado para planejar e implementar ações efetivas para uma melhor assistência imediata e a longo prazo dessa condição, visando a ações que podem melhorar o prognóstico e a qualidade de vida desse paciente. (SOUZA *et al.*, 2021)

CANTARELLI-KANTORSKI *et al.* (2014) demonstram que, nas condutas no atendimento de indivíduos queimados, 49,3% corresponderam à realização de curativos e administração de medicamentos, como analgésicos e vacina antitetânica.

Em se tratando de condutas, indivíduos que apresentam lesões de pele necessitam de assistência de enfermagem para um tratamento adequado, podendo prevenir agravos. A Sistematização da Assistência de Enfermagem (SAE) se apresenta como uma forma de

organizar a assistência de enfermagem, promovendo intervenção de acordo com as reais necessidades do paciente e, assim, sua rápida recuperação. (FÉLIX *et al.*, 2019).

A utilização dos diagnósticos de enfermagem no cuidado ao paciente com úlceras é importante para uma avaliação contínua do tratamento instituído, pois essa etapa do Processo de Enfermagem (PE) direcionará a assistência, para acompanhamento da evolução da ferida e a resposta do paciente com o tratamento. (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Os diagnósticos de enfermagem (DE) relacionados às lesões de pele são importantes por ser uma etapa dinâmica, sistemática, organizada e complexa do PE, significando uma fase que envolve avaliação crítica e tomada de decisão. Entre os PE's, destaca-se a *North American Nursing Diagnoses Association International* (NANDA), a mais reconhecida e difundida no mundo e no Brasil. (FÉLIX *et al.*, 2019).

Desde a segunda metade do século 20, os curativos usados no tratamento de queimaduras são preparados à base de prata, devido a seu elevado poder séptico. O uso de prata no tratamento de feridas permitiu reduzir a taxa de sepse, bem como redução da mortalidade, causadas por feridas derivadas de queimadura. A sulfadiazina de prata, desenvolvida por Charles Fox, na década de 1960, tornou-se a base da terapia antimicrobiana tópica devido ao elevado controle de infecções. Atualmente, os curativos à base de prata têm evoluído, encontrando-se, no mercado, uma grande variedade de matrizes poliméricas embebidas com prata em suas mais variadas formas, ionizada, micronizada ou nanocristalina (PEREIMA, 2013; LEE *et al.*, 2008).

A utilização da sulfadiazina de prata a 1% como terapia tópica no tratamento queimadura é muito indicada devido às propriedades bacteriostáticas. Atualmente, estão disponíveis coberturas modernas, efetivas e menos traumáticas no momento da troca, mas têm altos custos financeiros, além de serem menos conhecidas pelos profissionais de saúde. Ainda assim, os curativos com sulfadiazina de prata a 1% e o acetato de retinol são os mais utilizados. (CANTARELLI-KANTORSKI *et al.*, 2014)

De acordo com a Cartilha do Ministério da Saúde para tratamento de emergência das queimaduras (2012), a orientação é que o curativo deve ser feito de forma oclusiva e em quatro camadas: atadura de morim ou de tecido sintético (rayon), contendo o princípio ativo (sulfadiazina de prata a 1%), gaze absorvente/gaze queimado, algodão hidrófilo e atadura de crepom.

O tratamento das queimaduras de segundo grau se baseia na reepitelização do tecido (cicatrização). Portanto, o princípio básico é não agredir o tecido, permitindo um ambiente

adequado para a cicatrização. Esse ambiente deve ter as seguintes características: estéril, úmido e protegido do contato com o meio externo para a restauração do tecido. Simultaneamente à resposta fisiológica durante o processo de reepitelização, é de elevada importância o controle de microrganismos no leito da ferida, pois a presença e proliferação de bactérias e fungos retardam o processo de cicatrização. O protocolo no atendimento de queimaduras sugere que, após os cuidados gerais, a atenção deve ser voltada ao tratamento tópico da ferida, seguido de aplicação de curativos e a aplicação de antimicrobiano tópico (MOUSAVI *et al.*, 2019).

Os curativos usados no tratamento de queimaduras de segundo grau são os mais diversos, dependendo da disponibilidade tecnológica e econômica de cada país. A prata, como agente antimicrobiano, é utilizada desde a antiguidade e, no tratamento de queimaduras, é amplamente utilizada desde o século passado. No tratamento de queimaduras, a prata foi inicialmente usada em forma de solução de nitrato de prata 0,5%, logo na forma de creme no composto de sulfadiazina de prata.

A diferenciação da utilização de uma matriz polimérica embebida com prata está dada pelo fato de a prata já estar incorporada no curativo e não ser usada como um sal ou composto aplicado independentemente. Isso permite uma atividade bactericida mais duradoura no leito da ferida, menor toxicidade para as células lesadas e maior capacidade de recuperação. Atualmente, existe, no mercado, uma grande variedade de curativos para o tratamento de queimaduras de segundo grau, usando a prata como antimicrobiano.

Conhece-se que os íons de prata e as nanopartículas são eficientes contra um grande espectro de bactérias, fungos e vírus, incluindo várias bactérias resistentes a antibióticos. Finalmente, os curativos à base de polímero contendo prata são altamente eficientes, pois promovem um ambiente favorável para a cicatrização e um amplo espectro antimicrobiano, tem baixa toxicidade, ação rápida, não provocam irritação ou sensibilização e não promovem aderências, sendo efetivo mesmo na presença de importante quantidade de exsudato (ROUTRAY *et al.*, 2018).

O tratamento com sulfadiazina de prata é o mais difundido e utilizado, provavelmente por sua ampla utilização, por seu preço e sua acessibilidade. Entretanto, com o desenvolvimento de novas pesquisas e tecnologias, recursos mais modernos poderiam ser utilizados. (SOUZA *et al.*, 2021)

A síntese verde de nanopartículas de prata tem sido uma rota de síntese, simples e economicamente viável, amplamente abordada na literatura científica (IRAVANI, 2011; INGALE, 2013).

O grupo de pesquisa onde está inserida esta Tese desenvolve, há anos, nanopartículas de prata a partir da síntese verde, utilizando como agentes redutores diversos extratos vegetais e polissacarídeos, tais como: sulfato de condroitina (RIBEIRO, 2016); *Cinnamomum zeylanicum* (HELOU, 2018) e, *Pelargonium zonale* (FRIEND, 2019).

Os polímeros utilizados como matrizes poliméricas nestes trabalhos foram poli (n-isopropilacrilamida) (PNIPAm), poli (vinil álcool) (PVA) e celulose (CE). Todos os materiais desenvolvidos têm sido caracterizados por técnicas físico-químicas, microbiológicas e ensaios de citotoxicidade.

O presente trabalho representa um avanço na pesquisa em relação ao uso de *Cinnamomum zeylanicum* e matriz polimérica de poli (vinil álcool). (HELOU, 2018). Primeiramente, porque estuda o efeito do extrato vegetal na síntese verde das nanopartículas de prata (NPsAg). Também porque estuda o efeito do dendrímero de poliglicerol na flexibilidade da matriz polimérica de poli (vinil álcool). Permite-se, assim, a obtenção de membranas antimicrobianas e flexíveis para serem aplicadas como curativos, especialmente em queimaduras, onde a membrana deve permanecer na pele até a próxima troca do curativo.

Nesse sentido, o diferencial do presente trabalho em relação a trabalhos anteriores é que, além do poder antimicrobiano, três características das membranas serão modificadas: (1) reticulação das cadeias poliméricas, visando impedir a dissolução da membrana na corrente sanguínea; (2) flexibilidade das membranas, permitindo estas se moldarem à pele sem machucar o tecido novo que está em formação; (3) aumento do teor de intumescimento para absorver o exsudato.

Portanto, a presente proposta de Tese de Doutorado tem como objetivo principal a síntese verde de nanopartículas de prata usando como extrato vegetal *Cinnamomum zeylanicum*. Também o desenvolvimento e a caracterização físico-química e microbiológica de uma membrana polimérica à base de poli (vinil álcool) e dendrímero de poliglicerol contendo as nanopartículas de prata, preparadas por síntese verde.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Queimaduras

As queimaduras são consideradas lesões altamente agressivas por causarem alterações não apenas físicas, mas também psicológicas. O indivíduo é afetado por distúrbios físicos, como alterações metabólicas, perda de volume de líquidos, maior risco para infecção, dor, além dos estressores psicológicos, como separação da família, deformidades corporais, e submissão aos cuidados (SANTOS *et al.*, 2009). Ademais, queimaduras podem ocasionar distúrbios do sistema imunológico do paciente, o que acarreta repercussões sistêmicas importantes para o quadro clínico geral.

A queimadura compromete a integridade funcional da pele, responsável pela homeostase hidroeletrolítica, pelo controle da temperatura interna, pela flexibilidade e lubrificação da superfície corporal. Muitas de tais funções se devem à multiplicidade de camadas presentes nesse órgão, com diferentes funções para grupos celulares específicos, como as células neurais responsáveis pela percepção de temperatura, tato e propriocepção. Como a pele é um órgão de proteção e isolamento entre ambiente e organismo, configura-se, assim, a principal barreira física de proteção contra agentes físicos, químicos ou biológicos externos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Portanto, a magnitude do comprometimento dessas funções depende da extensão e profundidade da queimadura e impacta diretamente na decisão terapêutica (SHERIDAN, 2003).

A avaliação e a consequente classificação das queimaduras perpassam tanto a região corporal atingida quanto a idade do indivíduo afetado, tecidos atingidos, eventual lesão inalatória ou politrauma associado. São utilizadas, para tanto, escalas de avaliação, como a “regra dos nove” de Wallace e Pulaski, que utiliza como referência o tamanho da palma da mão para definir o equivalente a 1% de superfície corporal queimada (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

A queimadura caracteriza-se pela ação direta ou indireta dos efeitos da variação extrema de calor sobre o corpo humano, como o contato com chamas, líquidos aquecidos, frio extremo, substância químicas e radiação, e são classificadas de acordo com a profundidade em queimaduras de primeiro, segundo e terceiro grau.

SANTOS *et al.* (2009) caracterizam os graus das queimaduras de acordo com a profundidade da lesão térmica na pele. Assim, definem:

Queimaduras de 1º grau: são aquelas que atingem a epiderme, que é a camada mais externa da pele, sendo uma lesão úmida com edema e muito dolorosa. Um exemplo comum desse tipo é a lesão por raios solares. O atendimento é ambulatorial e consiste apenas em controlar a dor e nos cuidados locais da área queimada. Sua resolução se dá em aproximadamente cinco e sete dias.

Queimaduras de 2º grau:

a) Superficiais: São também chamadas de queimaduras de espessura parcial, caracterizando-se pela formação de bolhas, eritemas e dor acentuada, atingindo a epiderme e porção da derme. As bolhas, quando rompidas, podem deixar à mostra uma superfície rosa e úmida. Um exemplo comum deste tipo é a lesão por líquido aquecido.

b) Profundas: As queimaduras de espessura parcial profundas envolvem a destruição de quase toda a derme, apresentando coloração mais pálida e menos dolorosas, acarretando maior repercussão sistêmica, embora possam evoluir para reparação após três semanas. Em alguns casos, apresenta ulceração recorrente e forte tendência à cicatrização hipertrófica e contraturas. Um exemplo comum deste tipo é a lesão por imersão em líquidos superaquecidos ou chama direta.

Queimaduras de 3º grau: este é o grau mais grave e acomete a totalidade das camadas da pele e outros tecidos, como subcutâneo, músculos e ossos, havendo a redução da elasticidade tecidual, tornando-se rígida, pode apresentar vasos sanguíneos trombosados.

2.1.1 Processo de Cicatrização

Após uma lesão, um conjunto de eventos bioquímicos se estabelece para reparar o dano, promovendo a cicatrização. Não é possível acelerar tal processo, justamente pela complexidade das vias existentes no organismo para esse fim. Porém, a manipulação de elementos parciais dessa via ou o cuidado global que evite os fatores agravantes permite um tempo ótimo de ativação das cascatas de coagulação e cicatrização, com consequentes resultados positivos para o desfecho clínico do paciente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Esses vários fatores que influenciam no processo de cicatrização podem ser divididos em:

- Fatores locais: relacionados ao ambiente e às técnicas às quais foi submetido o paciente; dentre eles, os principais se encontram: isquemia, infecção, técnica cirúrgica, corpo estranho e edema ou pressão tecidual elevada.

- Fatores sistêmicos: os principais são diabetes mellitus, deficiências vitamínicas, hipotireoidismo, doenças hereditárias (síndrome de Ehler-Danlos), alterações da coagulação, idade, trauma grave, queimaduras, sepse, insuficiência hepática e renal, insuficiência respiratória, tabagismo, radioterapia, desnutrição e o uso de corticosteroides, drogas.

O processo de cicatrização está reclassificado em três fases bem distintas, de acordo com CAMPOS *et al.* 2007:

a) **Inflamação:** Inicia-se logo após a lesão através da liberação de substâncias vasoconstritoras pelas membranas celulares. As plaquetas têm papel fundamental na cicatrização, pois estimulam a cascata da coagulação. Broughton *et al.* (2006) afirmam que essa cascata é iniciada e grânulos são liberados das plaquetas, as quais contêm fator de crescimento de transformação beta - TGF- β e, também, fator de crescimento derivado das plaquetas [PDGF], fator de crescimento derivado dos fibroblastos [FGF], fator de crescimento epidérmico [EGF], prostaglandinas e tromboxanas, que atraem neutrófilos à ferida. Dessa forma, o coágulo é formado por colágeno, plaquetas e trombina e a resposta inflamatória se inicia com vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, promovendo a quimiotaxia (migração de neutrófilos para a ferida). As primeiras células a chegarem à ferida 24 horas após a lesão são os neutrófilos atraídos por substâncias quimiotáticas liberadas por plaquetas. Neutrófilos produzem radicais livres que auxiliam na destruição bacteriana e são gradativamente substituídos por macrófagos. Os macrófagos migram para a ferida após 48 - 96 horas da lesão, e são as principais células antes de os fibroblastos migrarem e iniciarem a replicação.

b) **Proliferação:** Tem início ao redor do 4º dia após a lesão e se estende até o término da segunda semana, sendo dividida em quatro etapas: epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. Segundo Campos *et al.*, (2007), se a membrana basal estiver intacta, as células epiteliais migram em direção superior, e as camadas normais da epiderme são restauradas em três dias. Se a membrana basal for lesada, as células epiteliais das bordas da ferida começam a proliferar na tentativa de restabelecer a barreira protetora. Por fim, a fase proliferativa é finalizada a partir da formação de tecido de granulação. Os fibroblastos dos tecidos vizinhos migram para a ferida, porém precisam ser ativados para sair de seu estado de quiescência. O fator de crescimento mais importante na proliferação e ativação dos fibroblastos é o PDGF (BROUGHTON *et al.*, 2006).

c) Remodelação: Esta é a fase mais importante clinicamente, pois há a deposição de colágeno de maneira organizada. O colágeno inicial (colágeno tipo III) é reabsorvido e um colágeno mais espesso é produzido e organizado ao longo das linhas de tensão, refletindo no aumento da força tênsil da ferida. A cicatrização tem sucesso quando há equilíbrio entre a síntese da nova matriz e a lise da matriz antiga, havendo sucesso quando a deposição é maior.

2.2 Técnicas e Curativos utilizados em queimaduras

Oliveira *et al.* (2016) afirmam que o atendimento ao paciente queimado é tarefa delicada e específica. Os cuidados direcionados a esse paciente envolvem toda a equipe de saúde e não se restringem somente a cuidados emergenciais, mas exigem também um tratamento direcionado, demorado e muito importante para a reabilitação completa, com a menor quantidade de sequelas possível.

Visando à rapidez na recuperação e melhores resultados com relação ao paciente queimado, deve-se analisar qual técnica de tratamento é mais adequada para o caso em questão, de forma que haja otimização referente à restauração tecidual, redução da dor e da infecção, além do melhor aspecto estético da ferida.

Existem vários tipos de coberturas no tratamento da queimadura. Pode-se utilizar a sulfadiazina de prata associada ou não ao nitrato de cério, hidrocoloides, hidrogel, ácidos graxos essenciais (AGE), gazes não aderentes, membranas sintéticas e biológicas, matriz de regeneração dérmica (PERIPATO *et al.*, 2017).

Nesse contexto, desde a Idade Antiga, há relatos da utilização da prata como agente antimicrobiano com função de desinfecção. Para o caso das queimaduras, há vários produtos com base em prata sendo a solução de nitrato de prata 0,5%, seguindo os cremes com sulfadiazina de prata, e os curativos com gaze, rayon ou membranas de celulose, com prata ionizada, micronizada ou nanocristalina os mais utilizados. Também há evidências de que os gregos utilizavam a prata, mais especificamente as moedas de prata, para a conservação de líquidos. Somente após o século XVII, a prata teve sua utilização no tratamento de feridas e doenças tipo infecciosas enquanto agente antimicrobiano. Essa utilização tornou-se mais frequente durante a Segunda Guerra Mundial, quando seu uso era voltado para o tratamento de queimaduras e cicatrização de feridas. Sua utilização inicial ocorreu na sua forma sólida e na forma de sais. (PEREIMA *et al.*, 2013).

Atualmente, o sal de prata na forma AgNO_3 é o mais usado em queimaduras. (GRASSI *et al.*, 2021). Porém, existem inúmeras desvantagens em sua utilização. Uma delas é de que a concentração deve ser abaixo de 1% por ser tóxica à ferida. Além disso, são necessárias mais de 12 aplicações ao dia, o que torna o tratamento mais trabalhoso, além de retardar a cicatrização.

Outra forma de compostos de prata muito utilizada, a partir de 1960, é a sulfadiazina de prata (Ag-SD), um creme com ação antibiótica e antimicrobiana utilizado no tratamento de queimaduras (RÊGO, 2020). Além disso, Pereima *et al.* (2013) afirmam que a ação desse creme também é eficaz contra vários tipos de bactérias e fungos, pois age na parede celular destes, enfraquecendo-as e rompendo-as.

O cenário atual conta com diversos compostos à base de prata, com ação duradoura, menor tempo de recuperação e menor toxicidade para as células lesionadas em decorrência da queimadura. Rêgo (2020) afirma que grande mudança ocorreu no fato da incorporação da prata ao curativo e não mais sob a forma de solução ou creme. Os íons de prata se mostraram muito eficientes contra bactérias, fungos e micróbios mais resistentes e, nessa forma, mostram-se como o melhor modo de prevenir infecções.

2.2.1 Nanopartículas de prata

Os avanços tecnológicos têm exigido cada vez mais pesquisas que aperfeiçoem a utilização dos mais diversos materiais. A busca pelo controle das propriedades dos materiais e sua manipulação deu origem à nanociência e à nanotecnologia.

A nanotecnologia pode ser conceituada como uma aplicação da nanociência que estuda materiais em escala atômica, em estruturas menores que 10nm. Dessa forma, também pode ser entendida como uma ciência com aplicações na área têxtil, engenharia, agricultura, eletrônica, entre outras.

Para Santos (2015), a nanociência é multidisciplinar, envolvendo várias outras ciências, tais como física, química, biologia, engenharia e matemática. A aplicação da nanociência compreende a manipulação de átomos, moléculas ou grupos de moléculas de forma individual, para geração e desenvolvimento de materiais e novos dispositivos com amplas e diferentes propriedades. Dessa forma, conhecer e compreender a matéria em dimensões nano permite a inovação através da criação e da modelagem de sistemas e aparelhos com novas funções.

A nanotecnologia é a tecnologia à escala molecular. Pode-se questionar se essa disciplina não existe já com o bem antigo nome de química. Porém, a nanotecnologia, em

contraste com a química, procura construir novas moléculas e novos materiais juntando os seus constituintes, átomo a átomo, com uma individualidade e uma precisão que não se consegue quando se trabalha com uma multidão de moléculas. Essa tecnologia tem, de fato, bastante de química, mas também física, biologia, medicina, engenharia eletrotécnica, mecânica, biomédica e química de materiais. É interdisciplinar, uma das marcas da ciência moderna, e as diferentes interfaces são ricas de relevantes problemas científicos e oportunidades de geração de novas tecnologias (DISNER; CESTARI, 2016).

Nesse contexto, a nanotecnologia tem assumido um papel significativo para a inovação industrial, pois as nanopartículas possuem propriedades mecânicas, óticas e químicas específicas e de grande aplicabilidade para os setores químico, têxtil, automotivo, citando apenas alguns exemplos. Alguns produtos finais que resultam da nanotecnologia incluem tecidos que não molham polímeros resistentes tanto quanto o aço e o alumínio, películas para vidros e cosméticos cujas partículas penetram nos poros da pele, entre outros.

Assim, como já foi dito anteriormente, as nanopartículas possuem aplicação em diversas áreas, dentre as quais:

- Indústria Farmacêutica e Médica: Desenvolvimento de medicamentos, materiais de regeneração de ossos, de controle de colesterol e glicose;
- Indústria Eletrônica: No desenvolvimento de equipamentos mais eficientes e com maior velocidade de processamento;
- Indústria Automobilística: Na fabricação de materiais mais leves, duráveis, baratos e não inflamáveis;
- Indústria Química: Na produção de ferramentas de corte mais resistentes, catalisadores mais eficientes;
- Meio ambiente: Desenvolvimento de membranas capazes de remover contaminantes da água, dessalinizadores e descontaminantes da água, detectores de vazamentos e de agentes tóxicos, monitoramento de solos, entre outros.

Dentre os metais usados na preparação das nanopartículas, os metais de transição são os ideais devido às suas inúmeras propriedades. Nesse cenário, as nanopartículas de prata, também chamadas de AgNPs, são as mais utilizadas devido às suas inúmeras aplicações, tanto do ponto de vista comercial quanto industrial. Esse fato é devido às características de estabilidade química, maleabilidade e flexibilidade, baixo custo de produção, elevada condutividade térmica e elétrica.

Além disso, a prata é um mineral encontrado na natureza utilizado há centenas de anos como antisséptico. Estudos recentes demonstram que essa propriedade atua em mais de 600 organismos patogênicos e, através de seu uso em nanopartículas, ocorre a potencialização desse agente antisséptico.

Dessa forma, as nanopartículas de prata são utilizadas no desenvolvimento de elementos antibacterianos, anti-inflamatórios, antimicrobianos e regeneradores. Possuem, também, ampla utilização na medicina em materiais específicos para recobrimento de lesões cutâneas na área farmacêutica e de cosméticos.

As nanopartículas de prata são altamente eficientes com uma ampla faixa de microrganismos, sendo utilizada como agentes antibacterianos/antifúngicos em uma variada gama de aplicações que inclui: desinfetantes, meias, almofadas, chinelos, máscaras, toalhas úmidas, detergente, sabonete, shampoo, pasta de dente, filtros de ar, revestimentos de refrigeradores, aspiradores, máquinas de lavar, recipientes de armazenamento de alimentos, telefones celulares e até mesmo em preservativos (PACHECO; BUZEA *et al.*, 2020).

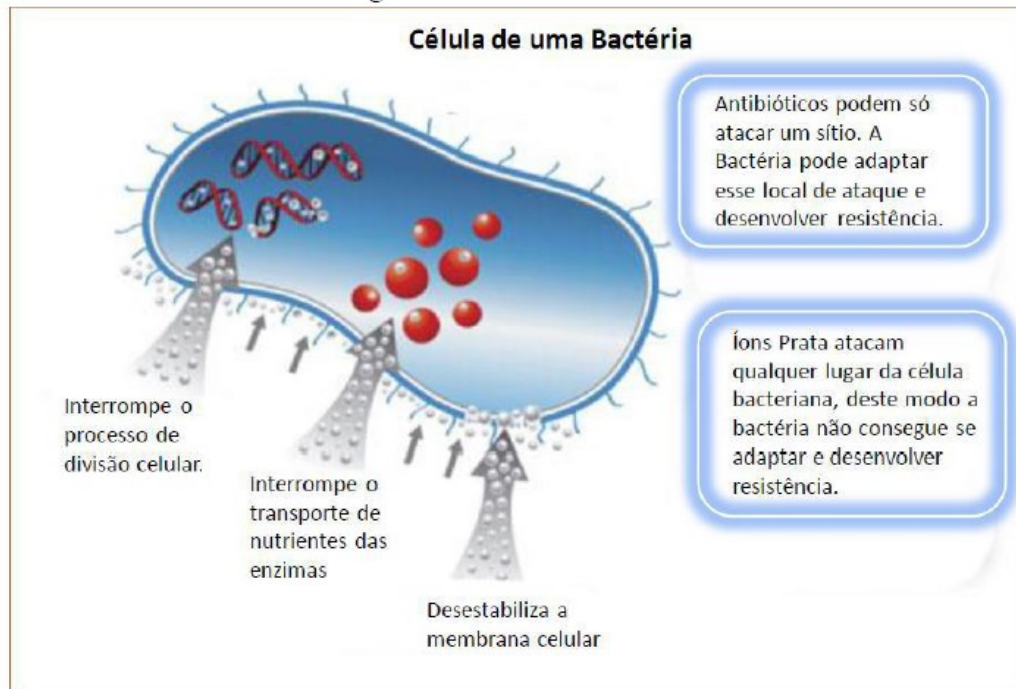
Porém, o mecanismo de ação das nanopartículas de prata é complexo e controverso. Benedito *et al.* (2017) afirmam que esse tipo de nanopartícula possui afinidade com enxofre e fósforo que estão presentes na membrana celular. Dessa forma, o ataque à membrana celular dos microrganismos impede a divisão celular, pois causa danos no processo de respiração da célula.

Vários estudos relatam que a carga positiva do íon Ag^+ , cedido pelas NPsAg, após atravessarem a parede celular dos microrganismos, é essencial para a sua atividade antimicrobiana, por meio da atração eletrostática entre a membrana celular dos microrganismos (negativamente carregadas) e as nanopartículas (positivamente carregadas). Conseqüentemente, as NPsAg afetam a permeabilidade seletiva da membrana e a respiração, aumentando-as, promovendo a lise celular. (BENEDITO *et al.* 2017)

Além disso, outro fato relevante é que as nanopartículas de prata conseguem invadir o interior das células, sendo nocivas às proteínas. Conseqüentemente, dificulta os processos de Replicação do DNA e Transcrição do DNA, levando à morte a célula do microrganismo.

A figura 1 mostra como ocorre a interação entre o íon de prata (Ag^+) e a célula da bactéria.

Figura 1: Ação das nanopartículas de prata em uma bactéria



Fonte: Methanogens and Nano-Silver, disponível em <http://methanenanosilver.weebly.com/> - Adaptado por BENEDITO *et al.* (2017)

Outra forma de ação das nanopartículas de prata é o ataque à superfície da membrana. Por ser uma partícula menor, há uma superfície maior de contato com o microrganismo, sendo assim mais eficaz no combate a este.

A tabela a seguir mostra a relação entre o tamanho da nanopartícula de prata e a redução dos microrganismos em contato:

Tabela 1. - Relação entre o tamanho de nanopartículas de prata e a redução de microrganismos em contato.

TAMANHO DA PARTÍCULA (nm)	TAXA DE REDUÇÃO DOS MICROORGANISMOS (%)
30	99,9
70	99,4
150	97,7
300	97,5

(Fonte: BERNI *et al.*, 2008)

2.2.2 Principais usos das Nanopartículas de Prata

- Nanopartícula de Prata como antitumoral

Os tumores representam um dos maiores desafios da Medicina. As nanopartículas de prata têm sido utilizadas no desenvolvimento de equipamentos para o diagnóstico e tratamento do câncer, com o objetivo de aprimorar os métodos de detecção de tumores e aumentar a eficácia dos medicamentos utilizados.

- Nanopartículas de Prata com função Antiviral, Antibacteriana e Antifúngica

A ação antimicrobiana das nanopartículas de prata ocorre devido à sua oxidação e a liberação do íon positivo de prata, ocasionando a chamada lise celular ou pelo impedimento da replicação de DNA. As nanopartículas também podem danificar as bactérias diretamente por penetração na parede celular e membrana celular.

As nanopartículas de prata também apresentam considerável atividade antifúngica contra gêneros como *Aspergillus*, *Candida* e *Fusarium*, sendo também eficazes contra as leveduras isoladas de mastites bovinas e contra vários fungos fitopatogênicos.

Os antibióticos à base de nanopartículas de prata são mais eficientes que os antibióticos comuns, são capazes de destruir bactérias do tipo Gram-positivas e Gram-negativas e inibir a resistência microbiana.

Também são utilizadas em medicamentos e produtos odontológicos, de prevenção a infecções, próteses e dispositivos médicos.

As nanopartículas também apresentam resultado positivo contra vários tipos de vírus, incluindo os vírus H1N1 (Influenza), Hepatite B, HSV (Herpes Simplex Virus). Dessa forma, através da interação direta com as glicoproteínas da superfície viral, as nanopartículas de prata têm acesso ao interior da célula e exercem a sua atividade antiviral através de interações com o DNA e RNA viral.

- Nanopartículas de Prata com função anti-inflamatória

Na cicatrização de um ferimento, ocorre uma sequência de situações que têm início na coagulação, prosseguida pela inflamação, proliferação e remodelação do tecido. Portanto, a inflamação é um processo que faz parte da cicatrização, embora não necessariamente restrito a ela, podendo ocorrer em outras situações. As nanopartículas de prata auxiliam no controle da cascata inflamatória local, reduzindo os sinais flogísticos como um todo.

- Nanopartículas de Prata como regeneradoras

A utilização de nanopartículas de prata na reparação de pele e do tecido ósseo tem como objetivo principal acelerar o processo de cicatrização e recuperar a função motora. Essa eficácia se deve à potente ação antimicrobiana e anti-inflamatória das nanopartículas.

- Nanopartículas de Prata como catalisadores

A catálise é uma área chave no desenvolvimento de produtos químicos e a utilização de nanopartículas de prata como catalisadores tem atraído imensa atenção nos últimos anos, pois estes podem ser seletivos, eficientes e recicláveis, preenchendo os requisitos de uma catálise verde. Por esse motivo, o desenvolvimento de novos métodos de síntese de nanopartículas de prata e a sua aplicação catalítica em novas reações é um campo de pesquisa amplo.

Estudos mostraram que as nanopartículas de prata catalisam eficazmente algumas reações redox, como a oxidação do monóxido de carbono, a oxidação do estireno para epóxidos e aldeídos, a oxidação do ciclo-hexano, a ciclo-hexanol, a redução do *p*-nitrofenol, a *p*-aminofenol, a redução do mercúrio (II) a mercúrio elementar na presença de peróxido de hidrogênio e a oxidação do etanol.

2.2.3 Toxicidade ambiental das Nanopartículas de Prata

O recente aumento na produção de produtos e matérias à base de nanopartículas de prata exige uma maior investigação sobre seu potencial de toxicidade e efeitos adversos para a saúde após a exposição a esse material.

Alguns estudos mostram que as nanopartículas de prata podem matar células do fígado e do cérebro de ratos, pois, por serem finíssimas partículas, podem romper a membrana das células e provocar danos. Logo, é necessário o conhecimento sobre a toxicidade, disponibilidade e degradação destes nanomateriais (TRIPATHI *et al.*, 2017).

Além disso, as nanopartículas de prata podem ser absorvidas pela pele através do uso constante e equipamentos, cosméticos, roupas, entre outros produtos. Além disso, podem chegar à corrente sanguínea através de cortes e pela ingestão de alimentos ou contaminação dos mesmos por embalagens que utilizam esta nanopartícula em sua composição.

Por fim, Soares (2014) afirma que “a produção de nanopartículas em grande escala e a eliminação inadequada de resíduos podem levar à sua acumulação na natureza e conseqüentemente elevar a exposição humana. Para aumentar a complexidade desse problema, a maioria dos nanomateriais metálicos parece não ser biodegradável e permanecer na natureza e tecidos durante anos.”

2.3 Síntese verde de nanopartículas de prata

As nanopartículas podem ser sintetizadas por métodos físicos, químicos e biológicos. Os métodos físicos e químicos requerem alto aporte energético, geralmente envolvendo o uso de substâncias tóxicas com geração de subprodutos nocivos. Já a síntese biológica de nanopartículas de prata oferece vantagens pelo rápido e alto rendimento em relação aos métodos convencionais. A síntese verde, método que utiliza extratos vegetais, envolve reações químicas dos fitocompostos presentes no extrato com o nitrato de prata. (DE BRITO *et al.*, 2022)

Diante do cenário atual voltado para a preservação ambiental e a redução de todas as formas de contaminantes e resíduos, os métodos de síntese ambientalmente corretos, também chamados de Síntese Verde, vêm sendo cada vez mais difundidos.

Essa síntese verde tem como vantagem principal a não utilização de agentes químicos tóxicos. Sendo assim, os agentes redutores usados na síntese são extraídos de plantas e promovem a estabilização das nanopartículas (HEBBALULU, 2013).

De forma resumida, a síntese verde promove a redução do metal utilizando agentes redutores de baixa ou nula toxicidade, como substituintes a reagentes químicos, tornando-se uma alternativa sustentável (VANIN, 2021).

Além disso, a produção de nanopartículas a partir de plantas vem ganhando importância nos últimos anos devido à sua natureza livre de solventes e menor toxicidade. Outro fato positivo é que sua produção é mais rápida, o que também é rentável, pois a maioria dos outros métodos é cara e tóxica.

Segundo Pereima *et al.* (2013), a síntese verde envolve três principais etapas, que devem ser avaliadas com base nas perspectivas da química sustentável:

- Seleção do meio a ser utilizado como solvente;
- Seleção de um agente redutor ecologicamente “correto”;
- Seleção de substâncias não tóxicas que serão utilizadas na estabilização das NPsAg sintetizadas.

Pereima *et al.* (2013) ainda afirmam, em seus estudos, que a síntese de nanopartículas de prata a partir de plantas, tem recebido alvo de muitos estudos, principalmente na área de síntese de materiais devido a:

- ocorrer com rapidez;
- não ser patogênico;
- ser ecológico;

¬ ser barato.

Rai (2013) afirma que várias partes das plantas (flores, sementes, frutos, caules e raízes) podem ser utilizadas na síntese de nanopartículas metálicas com diferentes formas e distribuição de tamanho. Além disso, podem ser utilizadas partes da planta morta e também sua biomassa seca.

2.4 Liberação controlada de fármacos a partir de membranas poliméricas

Ma *et al.* (2009), em seus estudos, afirmam que a tecnologia controlada de liberação de fármacos tem como objetivos principais melhorar a ação farmacológica e reduzir os efeitos colaterais.

Figueiredo *et al.* (2008) apontam que a tecnologia de liberação controlada de fármacos representa uma das fronteiras da ciência, a qual envolve diferentes aspectos multidisciplinares e pode contribuir muito para o avanço da saúde humana.

Dentre os sistemas de liberação do tipo polimérico, existem várias formas:

- Difusão: é a forma mais usual. Pode ser realizada de duas maneiras:

a) O fármaco, que é o agente bioativo, forma uma camada interna envolto em uma barreira de difusão;

b) O Agente ativo é dissolvido em um polímero e ocorre a difusão do fármaco e há liberação dependendo da escolha do polímero.

- Química: ocorre por um processo bioerosão de polímeros, onde ocorre transformação do material insolúvel no meio aquoso em solúvel, ocasionando a absorção dos resíduos pelo organismo.

Freitas (2019) afirma que os sistemas poliméricos são formas de liberação de fármacos muito utilizadas porque possibilitam a liberação gradual e direcional do ativo, além de serem biologicamente degradáveis.

Bucci (2003) classifica os polímeros biologicamente degradáveis em três categorias:

- Polímeros Naturais: demoram certo tempo para degradar, porém são muito utilizados na liberação de fármacos. Exemplos: Colágeno, Quitosana e Celulose.

- Polímeros Naturais Modificados: possuem como característica principal a degradação mais rápida que os polímeros naturais. Exemplo: Gelatina modificada através de um formaldeído, Quitosana modificada por tirosinase.

- Polímeros Sintéticos: os mais usados são polietileno, poliacrílico, polietilenoglicol, poliésteres, poli (vinil álcool), poliacrilamidas.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral da presente Tese de Doutorado é a síntese verde de nanopartículas de prata (NPsAg) usando extrato de *Cinnamomum zeylanicum*. Desenvolve-se, assim, um curativo antimicrobiano, contendo as NPsAg dispersas na matriz polimérica de poli (vinil álcool) (PVA) e dendrímero de poliglicerol (DPG). Para atingir este objetivo, serão seguidos os seguintes objetivos específicos.

3.1 Objetivos específicos

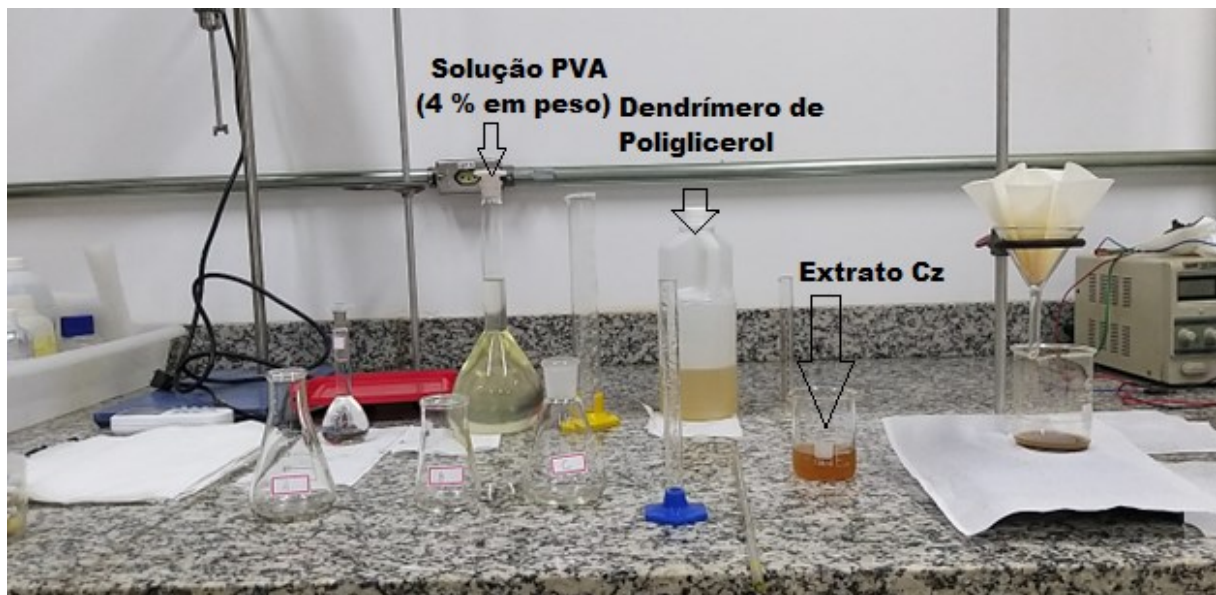
- Obter o extrato vegetal de *Cinnamomum zeylanicum* (extrato-Cz) e realizar a caracterização espectroscopia por ultravioleta visível (UV-vis) e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e análise termogravimétrica (TGA).
- Realizar síntese verde das nanopartículas de prata (NPsAg) na presença do sistema polimérico PVA e DPG, mudando a concentração do extrato-Cz.
- Preparar os filmes e as membranas PVA/DPG-NPsAg.
- Realizar a caracterização físico-química da membrana PVA/DPG-NPsAg, seguindo as seguintes técnicas: espectroscopia UV-vis e FTIR, difração de raios X (DRX), análise termogravimétrica (TGA), análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Realizar o estudo “*in vitro*” da cinética de liberação de NPsAg em meio aquoso.
- Realizar a caracterização microbiológica “*in vitro*” do sistema PVA/DPG-NPsAg.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Para a preparação das membranas à base de poli (vinil álcool) e dendrímero de poliglicerol contendo nanopartículas de prata (PVA/DPG-NPsAg), obtidas por síntese verde, foram utilizados os seguintes materiais: poli(álcool vinílico) PVA granulado, Sigma-Aldrich Brasil Ltda, 98-99 % hidrolisado e massa molar de 72000 g/mol; dendrímero de poliglicerol (DPG), sintetizado no laboratório (QUEIROZ *et. al.*, 2006); ácido cítrico anidro (C₆H₈O₇) Quimisol; nitrato de prata (AgNO₃) fornecido pela Merck (99,8%); *Cinnamomum zeylanicum*, canela em pó, de origem comercial.

Figura 2: Materiais utilizados



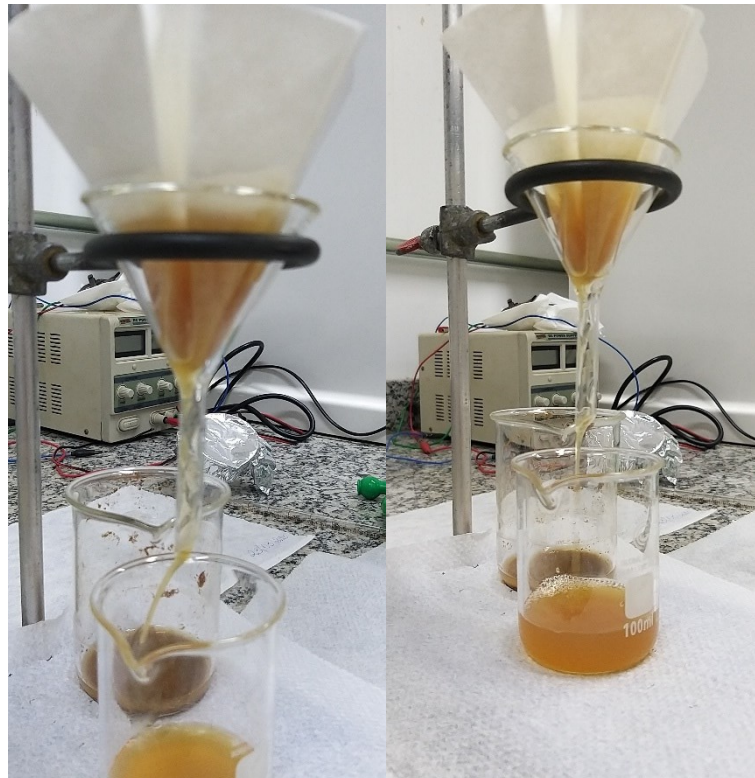
4.2 Preparação da membrana PVA/DPG-NPsAg

A preparação da membrana de poli (vinil álcool) /dendrímero de poliglicerol contendo nanopartículas de prata (PVA/DPG-NPsAg) foi realizada em três etapas: (1) obtenção do extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (nome comercial: canela), (2) síntese verde das nanopartículas de prata (NPsAg) na solução aquosa de poli (vinil álcool) (PVA) 4% (em peso) e dendrímero de poliglicerol (DPG), (3) reação de curado das membranas de PVA/DPG-NPsAg com ácido cítrico.

A síntese verde ou biossíntese é um método sintético que permite a obtenção de NPsAg por meio de organismos biológicos. Neste estudo, foi utilizada a casca seca e triturada a pó de *Cinnamomum zeylanicum* (canela). O extrato de canela contém substâncias com grupos químicos funcionais (aldeídos & álcoois), que atuam como agentes redutores, sendo que os polissacarídeos, presentes no extrato vegetal, estabilizam as nanopartículas. Portanto, os íons metálicos (Ag^+) são reduzidos para a sua forma metálica (Ag^0), de forma rápida e em condições normais de temperatura e pressão. Os estabilizantes recobrem a superfície das nanopartículas formadas, evitando a agregação, mantendo-as afastadas umas das outras e dispersas no meio (SHARMA, 2009).

A preparação do extrato vegetal de *Cinnamomum zeylanicum* foi realizada segundo trabalhos anteriores (HELOU, 2018). O procedimento seguido é descrito a seguir: preparou-se uma dispersão de extrato vegetal de *Cinnamomum zeylanicum* (Cz) em água destilada, concentração 2% (em peso). A dispersão foi mantida sob forte agitação, em ultrassom com temperatura ($60\text{ }^\circ\text{C}$) durante 60 min. Deixou-se repousar por 24 horas e decantou-se. A solução decantada foi filtrada à gravidade, como pode ser observado na Figura 3.

Figura 3: Solução do extrato-Cz sendo filtrada à gravidade



A biossíntese das NPsAg foi realizada a partir da redução de íons Ag^+ em meio aquoso, utilizando como agente redutor o extrato de *Cinnamomum zeylanicum*, espécie vegetal que contém moléculas com ação redox, capazes de reduzir íons prata permitindo a síntese de prata nanocristalina. A síntese verde das nanopartículas de prata foi realizada na presença de poli (vinil álcool) PVA e dendrímero de poliglicerol (DPG). Dentro da formulação do curativo, que este trabalho visa desenvolver, o sistema polimérico (PVA e DPG) utilizado tem a função de agir como matriz ou veículo de transporte as NPsAg.

Para realizar a síntese verde, além do extrato-Cz, foi necessário preparar as seguintes soluções:

- Poli (álcool vinílico) 4% (em peso). A massa de PVA foi pesada. Após adicionar água destilada, o sistema foi mantido por agitação vigorosa por 1 h a 80 °C. Após, deixou-se agitando por 24h a temperatura ambiente;
- Nitrato de prata (AgNO_3) 1 mol/L.

Finalmente, foram preparados 3 sistemas de reação sob agitação magnética, protegidos da luz solar à temperatura ambiente (24 °C). A concentração de AgNO_3 foi mantida constante igual a $3,70 \cdot 10^{-3}$ M, a composição dos sistemas é descrita na Tabela 2, a reação foi mantida 24h em todos os sistemas.

Tabela 2. Composição das membranas de PVA/DPG-NPsAg

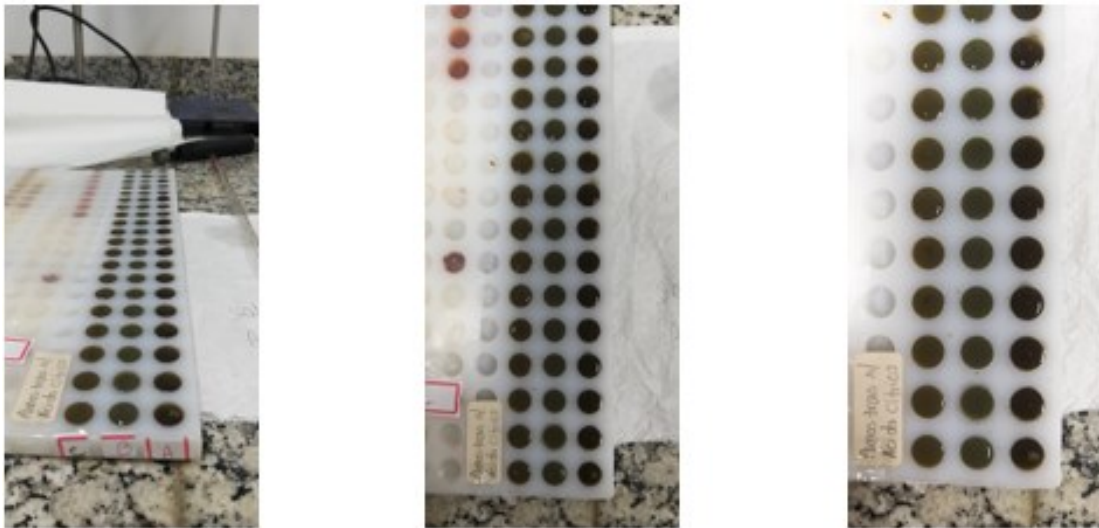
SÍNTESE	Membranas	PVA 4% (mL)	DPG (g)	Extrato-Cz (mL) /Concentração (%V)
A	PVA/DPG-NPsAg5	20,00	2,00	5,00 / 18,52
B	PVA/DPG-NPsAg10	20,00	2,00	10,00 / 31,25
C	PVA/DPG-NPsAg20	20,00	2,00	20,00 / 47,62

Após a síntese verde (Figura 4), foram preparados filmes usando a técnica de vazamento (em moldes de teflon) (Figura 5). Essa técnica consiste em despejar (vazar) a solução sobre o molde até completa evaporação de solvente à temperatura ambiente (24 °C), como pode ser observado na Figura 5.

Figura 4: Sistemas A, B e C nas concentrações descritas na Tabela 2, após a síntese verde.



Figura 5: Filmes PVA/DPG-NPsAg sobre moldes de teflon

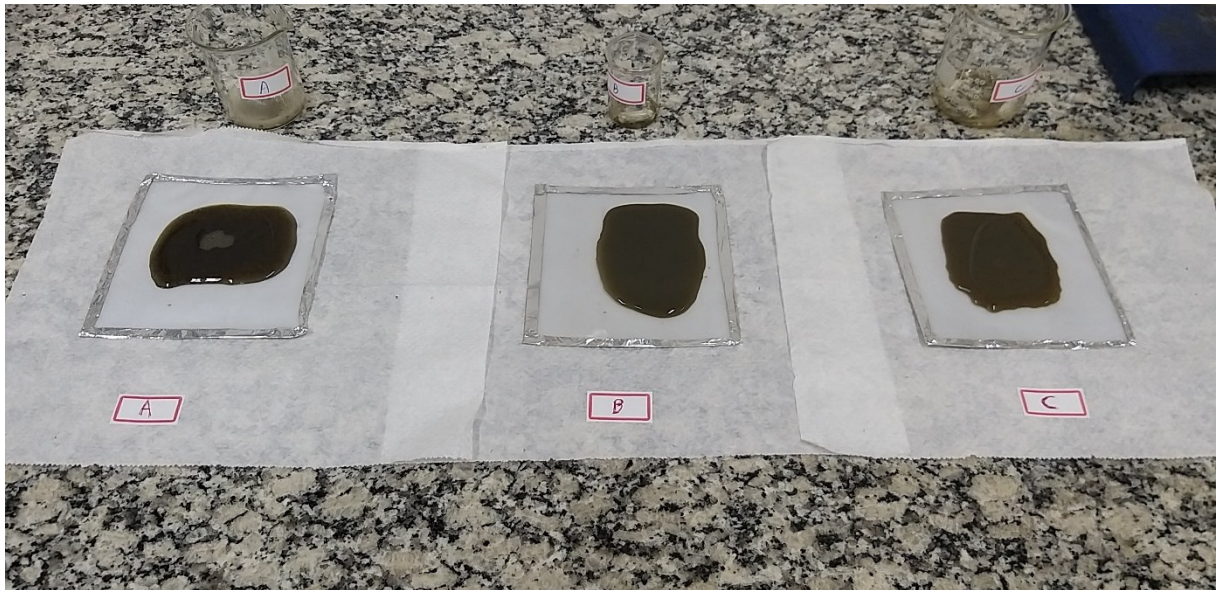


A reação de cura é uma reação de reticulação entre as cadeias poliméricas de PVA. O agente de cura é o ácido cítrico. Os grupos químicos de ácido carboxílico reagem; especificamente, o carbono da carbonila ($C=O$) é nucleofílicamente atacado pelo grupo OH do PVA, formando-se uma ligação éster (CUADRO, 2015).

Neste trabalho, chamam-se membranas os filmes que foram curados com ácido cítrico. O procedimento de cura foi realizado adicionado ácido cítrico, na concentração de 10% (em peso) em respeito à matriz de PVA, na solução após finalizada a síntese verde. Portanto, a

adição e a dissolução do agente de cura são realizadas antes da formação dos filmes, pela técnica de vazamento, sobre os moldes de teflon. Após a secagem do solvente e a formação dos filmes (Figura 6), estes são levados à estufa, na temperatura de 100°C, durante 1h, para completar a reação de curado.

Figura 6: Filmes antes de serem levados à estufa para processo de cura



Os filmes e as membranas (filmes curados) foram caracterizados usando diferentes técnicas físico-químicas e microbiológicas de análises.

4.4 Técnicas de Caracterização

4.4.1 Espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-vis)

A espectroscopia UV-vis é uma técnica espectroscópica simples e disponível em muitos laboratórios. Essa técnica de análise instrumental se fundamenta na absorção de radiação, na região do ultravioleta visível, associada à transição eletrônica entre orbitais moleculares (SKOOG *et al.*, 2006).

É utilizada para a análise de compostos orgânicos e inorgânicos, e acontece através da incidência de um feixe de luz na amostra, que, por sua vez, separa a luz refletida de acordo com o comprimento de onda, medindo a quantidade de luz recebida, conforme a Lei de Beer. Os espectros de UV-vis, portanto, permitem identificar grupos químicos presentes na molécula, a partir do comprimento de onda (λ) de máxima absorção. Essa técnica espectroscópica também é importante na caracterização de nanopartículas, a partir da identificação da banda de ressonância plasmônica de superfície (RPS) (AMENDOLA *et al.*, 2010). A banda de máxima intensidade de absorção de radiação UV-vis se relaciona com a concentração por meio da lei de Lambert-Beer, permitindo utilizar essa técnica na quantificação das substâncias que absorvem radiação eletromagnética, nas regiões visível e ultravioleta do espectro (SKOOG *et al.*, 2006).

Portanto, a espectroscopia UV-vis foi utilizada neste trabalho com os seguintes fins:

- a) Caracterizar os grupos funcionais presentes no extrato vegetal *Cinnamomum zeylanicum*;
- b) Confirmar a síntese verde “*in situ*” das nanopartículas de prata pelo extrato de *Cinnamomum zeylanicum*, na presença dos polímeros (PVA e DPG), através da análise da banda de ressonância de plasmon de superfície (RPS);
- c) Estudar a liberação de NPsAg.

O equipamento utilizado para os itens a) e b) foi um espectrofotômetro Ultravioleta-visível Varian Cary 50 Scan. O espectro UV-vis das amostras foi realizado tomando alíquotas de 0,4mL do extrato vegetal e da síntese verde após 24h de reação e, diluindo em 3mL de água destilada, o branco utilizado foi água destilada.

Para o estudo da liberação de NPsAg, foi utilizado o equipamento espectrofotômetro ultravioleta visível Instrutherm UV-1000A.

4.4.2 Espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR foi realizada usando um Espectrômetro Shimadzu, modelo IR Tracer 100, na região de 600–4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos por refletância, utilizando-se um acessório de Reflexão Total Atenuada (ATR), constituído por um cristal misto de Diamante/ZnSe. Todos os espectros foram obtidos à temperatura ambiente com amostras em forma de filme.

A estrutura química das membranas de PVA/DPG-NPsAg curadas e sem curar foram investigadas a partir dos espectros de FTIR, apresentados na forma de gráficos que correlacionam % transmitância (eixo das ordenadas) por número de onda (cm^{-1}) (eixo das abscissas).

4.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

Para avaliar o comportamento térmico das membranas de PVA/DPG-NPsAg curadas e sem curar, assim como suas principais temperaturas de degradação térmica e perdas de massa, foi utilizada a técnica de análise termogravimétrica (TGA). A análise termogravimétrica foi realizada no equipamento TGA-50 Shimadzu. Para a realização do TGA, foi utilizada uma massa de amostra de aproximadamente 12 mg e taxa de aquecimento constante de 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, na faixa de temperatura de 25-800 $^{\circ}\text{C}$, em atmosfera de nitrogênio sob um fluxo de 50 mm/min .

4.4.4 Estudo de liberação “*in vitro*” das NPsAg

O estudo de liberação “*in vitro*” das NPsAg foi estudado em água destilada a 25 $^{\circ}\text{C}$. Para realizar o estudo, os filmes foram imersos no interior de tubos de ensaio contendo 5 mL de água destilada, sendo cuidadosamente aderidos na parede do tubo. Os tubos de ensaio foram colocados em banho térmico, mantendo a temperatura a 25 $^{\circ}\text{C}$. Os sistemas foram mantidos sem agitação. Em intervalos de tempo, os tubos foram retirados do banho e colocados no espectrofotômetro UV-vis para a medida da absorbância a 440 nm e temperatura ambiente (25 $^{\circ}\text{C}$).

O estudo cinético da liberação de NPsAg foi realizado ajustando os dados aos modelos de Korsmeyer-Peppas (SIEPMANN *et al.*, 2008) e Higuchi (SIEPMANN *et al.*, 2011). O modelo Korsmeyer-Peppas (Eq. 1) considera que a difusão das NPsAg pode seguir um transporte Fickiano ou não Fickiano (caso II). Já o modelo de Higuchi (Eq. 2) assume que a difusão é controlada pela erosão da matriz polimérica, ou seja, o intumescimento da matriz polimérica é quem controla a liberação das NPsAg. Para o modelo de Higuchi, as NPsAg liberadas devem formar uma camada na superfície da matriz polimérica, evitando a entrada de água e, portanto, impedindo a liberação das NPsAg, o que acarreta a diminuição da concentração de NPsAg no meio ao longo do tempo. A formulação matemática dos modelos de difusão Korsmeyer-Peppas (Eq. 1) e Higuchi (Eq.2) são apresentadas a seguir:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} * t^n \quad (1)$$

$$Q_{t=K_H} * t^{0.5} \quad (2)$$

Onde M_t/M_∞ é a fração de NPsAg liberada no tempo t , k_{KP} é a constante de velocidade para o modelo de Korsmeyer-Peppas, e “ n ” é o expoente que caracteriza os diferentes mecanismos de difusão, k_H é a constante de velocidade do modelo de Higuchi e Q_t representa a quantidade de princípio ativo liberado no tempo t .

4.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para o estudo da morfologia dos materiais, utilizou-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), no equipamento Superscan SSX-550 (Shimadzu Corporation), com um feixe de elétrons de 15 kV e acoplado a um analisador de espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Antes das análises, as amostras foram secas a vácuo e metalizadas com ouro em equipamento IC-50 ion coater (Shimadzu).

4.4.7. Difração de raios-X

Difração de raios-X (DRX) foi realizada na superfície dos filmes com o objetivo de confirmar a síntese verde de NPsAg e identificar o tamanho do cristalito a partir da equação de Scherrer (ALWANA, *et al.*, 2021). Os espectros DRX foram coletados em temperatura ambiente (25 °C), usando uma fonte de radiação Cu K α ($\lambda = 1,5417 \text{ \AA}$), no equipamento X'Pert PRO, Malvern Panalytical, operando a 40 kV e 40 mA. Os difractogramas foram coletados em

uma faixa 2θ entre 5° e 90° (2θ) com um tamanho de passo de $0,02^\circ$ e velocidade de varredura de 2 seg/passos.

4.4.8. Atividade antimicrobiana

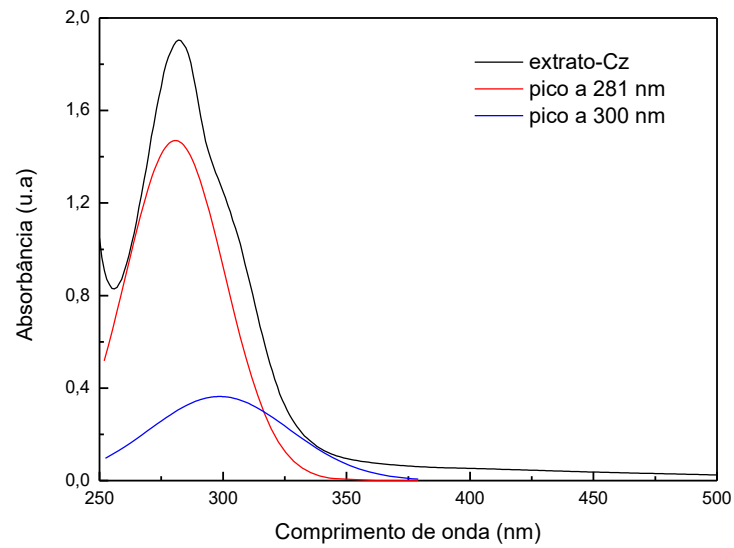
A atividade antibacteriana “*in vitro*” do sistema PVA/DPG-NPsAg foi testada contra *Escherichia coli* (*E.coli*) pelo método de disco-difusão em ágar (BALOUIRI *et al.*, 2016). A bactéria *E. coli* foi cultivada em caldo nutriente para preparar soluções estoque de 100 $\mu\text{g/mL}$. Primeiramente, o disco de papel filtro (6 mm de diâmetro) foi esterilizado em uma câmara de fluxo de ar laminar por exposição a uma lâmpada UV-C (30 min, distância da lâmpada 60 cm). Um ágar soft-top (1,0% em peso, 20 mL) foi derretido, resfriado a 55°C e inoculado com culturas de bactérias durante a noite (18 h) (200 μL), depois agitado suavemente e derramado sobre a base de ágar, nutriente previamente solidificado em placa de Petri estéril. O número de bactérias na camada de ágar soft-top nutriente foi definido como $1,5 \times 10^8$ CFU mL^{-1} . Após a solidificação dos discos de difusão em ágar soft-top, amostras de 10 μL da solução de reação PVA/DPG-AgNPs foram colocadas em sua superfície. As larguras das zonas de inibição ao redor do disco foram medidas após incubação a 37°C por 24 horas. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química do extrato vegetal de *Cinnamomum zeylanicum*

O espectro UV-vis do extrato aquoso de *Cinnamomum zeylanicum* (extrato-Cz) é mostrado na Figura 7. O espectro UV-vis do extrato-Cz mostra uma banda de absorção centrada em ~ 281 nm e um ombro ~ 300 nm. Com a finalidade de distinguir a banda representada pelo ombro ~ 300 nm, foi realizada a deconvolução do espectro, usando o software Origin® 8.5. A banda centrada em 281 nm pode ser atribuída à transição eletrônica $n \rightarrow \pi^*$ dos grupos carbonila do cinamaldeído (RIND *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2007).

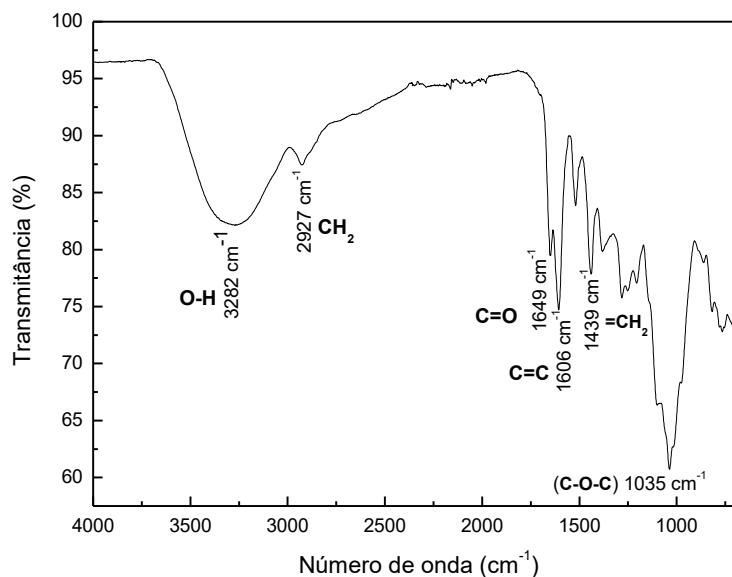
Figura 7: Espectro UV-vis do extrato-Cz



A extração dos componentes ativos (fitoquímicos e metabólitos secundários) do *Cinnamomum zeylanicum* foi realizada em meio aquoso, assistida por ultrassom. A técnica de ultrassom é uma técnica dinâmica (com movimento) e eficiente, que permite extrair metabólitos secundários de matrizes vegetais (SILVA *et al.*, 2017). Portanto, pode-se assinar a banda de absorbância próxima a 300 nm à transição eletrônica $n \rightarrow \pi^*$ de fenol, flavonoides ou outros metabólitos secundários presentes na casca de *Cinnamomum zeylanicum* (KUMARA *et al.*, 2019).

O espectro FTIR do extrato-Cz (previamente seco em estufa) é mostrado na Figura 8. O espectro FTIR foi realizado para identificar os grupos funcionais dos componentes ativos presentes no extrato-Cz.

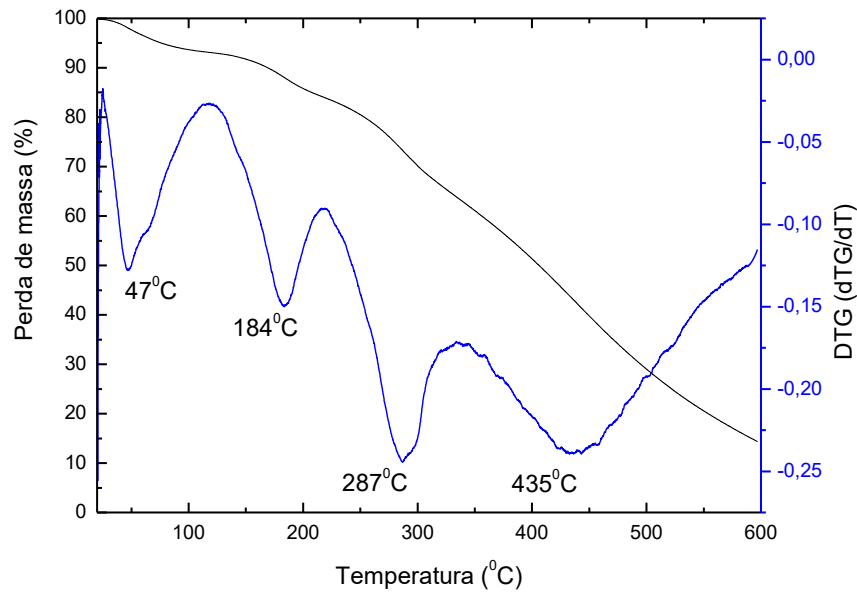
Figura 8: Espectro FTIR do extrato-Cz



A banda vibracional próxima a 3282 cm^{-1} é atribuída ao estiramento da ligação O-H dos grupos álcoois e fenóis. A banda em 2927 cm^{-1} confirma a presença de estiramento $-\text{CH}_2$. As bandas de 1649 cm^{-1} e 1606 cm^{-1} foram assinadas, em correspondência com a literatura, à vibração de estiramento das ligações C=O e C=C respectivamente (LIUA *et al.*, 2021). A banda de vibração em 1439 cm^{-1} é atribuída à flexão da ligação C-H. Já a banda vibracional em 1035 cm^{-1} corresponde à vibração de estiramento C-O-C, sugerindo, portanto, a presença do grupo glicosídeos (GHOSH *et al.*, 2015).

O comportamento térmico do extrato-Cz, (previamente seco na estufa) foi estudado por meio da análise termogravimétrica (TGA) e sua derivada (DTGA), entre 23°C e 600°C . As curvas de TGA e DTGA para o extrato-Cz são mostradas na Figura 9. A curva DTGA sugere que a degradação térmica do extrato Cz ocorre em quatro estágios.

Figura 9: Curva TGA/DTGA do extrato-Cz



A primeira decomposição (7% de perda de massa, curva TGA) foi na faixa de temperatura de 25 °C a 115 °C. Atribui-se essa perda de massa à remoção da umidade. O segundo estágio de decomposição (9% de perda de massa, curva TGA) foi observada entre 115 e 220°C, o que se atribui à eliminação dos óleos essenciais voláteis presentes no extrato-Cz. O terceiro estágio (19% de perda de peso, curva TGA) se observa entre 220 e 330°C. Essa massa pode ser atribuída à decomposição térmica de carboidratos e proteínas. A porcentagem de perda de massa neste estágio foi comparável com os resultados da literatura (BACH *et al.*, 2017).

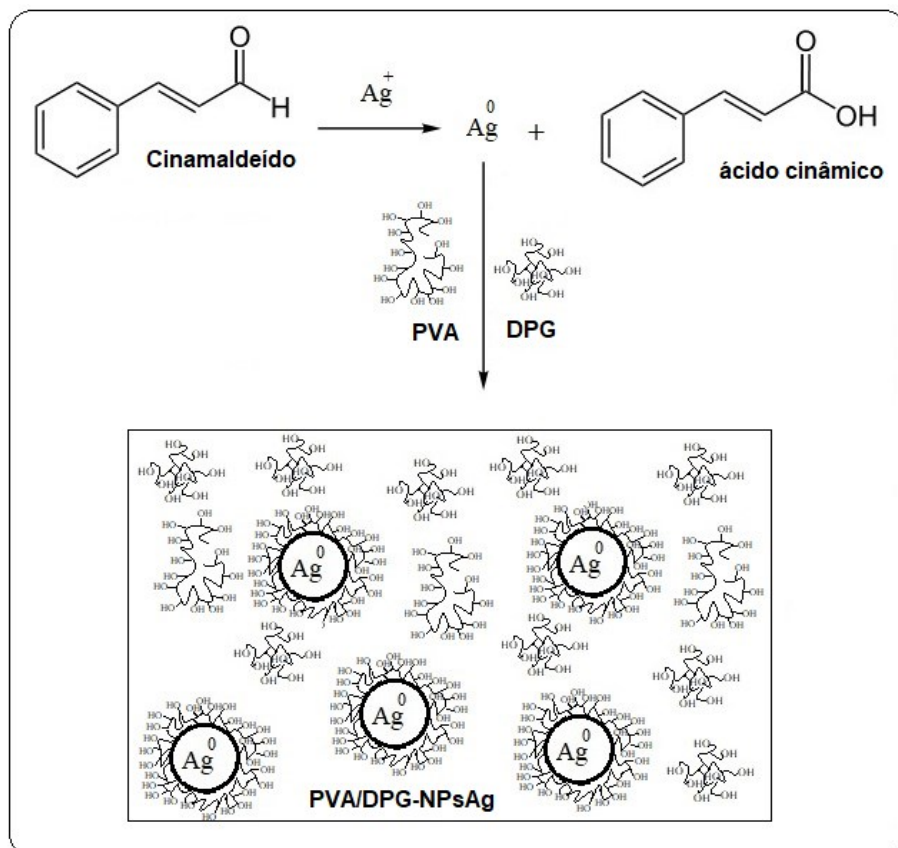
O quarto estágio de degradação, observado entre 330 e 600 °C, pode ser atribuído à presença de substâncias de elevada estabilidade térmica. O fato de o extrato vegetal conter substância de elevada estabilidade térmica confirma a extração de metabólitos secundários do *Cinnamomum zelanicum* e, portanto, a eficiência do processo de extração usando a energia de ultrassom. Nessa etapa, observa-se uma perda de 50% de massa, que se atribui à degradação térmica da cadeia principal de macromoléculas extraíveis. Estas, provavelmente, sejam de natureza lipídica. A massa residual observada até 600 °C, pela curva TGA, é em torno de 15%.

5.2 Síntese verde e preparação dos filmes PVA/DPG-NPsAg

Os grupos funcionais presentes no extrato-Cz, como aldeído e álcoois, identificados pela espectroscopia UV-vis (Figura 7) e FTIR (Figura 8), podem reduzir os íons de prata (Ag^+) a nanocristais. As nanopartículas de prata (NPsAg) formadas por redução química são estabilizadas pelas macromoléculas biológicas (metabólitos secundários do extrato Cz) e pelo sistema polimérico PVA/DPG utilizado.

A Figura 10 mostra o esquema de síntese verde de NPsAg devido à presença de cinamaldeído no extrato-Cz. As NPsAg são estabilizadas estericamente em grande parte pelo sistema polimérico presente na síntese verde “*in situ*”, poli (vinil álcool) (PVA) e dendrímero de poliglicerol (DPG).

Figura 10: Esquema de síntese verde de NPsAg com extrato-Cz (Fonte: próprio autor)



A síntese verde de NPsAg “*in situ*”, na presença de PVA e DPG, usando como agente redutor extrato-Cz (Figura 10) foi demonstrada pela espectroscopia UV-vis, por meio da banda

de ressonância de plasmon de superfície (RPS) (WU *et. al.*, 2015), como mostram as Figuras 11, 12 e 13.

Figura 11: Espectro UV-vis da solução da síntese verde de PVA/DPG-NPsAg 5

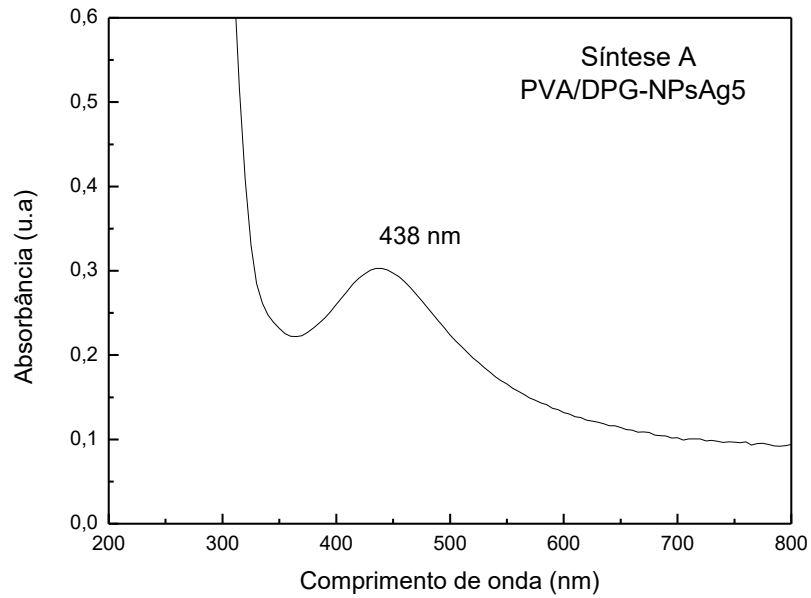


Figura 12: Espectro UV-vis da solução da síntese verde de PVA/DPG-NPsAg 10

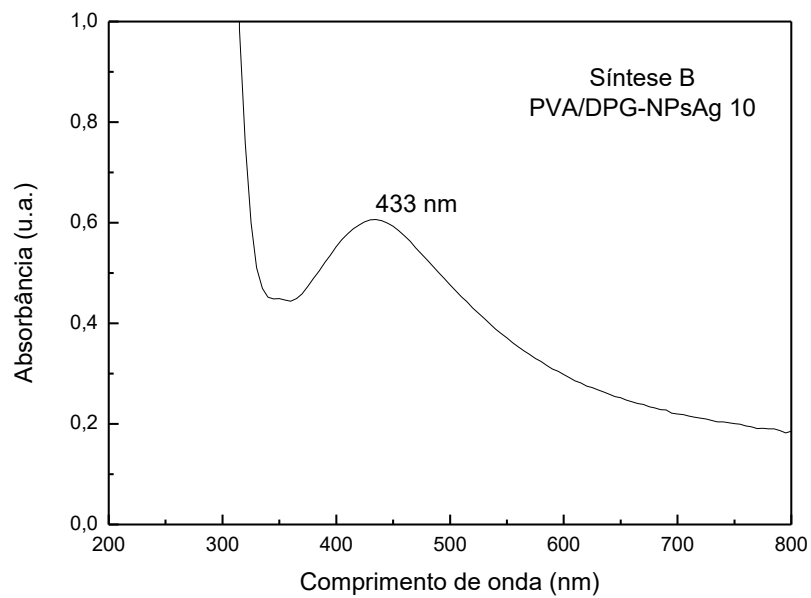
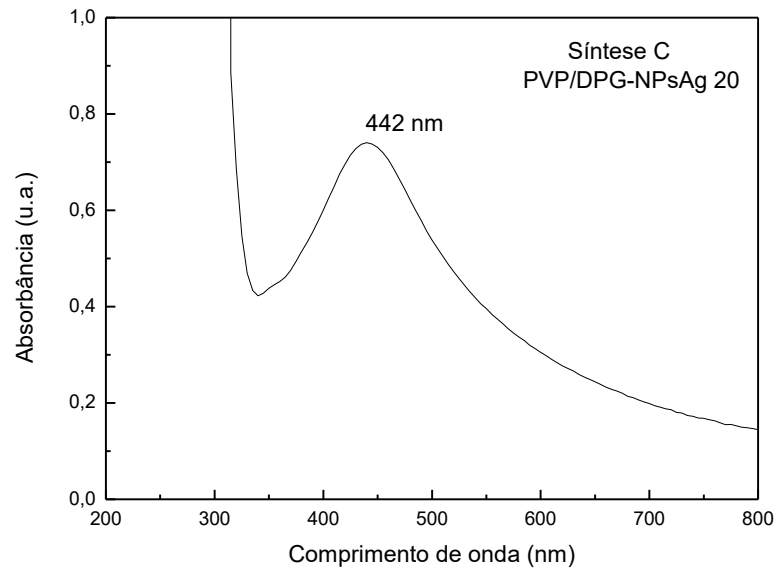
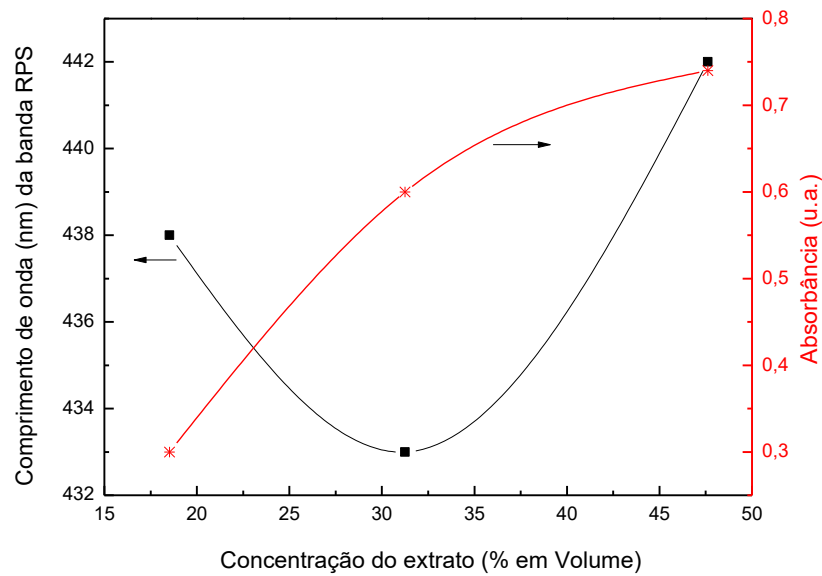


Figura 13: Espectro UV-vis da solução da síntese verde de PVA/DPG-NPsAg 20



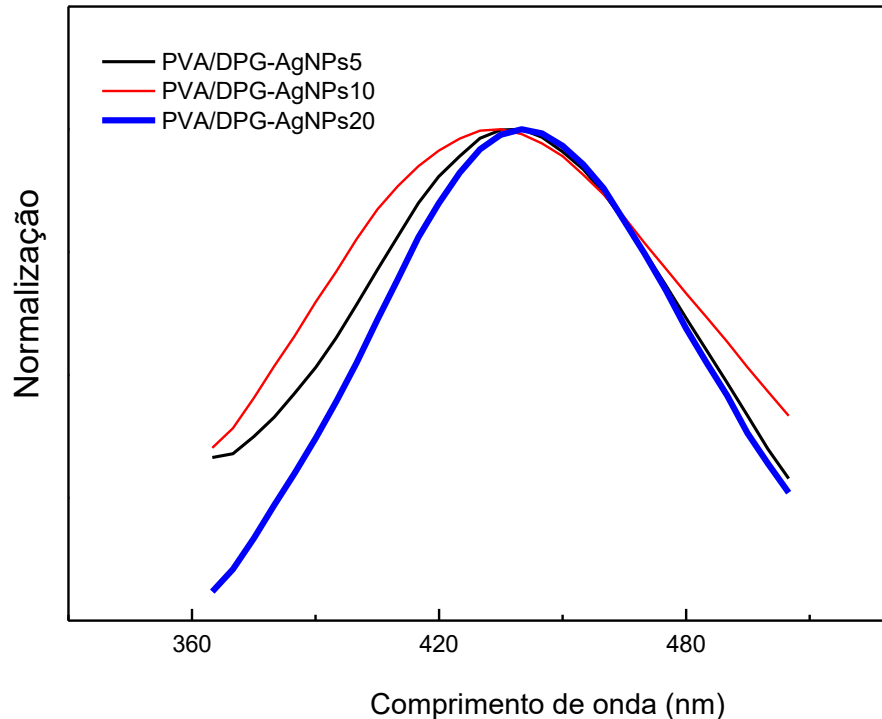
A Figura 14 resume o comportamento da banda RPS com a concentração do extrato. Observa-se que um aumento entre 18 e 31 % (em volume) do extrato aumenta a absorbância e, portanto, a concentração de NPsAg, ocasionando também a diminuição do comprimento de onda da banda RPS. Conhece-se da literatura que o decréscimo da banda RPS está associado a um menor tamanho das nanopartículas (IDER *et al.*, 2016). Conclui-se, portanto que, nesta faixa, o aumento da concentração do extrato-Cz favorece a síntese e a estabilização das NPsAg formadas e, portanto, o menor tamanho.

Figura 14: Comportamento da banda RPS com a concentração de extrato-Cz



Um aumento maior da concentração do extrato continua favorecendo a síntese verde de NPsAg, aumenta a absorbância e conseqüentemente a concentração, segundo a lei de Lambert-Beer. Porém, esse aumento da concentração já não consegue estabilização efetiva, observando-se um aumento no número de onda da banda RPS, o que conseqüentemente está relacionado ao aumento do tamanho das NPsAg (MLALILA *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2015).

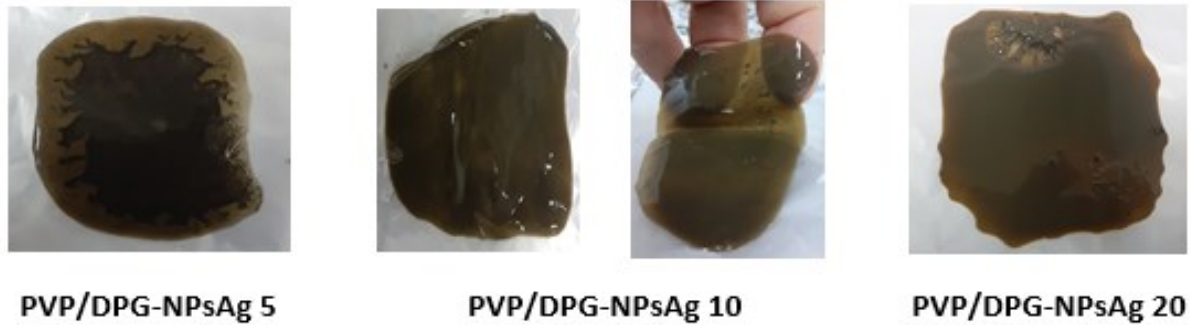
A diferença entre os três sistemas de síntese verde estudados pode ser analisada melhor por meio normalização da absorbância (eixo y) da banda RPS, conforme mostra o gráfico da Figura 15. A normalização foi realizada dividindo cada ponto da curva das Figuras 11, 12 e 13 pelo máximo valor de absorbância de cada curva.

Figura 15: Normalização das curvas UV-vis das Figuras 11, 12 e 13

As curvas de absorbância normalizadas mostram que o sistema com maior concentração de extrato-Cz é o mais homogêneo (menor largura da banda), em relação ao tamanho das NPsAg. Isso confirma as propriedades sinérgicas de estabilização e redução do extrato aquoso de *Cinnamomum* para a formação de AgNPs na matriz de PVA/DPG.

As soluções das sínteses foram depositadas sobre teflon até completa evaporação do solvente (água) à temperatura ambiente (25 °C). A Figura 16 mostra a aparência física dos filmes das amostras após a evaporação da água. Foram observadas diferenças macroscópicas significativas entre elas enquanto a homogeneidade, estabilidade dimensional, textura e flexibilidade. O filme obtido a partir da síntese A tem uma aparência heterogênea, observa-se segregação macroscópica do extrato vegetal na matriz do PVP/DPG. Essa amostra apresentou estabilidade dimensional (foi retirada do teflon sem dificuldade), sendo altamente flexível.

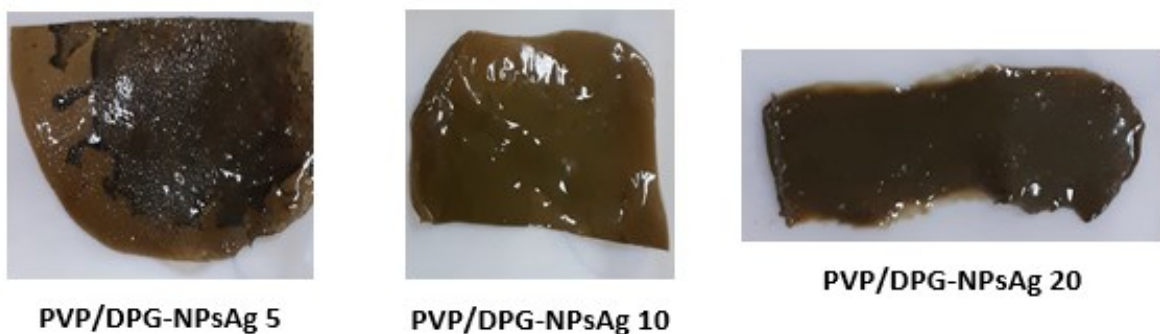
Figura 16: Filmes de PVP/DPG-NPsAg após evaporação do solvente



No filme obtido a partir da síntese B, também há segregação do extrato vegetal, mas em dimensões menores e estas se distribuem através da matriz. A textura deste filme é pegajosa, apresentando menor estabilidade dimensional e elevada flexibilidade. O filme da amostra da síntese C não tem nenhuma estabilidade dimensional. Ele é deformado, sendo moldável ao contato com as mãos, enquanto a sua aparência é semelhante ao filme da síntese B. O extrato também é segregado macroscopicamente e se distribui através da matriz polimérica.

Para a obtenção das membranas PVA/DPG-NPsAg, os filmes obtidos após a evaporação da água foram levados à estufa na temperatura de 100 °C, durante 1h, para, assim, completar a reação de curado. A Figura 17 mostra as membranas PVA/DPG-NPsAg após a reação de curado.

Figura 17: Imagens das membranas de PVP/DPG-NPsAg, após a reação de curado dos filmes.



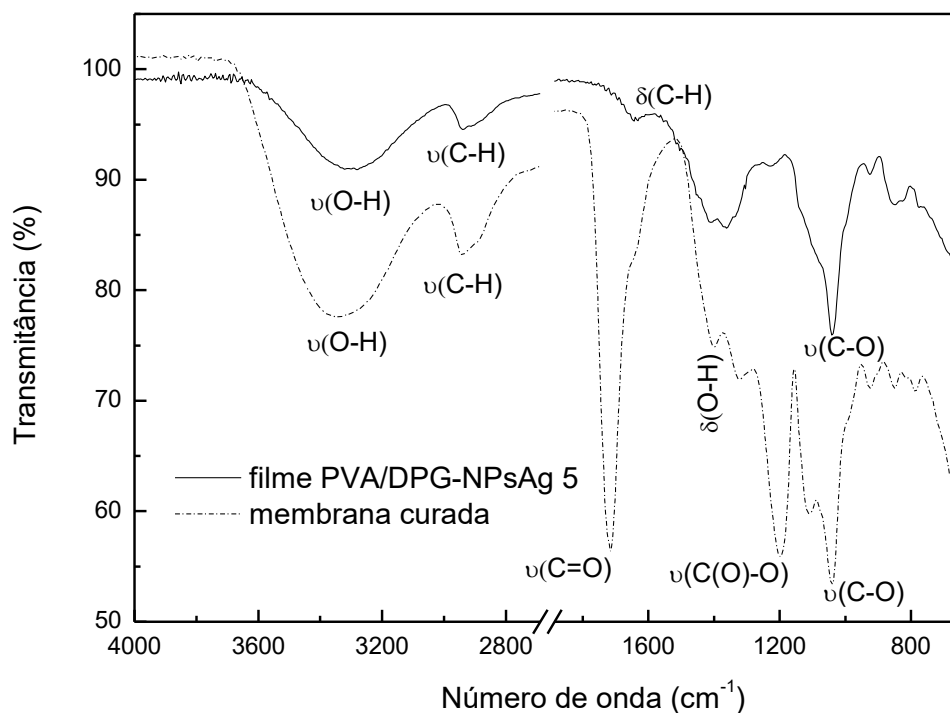
A reação de cura representa o entrecruzamento das cadeias do sistema polimérico devido à reação de esterificação entre os grupos - OH do sistema polimérico e os grupos ácidos, do agente entrecruzante (agente de cura, ácido cítrico). A estabilidade dimensional das membranas PVP/DPG-NPsAg 10 e PVP/DPG-NPsAg 20 foi mudada consideravelmente após a reação de cura, como se observa na Figura 17. Estas foram as membranas com melhor aparência e melhores propriedades físicas.

5.2 Caracterização dos filmes e das membranas de PVP/DPG-NPsAg

5.2.1 Análises da estrutura molecular (FTIR)

A estrutura molecular do material obtido na reação de síntese verde (filmes) é comparada com a estrutura molecular da membrana preparada após a reação de curado. A Figura 18 mostra, de forma comparativa, a análise de espectroscopia FTIR do filme obtido na síntese A, após evaporação da água e da membrana PVA/DPG-NPsAg 5 (filme curado).

Figura 18: Espectro FTIR comparativo do filme e da membrana PVP/DPG-NPsAg 5.

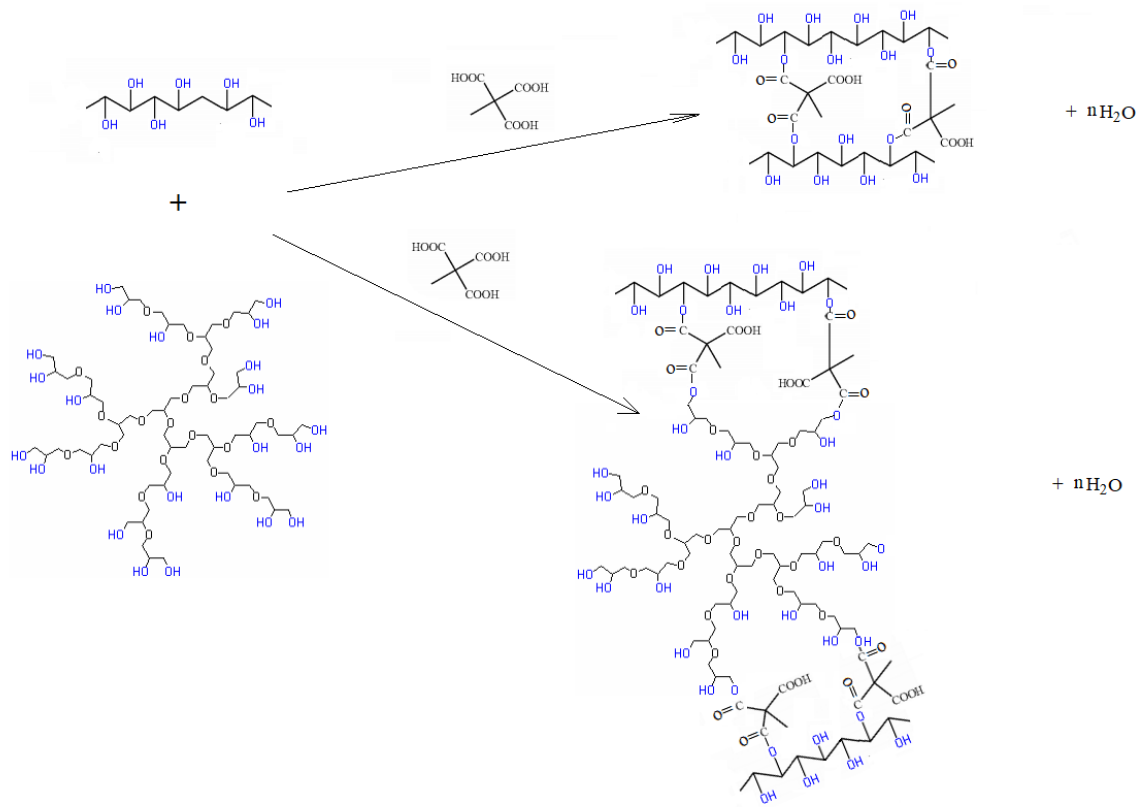


Na Tabela 3, são mostradas as atribuições das bandas dos espectros FTIR do filme e da membrana curada de PVA/DPG-NPsAg5. Duas novas bandas aparecem na membrana, confirmando a reação de entrecruzamento. Essas bandas são referentes à vibração de estiramento da ligação (C=O) de éster em 1714 cm⁻¹, diferente da banda C=O de ácido cítrico que aparece em 1743 cm⁻¹ (HELOU, 2018). E a banda C(O)-O em 1200 cm⁻¹, também correspondente à formação da ligação éster formada entre o ácido cítrico e o PVA ou DPG. A reticulação de PVA com ácidos orgânicos, é relatada na literatura em Rynkowska *et al.*, 2019. A Figura 19 apresenta o esquema de reação para o sistema PVA e ácido cítrico, estudado em nosso trabalho.

Tabela 3. Assinalamento das bandas dos espectros FTIR apresentados na Figura 18

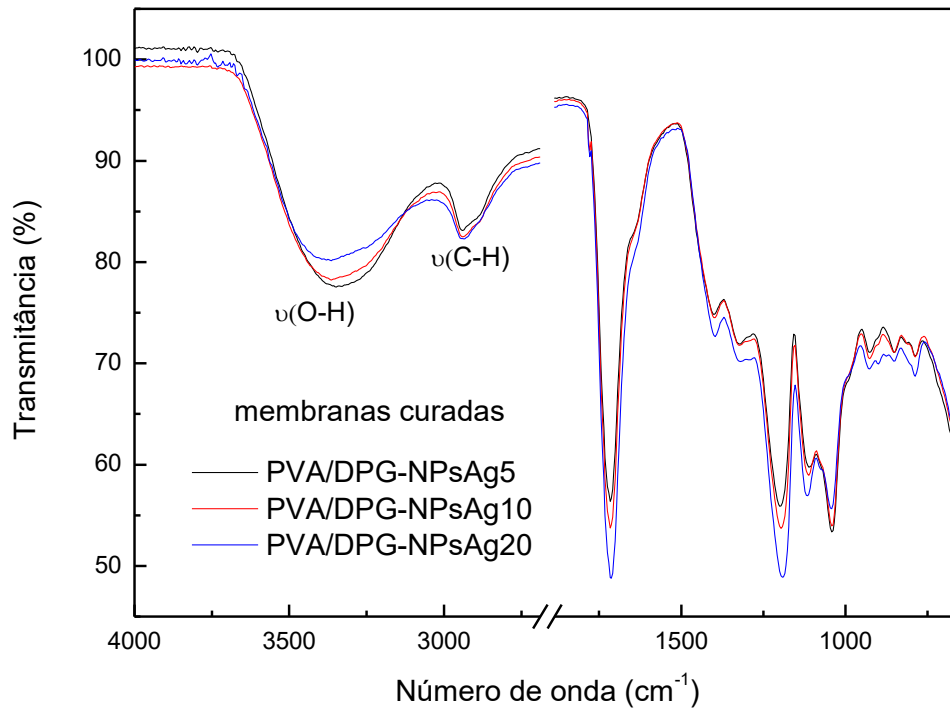
Número de onda (cm ⁻¹)	Assinalamento Filme	Número de onda (cm ⁻¹)	Assinalamento Membrana
3330	Estiramento O-H hidroxilas	3300	Estiramento O-H hidroxilas
2941	Estiramento (C-H) de CH ₂	2941	Estiramento C-H de CH ₂
	Ausente	1714	Estiramento de C=O
1642	Deformação angular C-H	1645	Deformação angular C-H
1409	Deformação angular O-H	1400	Deformação angular O-H
1362	Ausente	1324	
		1200	Estiramento C(O)-O
1038	Estiramento de C-O	1038	Estiramento de C-O

Figura 19: Reação de curado do ácido cítrico e as macromoléculas PVA e DPG. (Fonte: próprio autor)



Os espectros FTIR das membranas PVA/DPG-NPsAg, obtidas na síntese B e C, foram semelhantes aos discutidos para a síntese A. Eles são apresentados comparativamente à síntese A (PVA/DPG-NPsAg5) na Figura 20.

Figura 20: Espectro FTIR comparativo das membranas de PVP/DPG-NPsAg.



Na medida em que os filmes de PVA/DPG-NPsAg são curados, segundo a reação de reticulação proposto no esquema da Figura 19, a concentração de hidroxilas deve diminuir proporcionalmente à extensão da reação de cura. Para obter informação quantitativa sobre a extensão da reação de cura nos sistemas estudados, foi determinada, por FTIR, a concentração de grupos OH nos sistemas de reação A, B e C. A concentração de grupos OH é proporcional à intensidade da banda de vibração relativa ao estiramento da ligação OH (3300 cm^{-1}). Para determinar a concentração de OH, toma-se como referência a banda de vibração de estiramento da ligação CH em 2941 cm^{-1} . Os resultados obtidos a partir do espectro FTIR da Figura 20 são mostrados na Tabela 4.

A partir dos resultados obtidos e apresentados na Tabela 4, pode-se observar que não existem diferenças significativas na concentração de OH entre as diferentes sínteses. Portanto, a razão de intensidade entre as bandas OH/CH não fornece informação suficiente da reação de curado.

Tabela 4. Determinação da razão de intensidade entre as bandas de vibração de estiramento das ligações OH e CH.

Membrana curada	Banda OH		Banda CH		Razão de intensidade I_{OH}/I_{CH}
	Nº onda (cm^{-1})	Intensidade (%)	Nº onda (cm^{-1})	Intensidade (%)	
PVA/DPG-NPsAg5	3332	16,23	2941	5,41	3,00
PVA/DPG-NPsAg10	3360	14,78	2941	5,31	2,78
PVA/DPG-NPsAg20	3380	13,00	2941	4,89	2,66

Porém, uma característica a destacar na reação de curado é que a banda de OH se desloca à menor frequência de vibração (número de onda), na medida em que aumenta a concentração do extrato-Cz. A frequência de vibração é diretamente proporcional à força da ligação, segundo a equação de Hooke (SMITH, 2011). Portanto, é evidente que a força da ligação OH é modificada nas membranas. Foi concluído que o sistema com maior concentração de extrato-Cz apresentou maior concentração de AgNPs e, portanto, requer maior estabilização. Por isso, os resultados mostram que o grupo funcional -OH de PVA e PGLD também participam da estabilização das AgNPs produzidos. De acordo com a literatura, a interação metal-OH diminui o número de onda das vibrações de estiramento O-H (SALAZAR-SALINAS *et al.*, 2014).

5.2.2 Análises do comportamento térmico (TGA)

As Figuras 21, 23 e 25 (Tabelas 5, 7, 9, respectivamente) mostram o perfil de degradação térmica para os filmes PVA/DPG-NPsAg “sistemas não curados” e as Figuras 22, 24 e 26 (Tabelas 6, 8 e 10, respectivamente) mostram o perfil de degradação das membranas PVA/DPG-NPsAg “filmes curados”, das amostras PVA/DPG-NPsAg 5, PVA/DPG-NPsAg 10 e PVA/DPG-NPsAg 20, respectivamente. As curvas de TGA representam a estabilidade térmica na faixa de temperatura de 25 a 755 °C / 800 °C. As curvas de DTGA referem-se às máximas perdas de massa dos componentes. Nas tabelas, destacam-se os principais eventos térmicos e as porcentagens de perdas de massa, ambos os dados são retirados das curvas TGA e DTGA.

O perfil de degradação dos filmes PVA/DPG-NPsAg (sistemas sem curar) é semelhante nas três amostras. Primeiramente, acontece a perda de umidade (~60°C), substâncias presentes no extrato vegetal e ácido cítrico (~100°C). Destaca-se, aqui, que o extrato-Cz também perde massa a temperaturas maiores, pois ele contém polissacáridos, macromoléculas de maior

estabilidade térmica (ver Figura 9). Seguidamente, observa-se uma perda maior, com temperatura máxima de perda em torno de 300°C, que se atribui à degradação dos polímeros PVA, DPG e polissacáridos presentes no extrato. O resíduo é atribuído às nanopartículas de prata que não degradam e aos produtos cíclicos dos polímeros estabilizados até 800 °C.

Figura 21: Perfil TGA/DTGA do filme PVA/DPG- NPsAg 5 a 20 °C/min

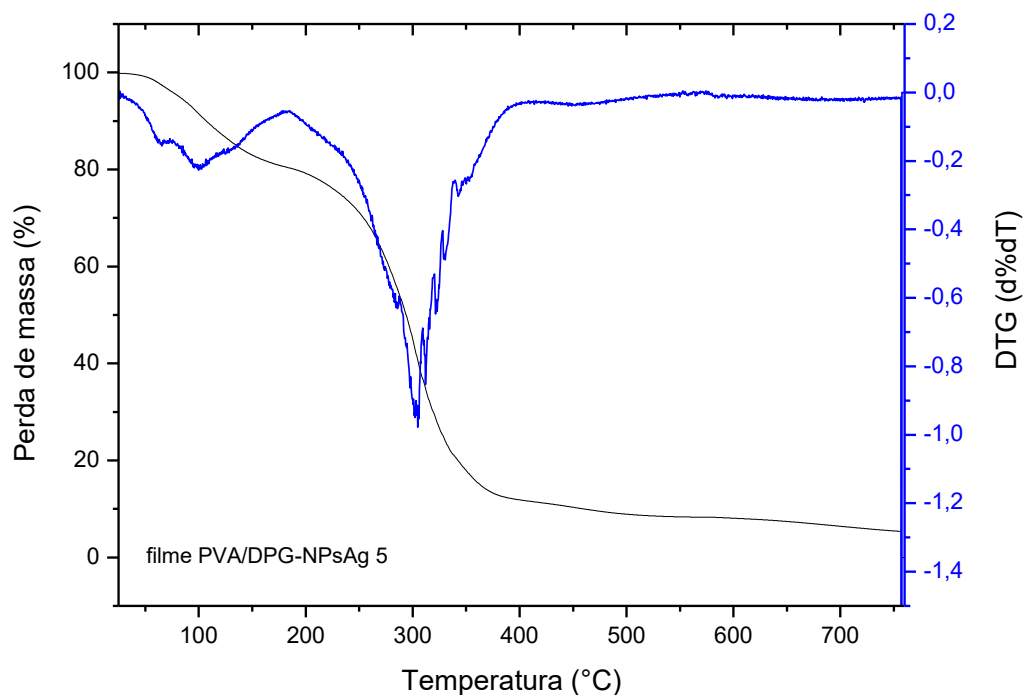


Tabela 5. Principais eventos térmicos e perdas de massa do filme PVA/DPG-NPsAg5

Filme PVA/DPG-NPsAg5			
Faixa de Temp. de degradação (°C)*	Temp. de máxima perda (°C)**	Perda de massa (%)**	Atribuição
25,00 a 77,00	64,00	4,00	Umidade
77,00 a 183,48	77,37	15,40	Extrato-Cz + Ac. Cítrico
183,48 a 386,63	302,81	68,37	PVA + DPG
386,63 a 755,00	perda contínua	6,71	PVA + DPG
Resíduo a 755	-	5,48	Ag + x
TOTAL		100	

x, material polimérico reticulado com estabilidade térmica em 800 °C

Figura 22: Perfil TGA/DTGA da membrana PVA/DPG- NPsAg 5 a 20°C/min

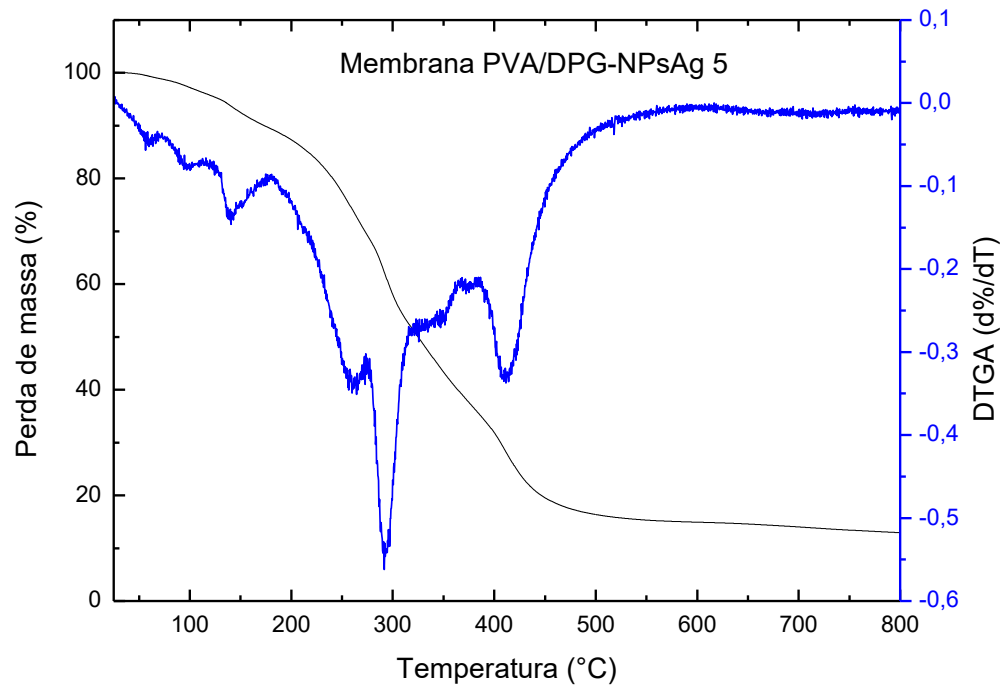


Tabela 6. Principais eventos térmicos e perdas de massa da membrana PVA/DPG-NPsAg 5

Membrana PVA/DPG-NpsAg 5			
Faixa de Temp. de degradação (°C)*	Temp. de máxima perda (°C)**	Perda de massa (%)**	Atribuição
25,00 a 72,08	59,41	1,12	Umidade
72,08 a 120,53	99,00	2,96	Extrato-Cz + Ac. Cítrico
120,53 a 184,40	141,00	6,78	Extrato-Cz + Ac. Cítrico
184,40 a 274,70	262,00	19,90	PVA + DPG
274,70 a 318,76	293,00	17,79	PVA + DPG
318,76 a 384,00	contínua	15,67	PVA + DPG
384,83 a 492,75	412,00	21,05	PVA + DPG
492,75 a 800	contínua	1,4	PVA + DPG
Resíduo a 800	-	13,33	Ag + x
TOTAL		100	

x, material polimérico reticulado com estabilidade térmica em 800 °C

Figura 23: Perfil TGA/DTGA do filme PVA/DPG-NPsAg 10 a 20 °C/min.

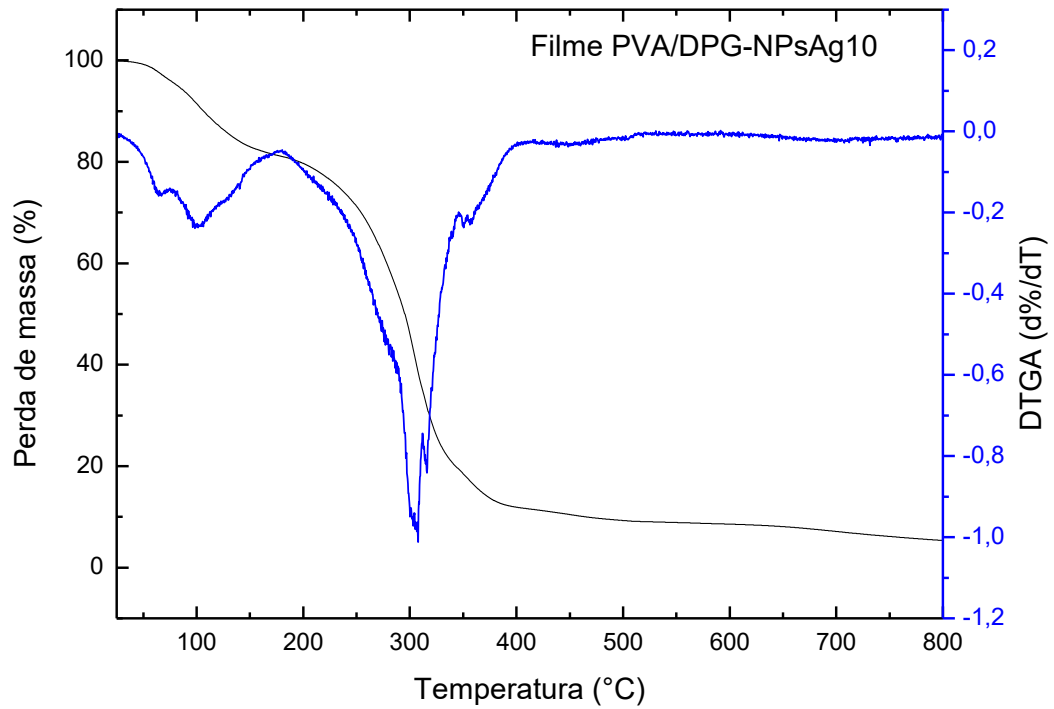


Tabela 7. Principais eventos térmicos e perdas de massa do filme PVA/DPG-NPsAg 10

Filme PVA/DPG-NPsAg 10			
Faixa de Temp. de degradação (°C)*	Temp. de máxima perda (°C)**	Perda de massa (%)**	Atribuição
25,00 a 74,83	65,75	4,03	Umidade
74,83 a 178,35	100,98	14,79	Extrato-Cz + Ac. Cítrico
178,35 a 339,13	303,61	60,52	PVA + DPG
339,13 a 387,58	354,27	8,31	PVA + DPG
387,58 a 800,00	contínua	6,88	PVA + DPG
Resíduo		5,47	Ag + x
TOTAL		100	

x, material polimérico reticulado com estabilidade térmica em 800 °C

Figura 24: Perfil TGA/DTGA da membrana PVA/DPG- NpsAg10 a 20°C/min

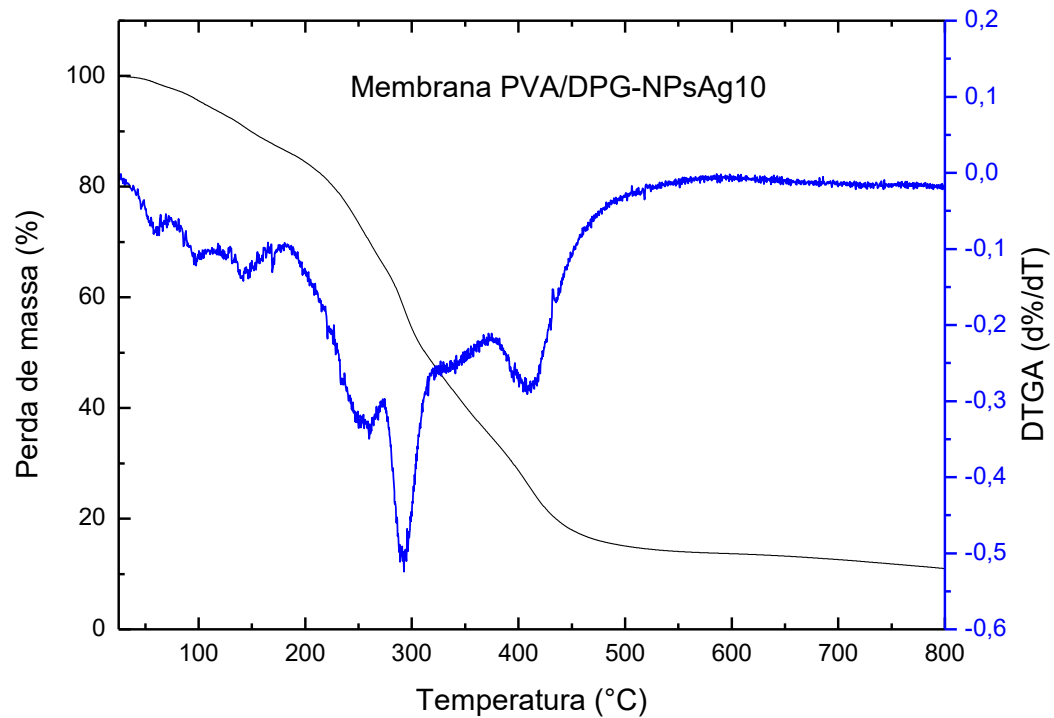


Tabela 8. Principais eventos térmicos e perdas de massa da membrana PVA/DPG-NPsAg 10

Membrana PVA/DPG-NPsAg 10			
Faixa de Temp. de degradação (°C)*	Temp. de máxima perda (°C)**	Perda de massa (%)**	Atribuição
25,00 a 75,38	59,41	2,12	Umidade
75,38 a 134,84	96,86	5,94	Extrato-Cz + Ac. Cítrico
134,84 a 187,71	143,10	5,42	Extrato-Cz + Ac. Cítrico
187,71 a 275,81	257,64	20,75	PVA + DPG
275,81 a 322,06	291,50	17,36	PVA + DPG
322,06 a 372,72	contínua	12,71	PVA + DPG
372,72 a 478,44	408,23	17,48	PVA + DPG
478,44 a 800,00	contínuo	7,16	PVA + DPG
resíduo		11,06	Ag + x
TOTAL		100	

x, material polimérico reticulado com estabilidade térmica em 800 °C

Figura 25: Perfil TGA/DTGA do filme PVA/DPG- NPsAg20 a 20°C/min

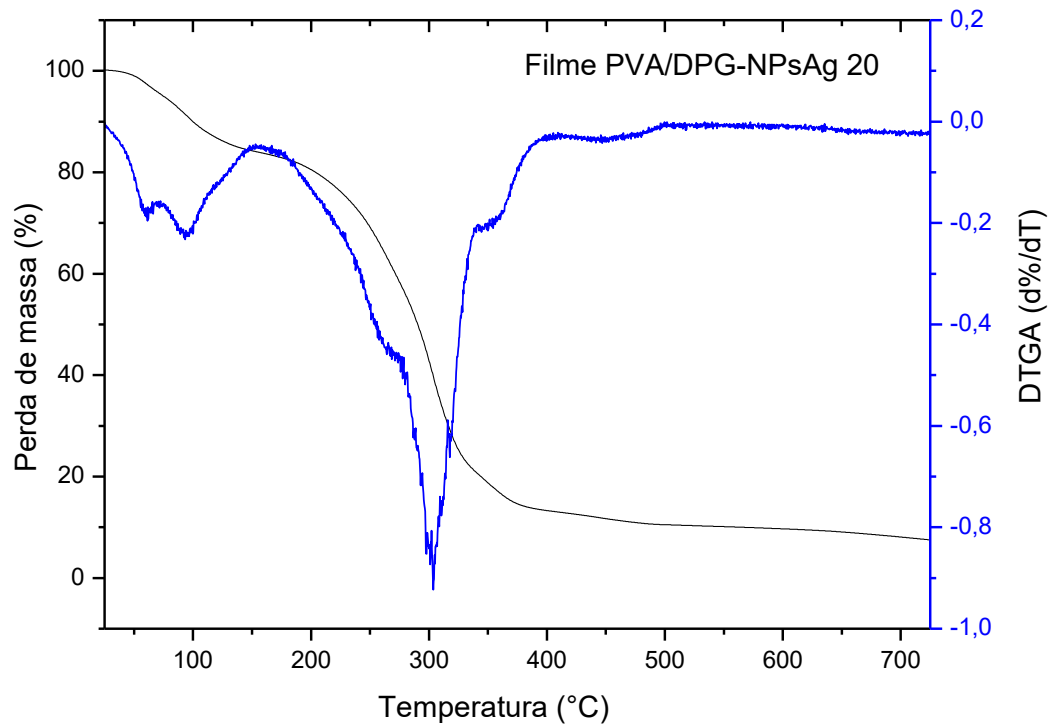


Tabela 9. Principais eventos térmicos e perdas de massa do filme PVA/DPG-NPsAg 20

Filme PVA/DPG-NPsAg 20			
Faixa de Temp. de degradação (°C)*	Temp. de máxima perda (°C)**	Perda de massa (%)**	Atribuição
25,00 a 74,23	59,81	4,38	Umidade
74,23 a 157,78	93,88	11,55	Extrato-Cz + Ac. Cítrico
157,78 a 281,13	264,47	28,18	PVA + DPG
281,13 a 340,81	302,26	35,57	PVA + DPG
340,81 a 410,44	356,22	7,39	PVA + DPG
410,44 a 722	contínuo	5,26	PVA + DPG
Resíduo		7,67	Ag + x
TOTAL		100	

x, material polimérico reticulado com estabilidade térmica em 800 °C

Figura 26: Perfil TGA/DTGA da membrana PVA/DPG-NPsAg 20 a 20 °C/min

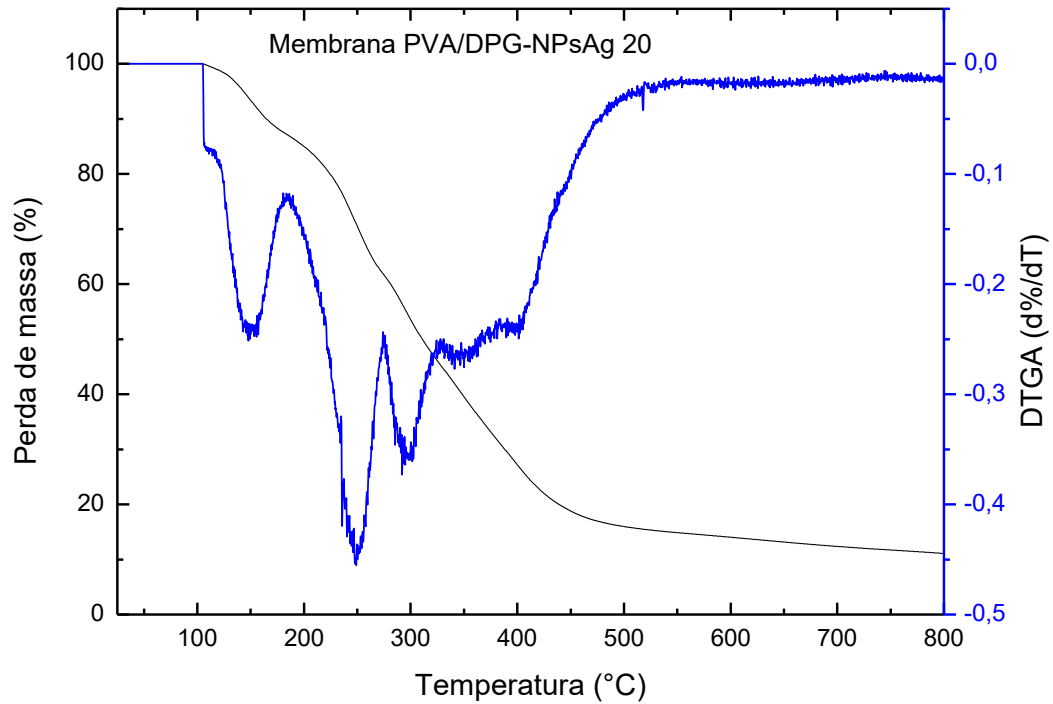


Tabela 10. Principais eventos térmicos e perdas de massa da membrana PVA/DPG-NPsAg 20

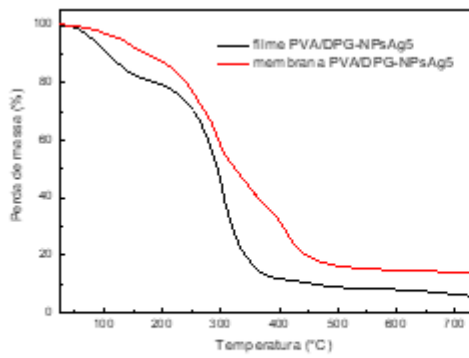
Membrana PVA/DPG-NPsAg 20			
Faixa de Temp. de degradação (°C)*	Temp. de máxima perda (°C)**	Perda de massa (%)**	Atribuição
105,00 a 184,40	148,88	12,82	Umidade
184,40 a 274,70	248,00	25,40	Extrato-Cz + Ac. Cítrico
274,71 a 327,57	296,46	16,52	PVA + DPG
327,57 a 382,63	349,32	13,56	PVA + DPG
382,63 a 499,36	397,77	15,66	PVA + DPG
499,36 a 800	contínuo	4,55	PVA + DPG
Resíduo		11,49	Ag + x
TOTAL		100	

x, material polimérico reticulado com estabilidade térmica em 800°C

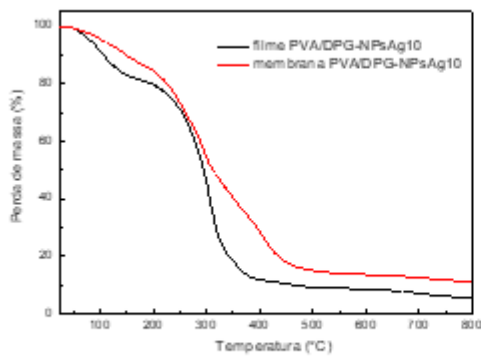
O perfil de degradação das membranas PVA/DPG-NPsAg (filmes curados) também é semelhante nas 3 amostras. As curvas TGA e DTGA são apresentadas nas Figuras 22, 24 e 26. A degradação da cadeia principal do polímero, quando reticulada, mostra um perfil de degradação diferente, fazendo-se mais evidentes as etapas de degradação que devem se iniciar primeiramente com a perda dos grupos laterais da cadeia principal no caso do PVA –OH, e dos braços do DPG. Em seguida, a ligação C-C da cadeia principal e braços. Fica, nas amostras curadas, um resíduo maior, o que sugere a formação de maior número de compostos cíclicos estáveis durante a degradação. Rynkowska *et al.* (2019) relatam um efeito semelhante em membranas a base de PVA curadas com diferentes teores de ácido succínico.

A Figura 27 mostra comparativamente a estabilidade térmica das membranas (filmes curados) em relação aos filmes (sistemas não curados), para as três amostras estudadas. Nas três amostras estudadas, observa-se uma maior estabilidade térmica após a reação de entrecruzamento. Isso é esperado que aconteça, pois a reticulação estabiliza a rede polimérica, novas ligações são formadas entre as cadeias. Essas ligações fornecem estabilidade dimensional e o material requer uma maior energia térmica para quebrar as novas ligações formadas e degradar as cadeias poliméricas.

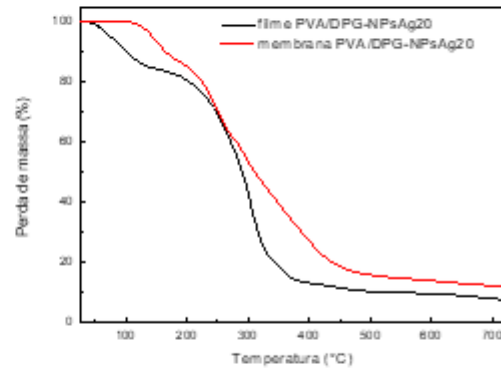
FIGURA 27: Curvas TGA comparativa dos filmes “sistemas sem curar” e das membranas “filmes curados” (a) PVA/DPG- NPsAg 5, (b) PVA/DPG- NPsAg 10, (c) PVA/DPG- NPsAg 20



(a)



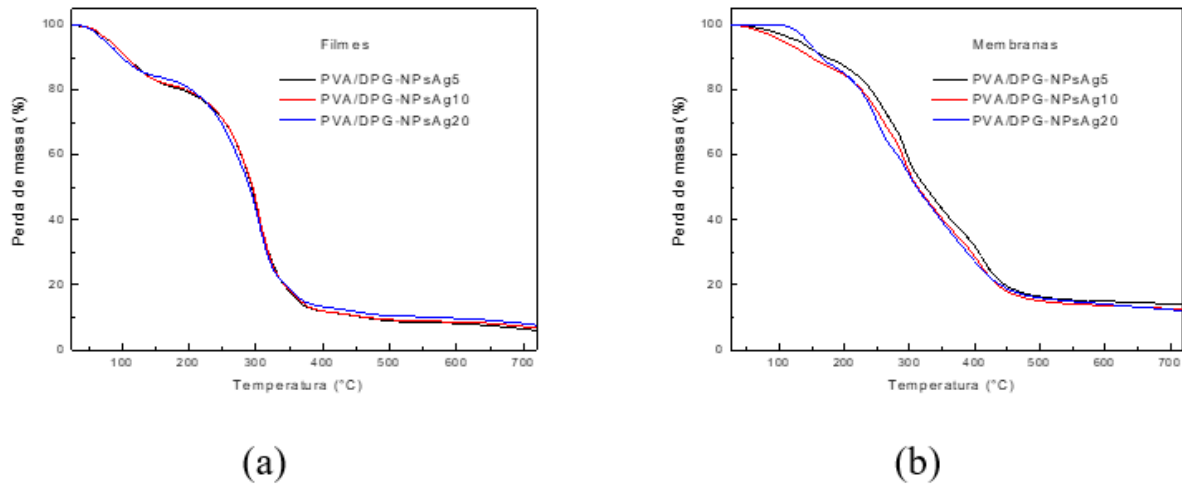
(b)



(c)

A Figura 28 compara as curvas de TGA das três amostras estudadas antes e após a cura. Pode-se destacar, em primeiro lugar, que o resíduo é semelhante em todas as amostras, observando-se apenas uma pequena diferença entre elas. Nas membranas, amostras curadas, observa-se uma estabilização térmica ligeiramente maior, na cadeia macromolecular das amostras PVA/DPG-NPsAg 10, seguida da amostra PVA/DPG-NPsAg 5.

Figura 28: Curvas TGA comparativa das diferentes amostras PVA/DPG-NPsAg estudadas filmes (a) e membranas (b)

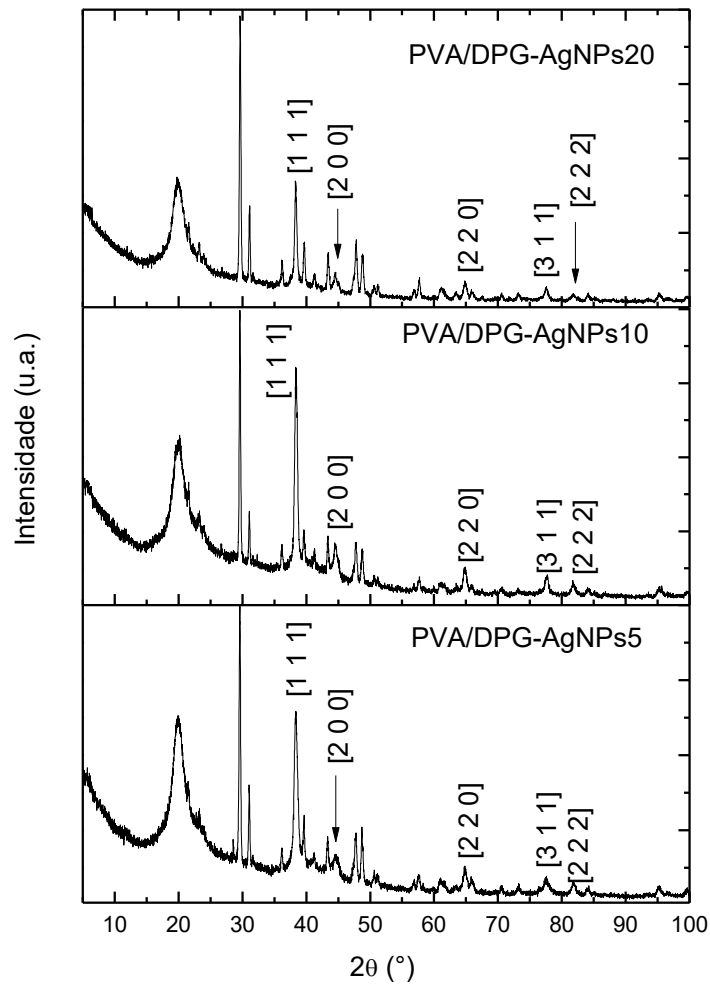


Porém, no início da degradação térmica, a amostra que se apresenta com maior estabilidade térmica é a amostra PVA/DPG-NPsAg 20. Nesse intervalo, entre 25 e 100 °C, a amostra da síntese C (PVA/DPG-NPsAg 20) mostra-se mais estável. Esse resultado sugere que o extrato-Cz pode estar participando da reação de reticulação, mostrando esse sistema maior estabilidade térmica no estágio inicial de degradação.

5.2.3 Difração de Raios-X

A Figura 29 mostra o padrão de difração de raios-X (DRX) das membranas de PVA/DPG-NPsAg. O perfil de DRX das membranas é semelhante; nos espectros, observa-se um padrão policristalino com um pico de reflexão largo em $2\theta \sim 20^\circ$ que se associa ao PVA (RICCIARDI *et al.*, 2004).

Figura 29: DRX das membranas PVA/DPG-NPsAg



Os picos de difração com valores de 2θ próximos a $38,37^\circ$; $44,50^\circ$; $64,86^\circ$; $77,44^\circ$ e $81,7^\circ$ correspondem aos planos de rede indexados em [111], [200], [220], [311] e [222] respectivamente. Esses planos de rede correspondem à estrutura cúbica de face centrada da prata metálica (SATHISHKUMAR *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2007). Os outros picos cristalinos observados sugerem a presença de substâncias cristalinas orgânicas no extrato-Cz.

O tamanho médio de cristalito das NPsAg foi calculado usando a equação de Scherrer (ALWANA *et al.*, 2021):

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (3)$$

onde D é o tamanho médio do cristalito, k é a constante de Scherrer, λ é o comprimento de onda do raio X incidente (para Cu $K\alpha$, $\lambda = 0,154056$ nm), enquanto β e θ são a largura total na metade da intensidade máxima e o ângulo de Bragg respectivamente.

O método gaussiano foi usado para encontrar a largura à meia altura do pico (FWHM) no software Origin®. Os tamanhos médios de cristalitos calculados por Scherrer foram 13,64 nm, 16,63 nm e 20,27 nm para as membranas PVA-PGLD 5, PVA-PGLD 10 e PVA-PGLD 20 respectivamente. Relacionando o tamanho médio dos cristalitos com a intensidade das bandas de absorvância SPR observadas nos espectros UV-Vis (Figura 7), pode-se concluir que quanto maiores as concentrações de NPsAg, maior o tamanho médio dos cristais NPsAg.

5.2.4 Microscopia eletrônica (MEV)

A caracterização da morfologia das membranas curadas foi realizada por meio da análise das imagens obtidas da superfície vista do topo (vista superior), através da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplado a um espectrômetro de dispersão de energia (EDS). A técnica de EDS foi realizada com o objetivo de conferir a presença de nanopartículas de prata nas membranas.

As imagens de MEV foram obtidas utilizando a técnica de elétrons retro espalhados (BSD). As membranas foram previamente cobertas por uma fina camada de ouro. Infelizmente, não foi possível realizar grandes magnificações, pois a voltagem dos elétrons queimava a membrana. A imagem representa fendas escuras na superfície da amostra.

A seguir, nas Figuras 30 e 31, são mostradas as imagens de MEV e de EDS, respectivamente, das membranas curadas.

Figura 30: MEV das membranas PVA/DPG curadas (a) NPsAg 5, (b) NPsAg 10, (c) NPsAg 20

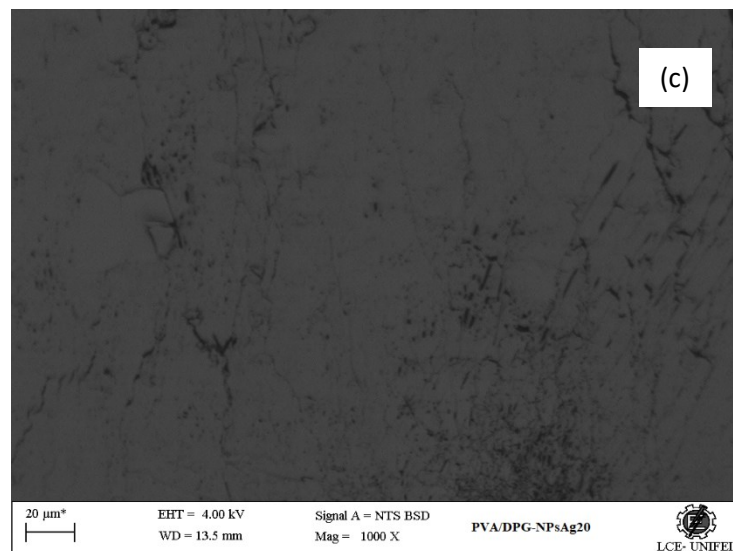
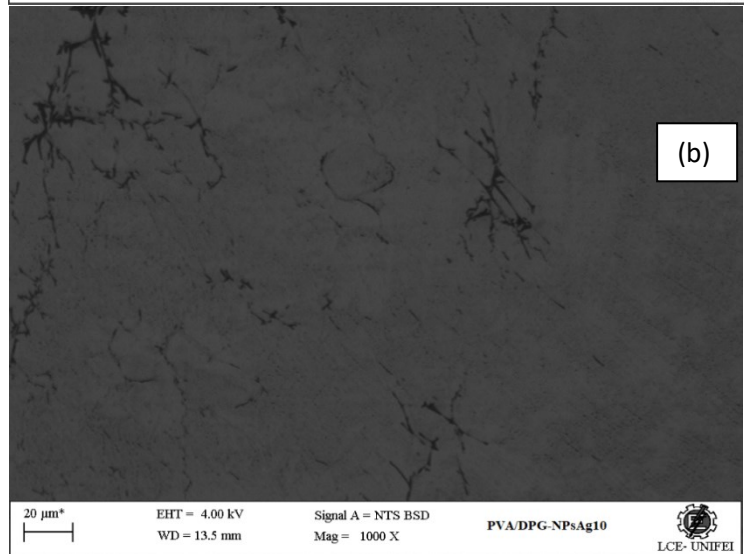
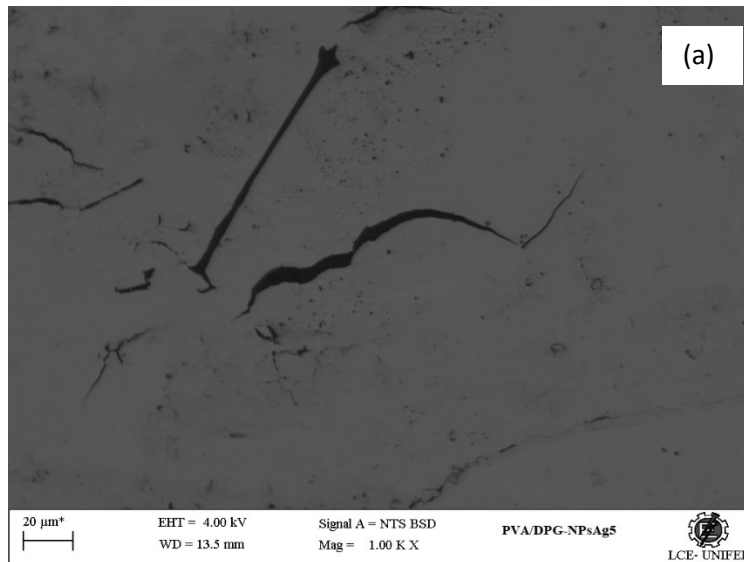
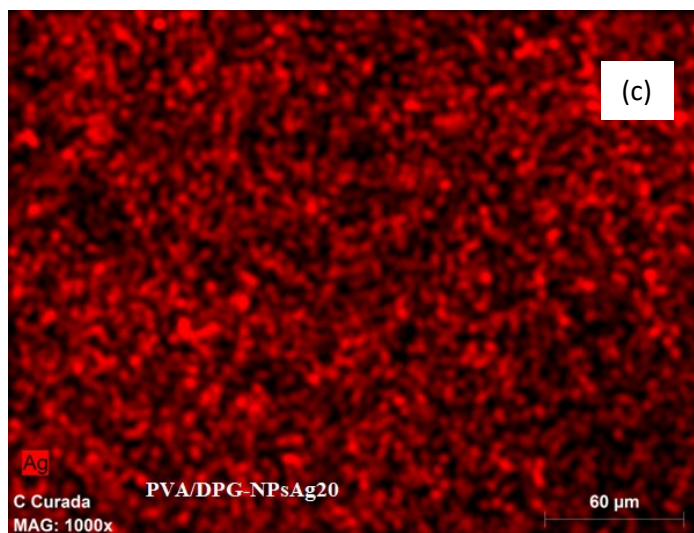
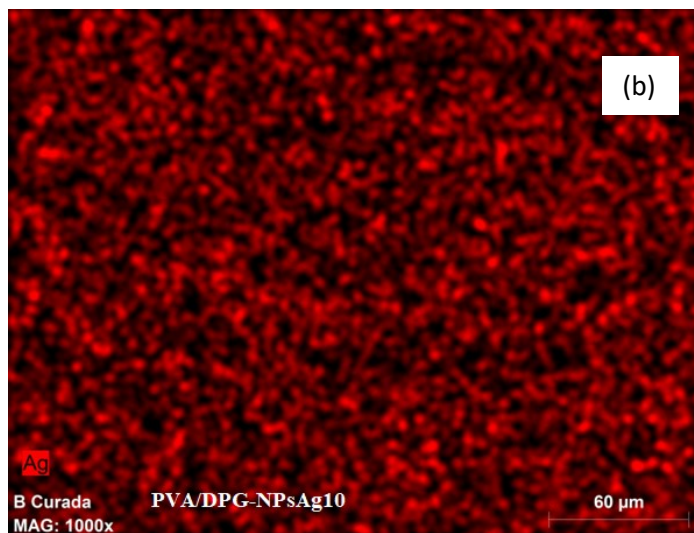
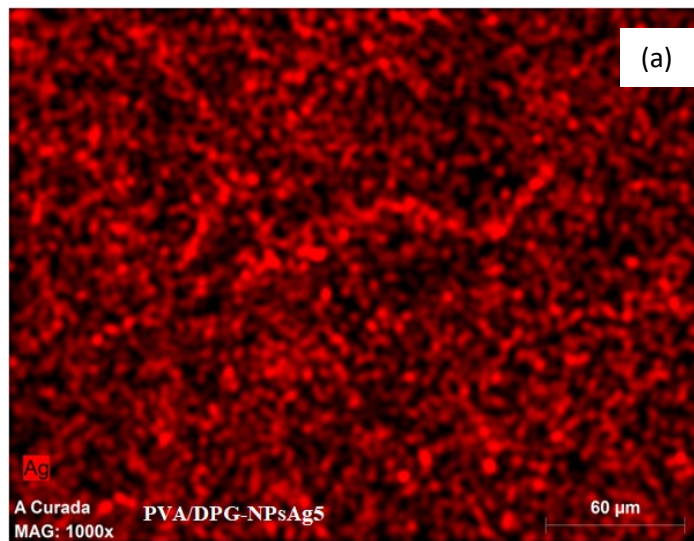


Figura 31: MEV-EDS PVA/DPG curadas (a) NPsAg 5, (b) NPsAg 10, (c) NPsAg 20



A morfologia das membranas é difícil de analisar por não ter ampliações maiores, devido ao feixe de elétrons ter produzido fissuras na membrana. Mas, de maneira geral, as superfícies se mostram irregulares, com pouca porosidade. As membranas PVA/DPG-NPsAg10 e PVA/DPG-NPsAg20 são semelhantes, observando-se uma superfície irregular com sulcos. A membrana PVA/DPG-NPsAg5 mostra uma superfície mais densa e lisa. O fato de o feixe de elétrons produzir fissuras no polímero significa que a energia é suficiente para produzir a cisão C-C, observando-se fendas na membrana. Fendas maiores e localizadas são observadas na membrana PVA/DPG-NPsAg5. Já as membranas PVA/DPG-NPsAg10 e PVA/DPG-NPsAg20 mostram fendas menores e distribuídas na matriz do polímero.

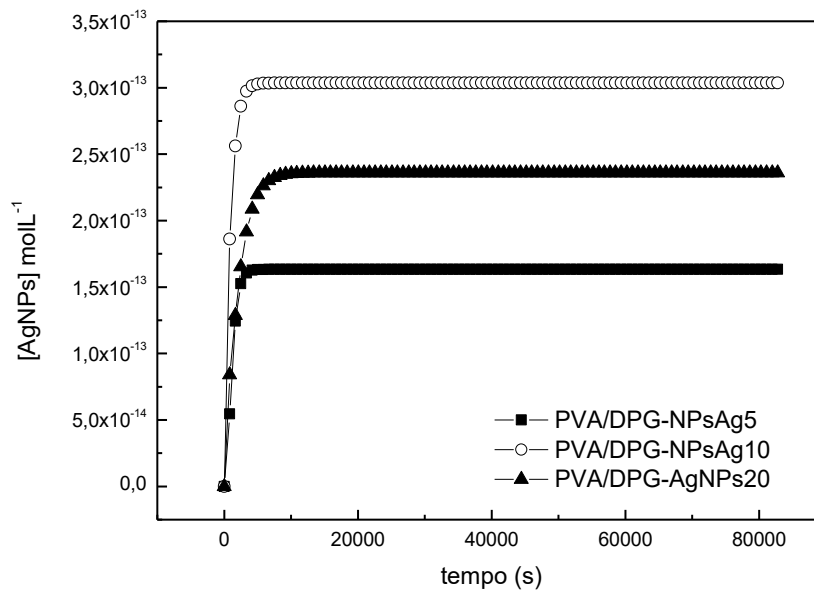
As imagens de MEV-EDS (Figura 31) revelaram a presença de prata distribuída homogeneamente na rede polimérica, o que sugere que, na síntese verde “*in situ*”, a presença do PVA/DPG, estes também atuam como estabilizadores e até se pode sugerir que atuam como verdadeiros modelos “*templates*”, evitando a agregação e promovendo a formação de uma rede homogênea e contínua através da matriz polimérica.

5.3 Estudo de liberação

Considerando os estudos teóricos (PARAMELLE *et al.*, 2014), foram estimados os coeficientes de extinção molar (ϵ) a partir do comprimento de onda da máxima absorção da banda RPS (Figuras 11, 12 e 13). Os valores do coeficiente de extinção molar estimados teoricamente foram $839,82 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $773,36 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ e $911,03 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ para as NPsAg sintetizadas usando 5 mL, 10 mL e 20 mL de extrato-Cz respectivamente. Esses valores foram usados para determinar a concentração de NPsAg usando a lei de Lambert-Beer ($A = \epsilon bC$); onde b é o caminho óptico em cm e C a concentração de Molaridade (M). A liberação de NPsAg das membranas de PVA/DPG-NPsAg foi monitorada por um intervalo de 24 h à temperatura ambiente (25 °C).

A Figura 32 mostra o perfil de liberação de NPsAg para cada membrana de PVA/DPG-NPsAg. A liberação de NPsAg, desde uma matriz polimérica, geralmente ocorre por difusão através da matriz gelatinosa ou pela erosão da matriz do hidrogel ou por meio da combinação desses mecanismos.

Figura 32: Liberação das NPsAg no tempo a 25°C



Como as NPsAg são pouco solúveis em água, é provável que sua liberação da matriz PVA/DPG seja predominantemente controlada pela taxa de dissolução do hidrogel. A Figura 32 mostra que a formulação de PVA/DPG com menor quantidade de extrato-Cz (PVA/DPG-NPsAg 5) mostrou uma liberação relativamente lenta se comparada com a membrana PVA/DPG-NPsAg 10&20. Talvez, a densidade de reticulação exerça um efeito nesse comportamento. Observa-se, nas curvas TGA (Figura 28), que a membrana PVA/DPG-NPsAg 5 foi a que mostrou maior estabilidade térmica. Portanto, deve promover uma taxa de erosão mais lenta e, portanto, uma taxa de liberação de NPsAg mais lenta. No entanto, mais pesquisas são necessárias para investigar a densidade de reticulação e a relação entre a concentração de extrato-Cz e a formação de matrizes de hidrogéis PVA/DPG mecanicamente mais estáveis.

A partir do ajuste dos dados experimentais às equações de Korsmeyer-Peppas e Higuchi, obtêm-se os parâmetros da constante cinética de velocidade k , o coeficiente de correlação R^2 e o expoente de liberação n , cujos valores obtidos são dados na Tabela 11.

Tabela 11. Parâmetros da cinética de liberação das NPsAg

Membranas	Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	k_H	R^2	n	k_{KP}	R^2
PVA/DPG AgNPs5	$8,71 \times 10^{-17}$	0,93	0,96	$5,33 \times 10^{-4}$	0,95
PVA/DPG AgNPs10	$1,28 \times 10^{-14}$	0,91	0,39	$4,23 \times 10^{-2}$	0,97
PVA/DPG AgNPs20	$1,33 \times 10^{-15}$	0,98	0,61	$5,60 \times 10^{-3}$	1,00

A Tabela 11 mostra que a cinética de liberação das NPsAg desde as membranas PVA/DPG-NPsAg se ajusta melhor ao modelo Korsmeyer-Peppas (maior coeficiente de correlação “ R^2 ”). Esse modelo é usado para descrever a difusão de um soluto penetrante por meio de uma matriz polimérica expansível. O modelo de Korsmeyer-Peppas se ajusta a um polímero com natureza de hidrogel que absorve o solvente (H_2O) e libera o princípio ativo carregado.

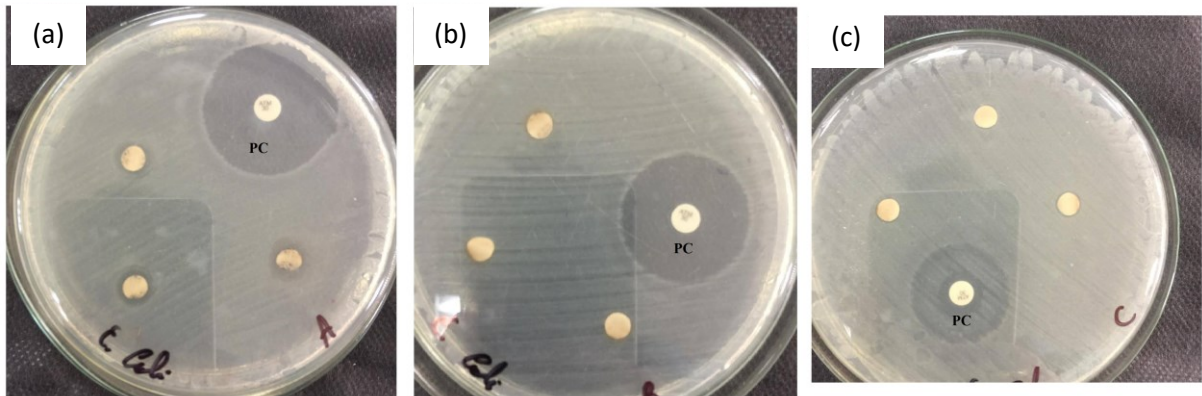
No modelo de Korsmeyer-Peppas, o expoente “ n ” está relacionado ao mecanismo de liberação do princípio ativo. Para um filme fino com $0,5 < n < 1$, o sistema pode ser descrito como um transporte anômalo (difusão não Fickiana) (SIEPMANN *et al.*, 2008). Para as membranas de PVA/DPG-NPsAg 5 e PVA/DPG-NPsAg 20, os valores do expoente “ n ” foram maiores que 0,5 e menores que 1, indicando que um mecanismo de difusão não Fickiano foi dominante para a liberação de NPsAg. Já o mecanismo de liberação do filme PVA/DPG-NPsAg 10 mostra valores $n < 0,5$. Portanto, o mecanismo cinético de liberação desse sistema pode ser identificado como uma difusão quase-Fickiana. A constante cinética de velocidade de Korsmeyer-Peppas, k_{KP} , foi maior na membrana PVA/DPG-NPsAg 10, sugerindo uma liberação mais rápida de NPsAg nesta composição de extrato-Cz. Esses resultados revelam que o comportamento da rede PVA/DPG muda com a quantidade de extrato-Cz usado na síntese verde das NPsAg.

5.4 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi investigada pelo método de difusão em disco. A Figura 33 mostra a zona de inibição contra *E. coli* para todos os discos difusores embebidos com a

solução da síntese verde dos três sistemas estudados PVA/DPG-NPsAg e uma mostra controle, contendo antibiótico.

Figura 33: Atividade antimicrobiana, (a) PVA/DPG-NPsAg 5; (b) PVA/DPG-NPsAg 10; (c) PVA/DPG-NPsAg 20



O estudo da atividade antimicrobiana da síntese verde de NPsAg contra a *E.coli* nos mostra que o produto obtido no sistema PVA/PGLD-AgNPs5 apresenta uma zona de inibição maior ($7,93\pm 0,05$ mm) do que o observado nos sistemas PVA/PGLD-AgNPs10 e PVA/PGLD-AgNPs20 ($6,05\pm 0,03$ mm). Isso pode ser atribuído aos diferentes tamanhos e concentrações de AgNPs liberados das matrizes de hidrogel PVA/DPG. O sistema PVA/PGLD-AgNPs5 libera a menor concentração de AgNPs; porém, suas nanopartículas são menores em tamanho, como mostrou o estudo de DRX, o que poderia contribuir para maior eficiência contra a bactéria *E. coli*.

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

6.1 Conclusões

A seguir, resumem-se as principais conclusões obtidas do trabalho experimental. Primeiramente, a caracterização espectroscópica UV-vis e FTIR do extrato-Cz confirmou a presença de grupos funcionais (aldeído) capazes de reduzir os íons Ag^+ até a forma de NPsAg. Também se demonstra que a técnica de ultrassom é eficiente na extração de macromoléculas, as que foram identificadas no extrato-Cz por FTIR.

O espectro UV-vis confirmou, por meio da banda de ressonância de plasmon de superfície (RPS), a síntese verde de nanopartículas de prata (NPsAg) nos sistemas estudados. O espectro UVvis também mostrou que a concentração de NPsAg é proporcional à concentração de extrato-Cz, sendo maior no sistema PVA/DPG-NPsAg 20.

Antes da reação de curado, o filme de melhor propriedade física e aparência é o filme PVP/DGP-NPsAg 10. Após a reticulação, as membranas de melhor aparência são PVA/DPG-NPsAg 10 e PVA/DPG-NPsAg 20.

O espectro FTIR confirmou a reação de reticulação entre o ácido cítrico e as macromoléculas de PVA e DPG.

O TGA mostrou que o perfil de degradação dos filmes é diferente do observado nas membranas. A temperatura de maior perda de massa nos filmes acontece de maneira geral a uma temperatura em torno de 300 °C, o que sugere que a interação entre as macromoléculas PVA e DPG é contínua e semelhante ao longo da matriz. Degrada-se, então, toda a matriz uniformemente a uma temperatura. Também não se observam diferenças de estabilidade térmica nos filmes dos três sistemas estudados.

O TGA das membranas mostrou um perfil de degradação diferente, maior estabilidade térmica e degradação diferenciada. Isso sugere heterogeneidade na rede após a reticulação. A fase mais estável deve corresponder àquela fração de cadeias que reticularam.

Pode-se concluir que a estabilidade térmica das membranas (filmes curados), foi maior que a estabilidade térmica dos respectivos filmes.

Entre as membranas, não se observam diferenças significativas na estabilidade térmica, o que sugere que as redes foram curadas na mesma extensão.

O perfil de liberação de NPsAg a 25 °C é semelhante nos três sistemas estudados e a cinética se ajustou ao modelo Korsmeyer-Peppas. Apresentando a membrana PVA/DPG-

NPsAg 10 uma difusão quase-Fickiana ($n < 0,5$), a constante cinética de velocidade de Korsmeyer-Peppas, k_{KP} , foi maior na membrana PVA/DPG-NPsAg 10, sugerindo uma liberação mais rápida de NPsAg nesta composição de extrato-Cz.

O estudo antimicrobiano dos sistemas contra a bacteria *E. coli* mostrou ser maior no sistema PVA/DPG-NPsAg5, o que sugere que atividade antimicrobiana das NPsAg é maior quando o tamanho da NPsAg é menor.

Como a finalidade do trabalho é estudar a síntese verde de NPsAg visando desenvolver um curativo com poder antimicrobiano, pode-se concluir que o sistema mais eficiente para a aplicação foi aquele que permitiu a obtenção de NPsAg de menor tamanho da prata nanocristalina (PVA/DPG-NPsAg), pois foi o sistema que mostrou maior atividade antimicrobiana.

6.2 Recomendações para trabalhos futuros

O trabalho desenvolvido representou um acréscimo de conhecimento para o grupo de pesquisa, pois mostrou que o fator mais importante na formulação do curativo desenvolvido foi o tamanho da prata nanocristalina.

Portanto, o trabalho é uma diretriz que nos permite focar os próximos estudos no ajuste da formulação, visando otimizar o tamanho da prata nanocristalina.

Otimizando o tamanho das NPsAg na formulação e mantendo-o constante, é interessante, futuramente, avaliar o efeito da concentração e cinética de liberação na atividade antimicrobiana.

Estudos importantes a serem desenvolvidos em trabalhos futuros são: propriedades mecânicas das membranas, ensaios “*in vitro*” de biocompatibilidade: citotoxicidade, genotoxicidade, hemocompatibilidade, imunotoxicidade, assim como a realização de estudos pré-clínicos “*in vivo*”.

REFERÊNCIAS

- ALWANA, S. H., Al-Saeeda, M. H. Biosynthesized silver nanoparticles (using *Cinnamomum verum* bark extract) improve the fertility status of rats with polycystic ovarian syndrome. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 38, 102-217, 2021.
- AMENDOLA, V., BAKR, O. M., STELLACCI, F. A Study of the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanoparticles by the Discrete Dipole Approximation Method: Effect of Shape, Size, Structure, and Assembly. **Plasmonics**, 5:85–97, 2010.
- BALOUIRI, M., SADIKI, M., IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 6(2), 71–79, 2016.
- BENEDITO, A., SILVA, F., SANTOS, Í. Nanopartículas de prata: aplicações e impacto ambiental. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, 16, 4-5, 2017.
- BERNARDO, A. F. C., SANTOS, K., SILVA, D. P. Pele: alterações anatômicas e fisiológicas do nascimento à maturidade. **Revista Saúde em foco**, 1(11)1221-33, 2019.
- BERNI, E., RIBEIRO, C., ZUCOLOTTI, V. Síntese de Nanopartículas de Prata para Aplicação na Sanitização de Embalagens. Embrapa Instrumentação Agropecuária. **Comunicado Técnico**. 2008.
- BRITO, J. E., VIANA, D. S. F., VIANA, V. G. F. Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata AgNp estabilizadas em extrato de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*). **Research, Society and Development**, 11(6), 2022.
- BROUGHTON, G., et al. Wound healing: an overview. **Plastic and Reconstructive Surgery**, 117(7), 2006.
- BUCCI, D. Z. **Avaliação de embalagens de PHB (poli (ácido 3-hidroxibutírico)) para alimentos**. 2003. 146p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD - Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, 20(1), 2007.
- CANTARELLI-KANTORSKI, K. J. et al. Caracterização dos atendimentos por queimaduras em um serviço de pronto-socorro. **Rev. Bras. Queimaduras**, 13(1), 38-43, 2014.
- CUADRO, P. et al. Crosslinking of Cellulose and poly (ethylene glycol) with citric acid. **Reactive and Functional Polymers**. 90, 21-24, 2015.
- DISNER, G. R., CESTARI, M. M. Nanociência & Nanotecnologia. **Evidência**, 16 (1), 71-76, 2016.
- FÉLIX, F. G., et al. Análise histórica de diagnósticos de enfermagem relacionados a feridas e lesões de pele. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, 90 (28), 2019.

FIGUEIREDO, E. C., DIAS, A. C. B., ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 44, 361-375, 2008.

FREITAS, I. **Síntese Verde para obtenção de Nanopartículas de Prata a partir de Extratos Naturais**. 2019. 62p. Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

FRIEND, D. F. L. **Desenvolvimento de membranas antimicrobianas a partir da extração e purificação da celulose da casca da batata**. 2019. 112p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Itajubá, Itajubá/MG, 2019.

GHOSH, T., BASU, A., ADHIKARI, D., ROY, D., PAL, A. K. Antioxidant activity and structural features of *Cinnamomum verum*. **3 Biotech**, 5(6), 939–947, 2015.

GRASSI, L. V. T., GRASSI, V. M. T. Ação da nanopartícula de prata no processo de cicatrização de ferida: uma revisão sistemática. **Brazilian Journal of Development**, 7(6), 58109-58131, 2021.

HEBBALALU, D.; LALLEY J.; NADAGOUDA, M. N.; VARMA, R. S. Techniques for the synthesis of silver nanoparticles using strata of plants, enzymes, bacteria, biodegradable polymers and microwavez. **ACS Sustain Chem. Eng.**, 1, 703-712, 2013.

HELOU, G. M. R. **Biossíntese de nanopartículas de prata utilizando *Cinnamomum zeylanicum* em matriz de hidrogel para aplicação biomédica**. 2018. 125p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Itajubá, Itajubá/MG, 2018.

IDER, M., ABDERRAFI, K., EDDAHBI, A., OUASKIT, S. & KASSIBA, A., Silver Metallic Nanoparticles with Surface Plasmon Resonance: Synthesis and Characterizations. **Journal of Cluster Science**, 28, 1051–1069, 2017.

INGALE, A. G. Biogenic synthesis of nanoparticles and potential applications: an ecofriendly approach. **Journal of Nanomedicine & Nanotechnology**, 4(2), 2013.

IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, 13(10), 2638-2650, 2011.

KUMARA, S., KUMARIB, R., & MISHRAB, S. Pharmacological properties and their medicinal uses of *Cinnamomum*: a review. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 71 (12), 1735–1761, 2019.

LEE, L. F., PORCH, J. V., SPENLER, W., GARNER, W. L. Integra in lower extremity reconstruction after burn injury. **Plast Reconstr Surg**, 121(4), 1256-62, 2008.

LIANGPENG, G., QINGTAO, L., MENG, W., JUN, O., XIAOJIAN, L., MALCOLM, M. Silver Nanoparticles – Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. **International Journal of Nanomedicine**, 9, 2399–240, 2014.

- LIUA, H., WANG, G., LIU, J., NAN, K., ZHANG, J., LIHONG, G., & LIU, Y. Green synthesis of copper nanoparticles using *Cinnamomum zelanicum* extract and its applications as a highly efficient antioxidant and anti-human lung carcinoma. **Journal of experimental nanoscience**, 16(1), 410–423, 2021.
- LIU, C., YANG, X., YUAN, H., ZHOU, Z., & XIAO, D. Preparation of Silver Nanoparticle and Its Application to the determination of ct-DNA. **Sensors**, 7(5), 708-718, 2007.
- LOWE, J. S.; ANDERSON, P. G. **Stevens & Lowe's Human Histology**. 4. ed. Philadelphia: Elsevier, Mosby, 2015.
- MA, X. et al. Properties of biodegradable citric acid-modified granular starch/thermoplastic pea starch composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, 1-8, 2009.
- MLALILA, N. G., SWAI, H. S., HILONGA, A., KADAM, D. M. Antimicrobial dependence of silver nanoparticles on surface plasmon resonance bands against *Escherichia coli*, Nanotechnology, **Science and Applications**, 10, 1–9, 2017.
- MOUSAVI, S. A., MOUSAVI S. J., ZAMANI A., NOURANI S. Z., ABBASI A., NASIRI E., ARAMIDEH, J. A. Comparison of Burn Treatment with NanoSilver - AloeVera Combination and Silver Sulfadiazine in Animal Models. **Trauma Mon.**, 24(3), 2019.
- OLIVEIRA, I. C., et al. A frequência dos diagnósticos de enfermagem em pacientes com feridas. **Rev. Enferm. UFPE on line**. 8 (7), 1937-1946, 2014.
- OLIVEIRA, F.P., OLIVEIRA, B.G.R.B., SANTANA, R.F., SILVA, B.P, CANDIDA, J.S.C. Nursing interventions and outcomes classifications in patients with wounds: cross-mapping. **Rev. Gaúcha Enferm.** 2016; 37(2):e55033
- PACHECO, I., BUZEA, C. Nanomaterials and Nanocomposites: Classification and Toxicity. **Handbook of Nanomaterials and Nanocomposites for Energy and Environmental Applications**, 1-38, 2020.
- PAN, R. et al. Conhecimento de profissionais de saúde acerca do atendimento inicial intrahospitalar ao paciente vítima de queimaduras. **Rev. Gaúcha Enferm.**, 39, 2018
- PARAMELLE, D., SADOVOY, A., GORELIK, S., FREE, P., HOBLEY, J., & FERNIG, D. G. Rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra. **Analyst**, 139(19), 4855-4861, 2014.
- PEREIRA, M. J. L. A Revista da SBQ e a informação científica. **Rev. Bras Queimaduras**, 12(2), 59, 2013.
- PERIPATO, A. P. B. S. O. et al. A cobertura ideal para tratamento em paciente queimado: uma revisão integrativa da literatura. **Revista Brasileira de Queimaduras**, 16(3), 188-193, 2017.
- QUEIROZ, A. A. A., ABRAHAM, G. A., CAMILLO, M. A. P., ZAZUCI, O., SILVA, G. S., FERNANDEZ, M. M. & SAN ROMÁN, J. Physicochemical and antimicrobial properties of boron-complexed polyglycerol-chitosan dendrimers. **Journal Biomaterial Science Polymer**, 1-19, 2006.

RAI, M. K. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. **Ciência e Cultura**. 65(3), 2013.

RÊGO, T. R. S. **Obtenção e desenvolvimento de biofilmes de PHB visando aplicação em tratamento de queimaduras**. 2020. 69p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN, 2020.

RIBEIRO, C.A. **Síntese e caracterização de hidrogéis de poli (n-isopropilacrilamida) contendo sulfato de condroitina e nanopartículas de prata para aplicações biomédicas**. 2016. 192p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Itajubá, Itajubá/MG, 2016.

RICCIARDI, R., AURIEMMA, F., DE ROSA, C., & LAUPRÊTRE, F. X-ray Diffraction Analysis of Poly (vinyl alcohol) Hydrogels Obtained by Freezing and Thawing Techniques. **Macromolecules**, 37(5), 1921-1927, 2004.

RIND, F. M. A., MEMOM, A. H., ALMANI, F., LAGHARI, M. G. H., MUGHAL, U. R., MAHESHWARI, M. L., & KHUHUWAR, M. Y. Spectrophotometric Determination of Cinnamaldehyde from Crude Drugs and Herbal Preparations. **Asian Journal of Chemistry**, 23(2), 631-635, 2011.

ROCHA, N. M. et al. Atendimento inicial às vítimas de queimaduras: uma revisão integrativa. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde -UNIT-ALAGOAS**, 6(1), 11, 2020.

RYNKOWSKA, E., et al. Chemically and Thermally Crosslinked PVA-Based Membranes: Effect on Swelling and Transport Behavior, **Polymers**, 11, 1799, 2019.

SALAZAR-SALINAS, K., BALDERA-AGUAYO, P. A., ENCOMENDERO-RISCO, J. J., ORIHUELA, M., SHEEN, P., SEMINARIO, J. M., & ZIMIC, M. Metal-Ion Effects on the Polarization of Metal-Bound Water and Infrared Vibrational Modes of the Coordinated Metal Center of Mycobacterium tuberculosis Pyrazinamidase via Quantum Mechanical Calculations. **The Journal of Physical Chemistry B**, 118(34), 10065–10075, 2014.

SANTOS, P. C. **Nanopartículas: toxicidade biológica**. 2015. 55p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, 2015.

SATHISHKUMAR, M., SNEHA, K., WON, S. W., CHO, C.-W., KIM, S., & YUN, Y.-S. Cinnamon verum bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 73(2), 332–338, 2009.

SHARMA, V. K. et al. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances in Colloid and Interface Science**. 145, 83-96, 2009.

SIEPMANN, J., et al. Mathematical modeling of drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, 364(2), 328–343, 2008.

SIEPMANN, J., et al. Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse. **International Journal of Pharmaceutics**, 418(1), 6-12, 2011.

SILVA, A. M. R., et al. Comparison of Ultrasound-assisted Extraction and Dynamic Maceration Over Content of Tagitinin C obtained from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray Leaves Using Factorial Design. **Pharmacognosy Magazine**, 13(50), 270–274, 2017.

SILVA, V. H. C. **Descrição Alternativa do Comportamento Não-Arrhenius da Constante Cinética em Sistemas Químicos**. 2013. 136p. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília/DF, 2013.

SINGH, G., MAURYA, S., LAMPASONA, M.P., & CATALAN, C.A.N. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. **Food and Chemical Toxicology**, 45(9), 1650–1661, 2007.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**, 8ª Ed., Thomson, São Paulo, 2006.

SOARES, T. S. C. **Efeito de nanopartículas de prata em neutrófilos humanos**. 2014. 75p. Tese (Doutorado). Universidade do Porto, Porto (Portugal), 2014.

SOUSA, Y. S., SANTOS, L. A., ANDRADE, B. G., ARAÚJO, A. H. I. M., Assistência de enfermagem à vítima de queimaduras: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Enfermagem**, 12, 2021.

SMITH, B.C. **Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy**, 2º Ed., CRC Press, 2011.

TRIPATHI, D. K., TRIPATHI, A., SHWETA, Uptake, Accumulation and Toxicity of Silver Nanoparticle in Autotrophic Plants, and Heterotrophic Microbes: A Concentric Review. **Front. Microbiol.** 8, 2017.

VANIN, L. P. **Obtenção e caracterização de embalagens antimicrobianas contendo nanopartículas de prata obtidas por síntese verde empregando extrato aquoso de macela (*Achyrocline satureioides*)**. 2021. 42p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão - PR, 2021.

WU, C., ZHOU, X., & WEI, J. Localized Surface Plasmon Resonance of Silver Nanotriangles Synthesized by a Versatile Solution Reaction. **Nanoscale Research Letters**, 10(1), 354, 2015.

ZEBALLOS, SABRINA F. **Aplicação de curativos hidrogel em lesões de pele de recém-nascidos e lactentes internados em unidade neonatal**. 2022. 68p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2022.