



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 1101028-2 A2



(22) Data de Depósito: 14/03/2011
(43) Data da Publicação: 28/01/2014
(RPI 2247)

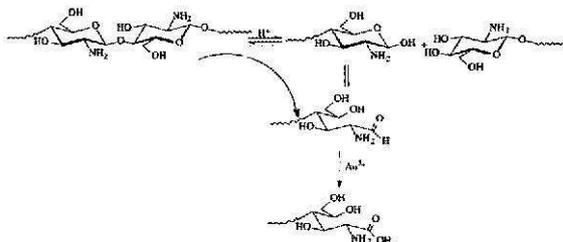
(51) *Int.Cl.:*
A61K 33/38
A61K 47/36
A61L 15/16

(54) **Título:** PROCESSO DE SÍNTESE E INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM MATRIZES POLIMÉRICAS HIDROFÍLICAS E USO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

(73) **Titular(es):** FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO - FAPESP, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP

(72) **Inventor(es):** ELIAS ANTONIO BERNI NETO, VALTENCIR ZUCOLOTTO

(57) **Resumo:** PROCESSO DE SÍNTESE E INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM MATRIZES POLIMÉRICAS HIDROFÍLICAS E USO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA O presente pedido de patente se refere a um novo processo de síntese de um complexo nanoestruturado de nanopartículas de prata (NpAg) e quitosana (NpAg:QS) e a posterior incorporação do mesmo em matrizes poliméricas hidrofílicas. Os nanocomplexos são obtidos em uma única etapa por meio da redução de seus íons em solução aquosa pela ação em conjunto do ácido cítrico e quitosana (QS). Com esta nova rota de síntese utilizando dois redutores em conjunto, é possível inibir a degradação da QS durante a síntese, reduzir o tempo de síntese, bem como obter NpAg com uma distribuição e tamanhos menores com o uso de redutores brandos ao meio ambiente. Após a síntese é obtido o nanocompósito em pó, NpAg:QS. Este pó pode ser redissolvido em uma solução aquosa ácida juntamente com um polímero hidrofílico, como o polivinil álcool (PVA). Como produto final obtém-se um filme plástico com propriedades bactericidas, devido tanto à ação das NpAg como da QS.



PROCESSO DE SÍNTESE E INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM MATRIZES POLIMÉRICAS HIDROFÍLICAS E USO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

CAMPO DA INVENÇÃO

5 A presente invenção se refere em geral a processos de síntese de nanocompósitos de nanopartículas de prata e, mais especificamente, a um processo de síntese de um nanocompósito de nanopartículas de prata (NpAg) e quitosana (NpAg:QS) e posterior incorporação do mesmo em matrizes poliméricas hidrofílicas.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

10 O uso da prata como agente bactericida remonta a antiguidade. Povos como egípcios, gregos, romanos entre outros utilizavam utensílios deste metal para armazenarem seus alimentos, motivados pela sua ação bactericida, a qual mantinha os alimentos conservados por mais tempo. Os colóides de prata, soluções com íons e partículas de 10^{-9} a 10^{-6} m em suspensão, foram muito utilizados durante os anos de 15 1910 e 1920, sucesso do livro sobre tal tema de Alfred B. Searle. O uso dos colóides de prata estava intimamente ligado à área médica; exemplos de medicamentos são *Lunar Caustic*, ministrado a pacientes com distúrbios nervosos, *Silver Arsphenine* para sífilis, e o uso de um produto conhecido como *Colloidal Silver Protein* (CSP) no combate a resfriados comuns (FUNG, M. C.; BOWEN, D. L. Silver products for medical indications: risk-benefit assessment. *Clinical Toxicology*, v. 34, n. 1, p. 119- 126, 1996).

Atualmente existem diversos produtos que contém NpAgs. Podemos citar entre eles o tecido Leggerissimo® da Santaconstancia Tecelagem, o sabonete Cyclic Nano Silver Cleanser, e até mesmo um novo tipo de preservativo o Nanometer-Silver Cryptomorphic Condom.

25 Outros metais na forma coloidal também foram estudados, resultando na escala de toxicidade contra microorganismos: Ag > Hg > Cu > Cd > Pb > Co > Au > Zn > Fe > Mn > Mo > Sn (GUGGENBICHLER, J. P.; BÖSWALD, M.; LUGAUER, S.; KRALL, T. A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection*, v. 27, Suppl. 1, 1999). O primeiro estudo do efeito oligodinâmico da prata foi realizado pelo suíço Karl Wilhelm Von Naegeli em 1893, sobre células eucariotas e procaríotas, com a prata na forma iônica (GUGGENBICHLER, J. P.; BÖSWALD, M.; LUGAUER, S.; KRALL, T. A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection*, v. 27, Suppl. 1, 1999. A ação bactericida da prata coloidal cobre uma ampla gama de 30 microorganismos, como bactérias Gram positivas/negativas (MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMIREZ, J. T.;

YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, v. 16, n. 10, p. 2346-2353, 2005), exemplificando: *E. coli* (BAKER, C.; PRADHAN, A.; PAKSTIS, L.; POCHAN, D. J.; SHAH, S. I. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v.5, n. 2, p. 244-249, 2005.);

5 *S. aureus* (GIBBS, R. J. *Silver colloids, do they work?* Disponível em <www.silver-colloids.com>. Acesso em: 12/05/2009; RHIM, J. W.; HONG, S. I.; PARK, H. M.; NG, P. K. W. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, n. 16, p. 5814-5822, 2006; DURAN, N.; MARCATO, P. D.; DE SOUZA, G. I. H.; ALVES, O. L.;

10 ESPOSITO, E. Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 3, n. 2, p. 203-208, 2007; *E. faecium* (GIBBS, R. J. *Silver colloids, do they work?* Disponível em <www.silver-colloids.com>. Acesso em: 12/05/2009.; *Tuberculosis* (GIBBS, R. J. *Silver colloids, do they work?* Disponível em <www.silver-colloids.com>. Acesso em:

15 12/05/2009); *S. pneumoniae* (GIBBS, R. J. *Silver colloids, do they work?* Disponível em <www.silver-colloids.com>. Acesso em: 12/05/2009) e *V. cholera* (MILLER, J. C.; SERRATO, R.; REPRESAS-CARDENAS, J. M.; KUNDAHL, G. *The Handbook of nanotechnology, business, policy, and intellectual property law*. New Jersey: John Wiley and Sons, 2005). Foi observada adicionalmente ação antiviral. Foi demonstrado pelo

20 grupo do pesquisador Wai-Yin Sun que 50 µM de NpAg são suficientes para coibir a replicação do vírus HIV-1. As NpAgs interagem com a albumina humana, contudo a atividade antiviral ainda foi mantida (SUN, R. W. Y.; CHEN, R.; CHUNG, N. P. Y.; HO, C. M.; LIN, C. L. S.; CHE, C. M. Silver nanoparticles fabricated in HEPES buffer exhibit cytoprotective activities toward HIV-1 infected cells. *The Royal Society of Chemistry*, p.

25 5059-5061, 2005). Entretanto, alguns organismos apresentam resistência contra a prata, estes são oriundos principalmente de minas de prata, como *C. freundii*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* e *K. pneumoniae* (HENDRY, A. T.; STEWART, I. O. Silver resistant *Enterobacteriaceae* from hospital patients. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 25, n. 8, p. 915-921, 1979). Devido à um mecanismo de complexação da prata por meio de

30 proteínas, estes organismos diminuem a toxicidade (GUGGENBICHLER, J. P.; BÖSWALD, M.; LUGAUER, S.; KRALL, T. A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection*, v. 27, Suppl. 1, 1999.) da prata, sendo capazes de sobreviver em um ambiente que contenha a

35 mesma. Alguns organismos podem até mesmo sintetizar NpAgs, tanto por ação enzimática (*P. fungi* (SADOWSKI, Z.; MALISZEWSKA, I. H.; GROCHOWALSKA, B.; POLOWCZYK, I.; KOŹLECKI, T. Synthesis of silver nanoparticles using microorganisms.

Materials Science-Poland, v. 26, n. 2, p. 421-424, 2008) como por redução extracelular (*F. oxysporum*), e outros podem até mesmo degradar as mesmas, como a bactéria *C. violaceum* (DURAN, N.; MARCATO, P. D.; DE SOUZA, G. I. H.; ALVES, O. L.; ESPOSITO, E. Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 3, n. 2, p. 203-208, 2007).

Faraday realizou a primeira síntese documentada de Nps metálicas (EDWARDS, P. P.; THOMAS, J. M. Gold in a metallic divided state-from faraday to present-day nanoscience. *Angewandte Chemie-International Edition*, v. 46, n. 29, p. 5480 - 5486, 2007). Para a síntese química de Nps metálicas são utilizados agentes redutores, como citrato de sódio, borohidreto de sódio, hidrazinas, formaldeídos, hidroxilaminas, álcoois saturados e insaturados e açúcares. Geralmente muitos desses redutores são maléficos ao ambiente, como borohidreto de sódio, formaldeídos e etc. Por meio do controle de parâmetros da síntese como pH e força iônica do meio reacional, temperatura, concentração do sal precursor, concentração do agente redutor, tipo de estabilizante e sua concentração pode-se alcançar um maior controle da morfologia final das Nps. Muitos processos tradicionais de estabilização geralmente fazem uso de solventes orgânicos como meio reacional. Este tipo de solvente tem a desvantagem de ser tóxico, em alguns casos, além de não ser amigável ao meio ambiente.

Na busca por uma menor dispersão da morfologia, novas estruturas e/ou o uso de reagentes e rotas mais amigáveis ao meio ambiente tem sido sugeridas e efetuadas (PYATENKO, A.; SHIMOKAWA, K.; YAMAGUCHI, M.; NISHIMURA, O.; SUZUKI, M. Synthesis of silver nanoparticles by laser ablation in pure water. *Applied Physics A-Materials Science & Processing*, v. 79, n. 4-6, p. 803-806, 2004; RAVEENDRAN, P.; FU, J.; WALLEN, S. L. Completely "green" synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Journal of the american chemical society*, v. 125, n. 46, p. 13940-13941, 2003; SUN, L.; ZHANG, Z.; DANG. H. A novel method for preparation of silver nanoparticles. *Materials Letters*, v. 57, n. 24-25, p. 3874-3879, 2003). Especificamente no caso das NpAg's inúmeros precursores foram utilizados como iodeto de prata (AgI) (SUN, L.; ZHANG, Z.; DANG. H. A novel method for preparation of silver nanoparticles. *Materials Letters*, v. 57, n. 24-25, p. 3874-3879, 2003), perclorato de prata (AgClO₄), tetrafluorborato de prata (AgBF₄), hexafluorofosfato de prata (AgPF₆) e nitrato de prata (AgNO₃) (BARSOTTI JR., R. J.; O'CONNELL, M. S.; STELLACCI, F. Morphology control in self-assembled monolayers written by dip pen nanolithography. *Langmuir*, v. 20, n. 12, p. 4795-4798, 2004). Na rota de síntese mais convencional e interessante é utilizada a água como meio reacional (CRESPILHO, F. N.; ZUCOLOTTO, V.; BRETT, C., M., A.; OLIVEIRA, O., N.; NART, F.,

C. Enhanced charge transport and incorporation of redox mediators in layer-by-layer films containing PAMAM-encapsulated gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, n. 35, p. 17478-17483, 2006; MERGA, G.; WILSON, R.; LYNN, G.; MILOSAVLJEVIC, B. H.; MEISEL, D. Redox catalysis on "naked" silver nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 111, n. 33, p. 12220-12226, 2007; FURLONG, D. N.; LAUNIKONIS, A.; SASSE, W. H. F.; SANDERS, J. V. Colloidal platinum sols - preparation, characterization and stability towards salt. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions*, v. 1, n. 80, p. 571-&, 1984, TURKEVICH, J.; KIM, G. Palladium: preparation and catalytic properties of particles of uniform size. *Science*, v. 169, n. 3948, p. 873-879, 1970), obtendo assim soluções contendo tanto NpAgs como seus íons (KEY, F. S.; MAASS, G. Ions, atoms and charged particles. Disponível em <www.silver-colloids.com>. Acesso em: 12/05/2009), com a presença ou não de algum estabilizante. Quando são utilizados estabilizantes obtêm-se os chamados nanocompósitos, os quais apresentam propriedades bactericidas (GUGGENBICHLER, J. P.; BÖSWALD, M.; LUGAUER, S.; KRALL, T. A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection*, v. 27, Suppl. 1, 1999; MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMIREZ, J. T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, v. 16, n. 10, p. 2346-2353, 2005; RHIM, J. W.; HONG, S. I.; PARK, H. M.; NG, P. K. W. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, n. 16, p. 5814-5822, 2006; SANPUI, P.; MURUGADOSS, A.; DURGA PRASAD, P.V.; GHOSH, S. S.; CHATTOPADHYAY, A. The antibacterial properties of a novel chitosan-Ag-nanoparticle composite. *International Journal of Food Microbiology*, v. 124, n. 2, p. 142-146, 2008). A pesquisa em nanocompósitos bactericidas se baseia principalmente no uso de uma matriz polimérica e NpAg.

Adicionalmente, como muitos desses nanocompósitos bactericidas são desenvolvidos para aplicações em utensílios de contato, como embalagens de alimentos, cateter urinários (GUGGENBICHLER, J. P.; BÖSWALD, M.; LUGAUER, S.; KRALL, T. A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection*, v. 27, Suppl. 1, 1999), tecidos (TWU, Y. K.; CHEN, Y. W.; SHIH, C. M. Preparation of silver nanoparticles using chitosan suspensions. *Powder Technology*, v. 185, n. 3, p. 251-257, 2008), tintas (KUMAR, A.; VEMULA, P. K.; AJAYAN, P. M.; JOHN, G. Silver-nanoparticle-embedded antimicrobial paints based on vegetable oil. *Nature Materials*, v. 7, p. 236-241, 2008), medicamentos (uso tópico), a troca de redutores cancerígenos como o borohidreto de sódio (NaBH₄), formaldeído sulfoxilato de

sódio ($\text{CH}_3\text{NaO}_3\text{S}$), que são muito reativos, por redutores mais brandos como açúcares, citrato, fotorredução entre outros (RAVEENDRAN, P.; FU, J.; WALLEN, S. L. Completely "green" synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Journal of the american chemical society*, v. 125, n. 46, p. 13940-13941, 2003; SUN, C.; QU, R.; CHEN, H.; JI, C.; WANG, C.; SUN, Y.; WANG, B. Degradation behavior of chitosan chains in the 'green' synthesis of gold nanoparticles. *Carbohydrate Research*, v. 343, n.15, p. 2595-2599, 2008) se faz cada vez mais necessária. Esta busca tem sido chamada de nanotecnologia "verde". Assim, tanto a literatura patentária bem como a científica revelam vários exemplos de sistemas de NpAgs e QS, dos quais destacamos os mais relevantes.

Uma busca detalhada no banco de patentes revela que o documento (WO2006/083092) realiza a síntese das NpAgs por meio da técnica eletroquímica, após obter as NpAgs as mesmas são adicionadas/misturadas a materiais em pó de silico aluminato de sódio, amido, fosfato de cálcio e quitosana. Sendo necessário duas etapas distintas (redução dos íons de prata para NpAgs e posterior mistura das mesmas nos respectivos surfactantes), diferente da presente invenção na qual a reação ocorre em somente uma etapa.

O documento (WO2008/075222) relata a preparação de um filme de QS/NpAgs, contudo neste trabalho não foi realizado nenhuma síntese das NpAgs, as mesmas foram obtidas da empresa Novacentrix (Austin, TX). Assim diferentemente da presente invenção, não é tratado um método para se obter as NpAgs diretamente na matriz polimérica de QS.

O documento (EP1312262A1) relata a síntese de um nanocompósito de QS e NpAgs por meio da fotorredução dos íons de prata, em uma mistura de QS, íons de prata e cloreto de sódio são deixados durante 64 horas sobre a ação da luz ambiente. Diferente da reação apresentada aqui, na qual as AgNps são obtidas por meio de uma reação química em um tempo de poucos minutos.

Uma maneira alternativa para a síntese das NpAgs foi proposta por Poovathinthodiyil Raveendran, Jie Fu, e Scott L. Wallen (RAVEENDRAN, P.; FU, J.; WALLEN, S. L. Completely "green" synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *Journal of the american chemical society*, v. 125, n. 46, p. 13940-13941, 2003) que utilizaram um açúcar, o β -D-glucose como agente redutor. Como surfactante foi usado o amido e a reação necessita de uma temperatura de 40°C e um tempo de reação de 20 horas.

O trabalho de A Murugadoss e Arun Chattopadhyay (SANPUI, P.; MURUGADOSS, A.; DURGA PRASAD, P.V.; GHOSH, S. S.; CHATTOPADHYAY, A. The antibacterial properties of a novel chitosan-Ag-nanoparticle composite. *International*

Journal of Food Microbiology, v. 124, n. 2, p. 142-146, 2008) descreve a síntese de NpAgs utilizando a QS tanto como agente redutor como surfactante. A NpAgs obtidas apresentaram tamanhos em torno de 3 nm. O trabalho de Dongwei Wei e Weiping Qian (WEI, D.; QIAN., W. Facile synthesis of Ag and Au nanoparticles utilizing chitosan as a mediator agent. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 62, n. 1, p. 136-142, 2008) utilizou também a QS como agente redutor, sendo o tempo longo (6-12 horas) e temperaturas de 45-95°C. Contudo neste presente trabalho além do uso da QS como agente redutor também foi utilizado o ácido cítrico como redutor, assim o tempo de síntese foi reduzido em muito, de horas para poucos minutos.

No trabalho de Yawo-Kuo Twu, Yu-Wan Chen e Chao-Ming Shih (TWU, Y. K.; CHEN, Y. W.; SHIH, C. M. Preparation of silver nanoparticles using chitosan suspensions. *Powder Technology*, v. 185, n. 3, p. 251-257, 2008) a síntese das NpAgs foi alcançada pela mudança de pH da solução. Uma solução de AgNO_3 é misturada à uma solução básica (pH de 11 a 13) de QS. O trabalho de Pallab Sanpui, A. Murugadoss, P.V. Durga Prasad, Siddhartha Sankar Ghosh e Arun Chattopadhyay também utiliza uma solução básica para a síntese das NpAgs, nela 2 ml de 10 mM de AgNO_3 são adicionados em 50 ml de uma solução de QS 0,2 % (m/v) a 95°C e posteriormente 0,1 ml de 0,3 M NaOH.

OBJETO DA INVENÇÃO

É um objeto da presente invenção um processo de síntese e incorporação de nanopartículas de prata em matrizes poliméricas hidrofílicas compreendendo adicionar uma solução aquosa de citrato de sódio a um balão; aquecer a referida solução até o ponto de ebulição e, então, adicionar QS e AgNO_3 e manter o aquecimento por um tempo determinado; transferir a solução resultante para um agitador magnético até atingir a temperatura ambiente; filtrar a solução em um filtro para obter pó filtrado composto por NpAg e QS e armazenar a solução remanescente; secar o referido pó filtrado em estufa; dissolver o polímero hidrofílico em uma solução aquosa; preparar com o referido pó filtrado e a referida solução filtrada remanescente uma solução de ácido acético para a completa solubilização da QS; misturar alíquotas de ambas a solução filtrada remanescente e a solução de ácido acético em proporções determinadas; depois de misturadas as referidas alíquotas deixar a solução resultante em agitação; e deixar a solução resultante em estufa para a completa secagem.

Também é um objeto da presente invenção o uso de nanopartículas de prata em filmes para embalagens bactericidas.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A Figura 1 é um esquema da possível forma de degradação da QS presente em um sistema com íons de ouro e alta temperatura.

DESCRIÇÃO DETALHADA

Nas rotas de síntese que utilizam a QS como redutor são necessários meios levemente básicos ou básicos, e temperaturas relativamente altas, 60°C - 100°C (SANPUI, P.; MURUGADOSS, A.; DURGA PRASAD, P.V.; GHOSH, S. S.;

5 CHATTOPADHYAY, A. The antibacterial properties of a novel chitosan-Ag-nanoparticle composite. *International Journal of Food Microbiology*, v. 124, n. 2, p. 142-146, 2008; TWU, Y. K.; CHEN, Y. W.; SHIH, C. M. Preparation of silver nanoparticles using chitosan suspensions. *Powder Technology*, v. 185, n. 3, p. 251-257, 2008; MURUGADOSS, A.; CHATTOPADHYAY, A. A 'green' chitosan-silver nanoparticle composite as a

10 heterogeneous as well as micro-heterogeneous catalyst. *Nanotechnology*, v. 19, n. 1, p. 1-9, 2008; HUANG, H.; YANG, X. Synthesis of chitosan-stabilized gold nanoparticles in the absence/presence of tripolyphosphate. *Biomacromolecules*, v. 5, n. 6, p. 2340-2346, 2004), além de um grande tempo de síntese. Infelizmente altas concentrações de NaOH causam a degradação do biopolímero QS (WEI, D.; QIAN, W. Facile synthesis of Ag and

15 Au nanoparticles utilizing chitosan as a mediator agent. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 62, n. 1, p. 136-142, 2008). Estudos mostram que quando a QS sofre auto-hidrólise (em altas temperaturas) na presença de íons metálicos, ocorre a abertura irreversível de seu anel, fenômeno de degradação da mesma, tal fato ocorre pela

20 oxidação do grupo CHO em COOH, figura 1 (SUN, C.; QU, R.; CHEN, H.; JI, C.; WANG, C.; SUN, Y.; WANG, B. Degradation behavior of chitosan chains in the 'green' synthesis of gold nanoparticles. *Carbohydrate Research*, v. 343, n.15, p. 2595-2599, 2008).

As nanopartículas metálicas da presente invenção são obtidas em uma única etapa por meio da redução de seus íons em solução aquosa pela ação em conjunto do ácido cítrico e quitosana (QS).

25 Além de funcionarem como agentes redutores, o ácido cítrico e QS possuem a propriedade de estabilizantes. Após a síntese é obtido o nanocompósito em pó, NpAg:QS. Este pó pode ser re-dissolvido em uma solução aquosa ácida juntamente com um polímero hidrofílico, como o polivinil álcool (PVA). Como produto final obtêm-se um filme plástico com propriedades bactericidas, devido tanto a ação das NpAg como da QS.

30 Com esta nova rota de síntese utilizando dois redutores em conjunto, é possível inibir a degradação da QS durante a síntese, reduzir o tempo de síntese, bem como obter NpAg com uma distribuição e tamanhos menores com o uso de redutores brandos ao meio ambiente.

A rota de síntese proposta possibilita a manufatura de NpAgs com um melhor

35 controle de tamanho e distribuição, aumentando sua ação bactericida. Além da melhora de ação devido ao menor tamanho das NpAgs, há o aumento da ação bactericida devido

à presença de QS. Assim, o nanocompósito NpAg:QS mostra uma maior ação bactericida que seus componentes isolados, NpAg e QS. O nanocompósito da presente invenção pode ser utilizado em diversos segmentos com o intuito de inibir a proliferação de microorganismos. Exemplos de aplicações são filtros de ar condicionado, bandagens
5 especiais para queimaduras, tratamento de superfícies de tecidos, tanto para manufatura de roupas utilizadas em hospitais bem como artigos esportivos, evitando a proliferação de microorganismos.

Dessa forma, na presente invenção é sugerido o uso tanto da QS como do citrato de sódio como agentes redutores e estabilizantes, para assim acelerar o processo de
10 síntese e diminuir conseqüentemente a degradação do biopolímero QS.

A presente invenção pode ser dividida em duas etapas principais, a primeira referente a síntese das NpAg e a segunda a incorporação do nanocompósito na matriz polimérica hidrofílica e preparação dos filmes.

O aparato utilizado para a síntese das NpAg é constituído por um balão de três
15 bocas, conectado a um condensador a fim de evitar a evaporação da água, sobre um aquecedor magnético para efetuar a agitação e aquecimento.

Uma solução aquosa de citrato de sódio de $0,5 \text{ mg.mil}^{-1}$ à $1,0 \text{ mg.mil}^{-1}$ tem o seu
pH corrigido para 7 e é adicionada no balão. Tal solução é aquecida até o ponto de
ebulição, quando os demais reagentes, QS e AgNO_3 , são adicionados por uma das bocas
20 remanescentes. A relação entre QS e AgNO_3 pode variar de 10:4 a 15:4 em massa. Em alíquotas de 100 ml da solução aquosa de citrato de sódio são adicionados no máximo 300 mg da relação dos demais reagentes (QS: AgNO_3), sendo que cada reação foi efetuada com no máximo 300 ml de solução. Depois de iniciada a síntese, adição da
25 massa de QS: AgNO_3 , o aquecimento é interrompido após um tempo de 90 a 100 segundos. A solução resultante é transferida, então, para um agitador magnético até atingir a temperatura ambiente. Como o pH da solução é 7, a QS não está dissolvida, assim filtra-se a solução com um filtro Milipore de $0,45 \mu\text{m}$. O pó filtrado é composto por NpAg e QS, sendo o nanocompósito final, já a solução filtrada é armazenada para ser
30 utilizada posteriormente na incorporação o nanocompósito na matriz polimérica hidrofílica. O pó é seco em estufa a 60°C por 4 horas.

Para a incorporação do nanocompósito nas matrizes poliméricas, primeiramente é dissolvido o polímero em água. O polímero pode ser quitosana ou PVA. Com o pó e a
solução filtrada proveniente da síntese é preparada uma solução de 1 % de ácido acético para a completa solubilização da QS, e conseqüentemente do nanocompósito.
35 Posteriormente, alíquotas de ambas as soluções, solução filtrada remanescente e solução de 1% de ácido acético, são misturadas em proporções tais que a relação

polímero:nanocompósito em massa fique na faixa de 90:10 a 97,2:2,5. Depois de misturadas as alíquotas a solução resultante fica em agitação por cerca de 5 minutos, depois são acondicionadas em recipientes de tal forma que a altura do líquido atinja no máximo 3 mm. Os recipientes são então deixados em estufa a 40 °C por 3 dias, para a completa secagem.

A presença das NpAg foi comprovada por espectroscopia no UV-vis, além de difração de raio-X e microscopia eletrônica de varredura. O nanocompósito QS:NpAg foi testado contra o microorganismo *E. coli* por meio da técnica de Mínima Concentração Inibitória, sendo que em uma concentração de 20 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ do nanocompósito na relação de 4:1 (QS:NpAg) houve total inibição do crescimento da bactéria. O teste foi realizado em triplicata. Já nos filmes foi realizado o teste de halo de inibição, e teste mecânicos, para verificar se a incorporação das NpAg interferiria nas propriedades mecânicas do mesmo.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo de síntese e incorporação de nanopartículas de prata em matrizes poliméricas hidrofílicas, caracterizado por compreender:

adicionar uma solução aquosa de citrato de sódio a um balão;

5 aquecer a referida solução até o ponto de ebulição e, então, adicionar QS e AgNO_3 e manter o aquecimento por um tempo de 90 a 100 segundos;

transferir a solução resultante para um agitador magnético até atingir a temperatura ambiente;

10 filtrar a solução em um filtro para obter pó filtrado composto por NpAg e QS e armazenar a solução remanescente;

secar o referido pó filtrado em estufa a 60°C por 4 horas;

dissolver o polímero hidrofílico em uma solução aquosa;

preparar com o referido pó filtrado e a referida solução filtrada remanescente uma solução de 1% de ácido acético para a completa solubilização da QS;

15 misturar alíquotas de ambas a referida solução filtrada remanescente e a solução de 1% de ácido acético em proporções tais que a relação polímero:nanocompósito em massa fique na faixa de 90:10 a 97,2:2,5;

20 depois de misturadas as referidas alíquotas deixar a solução resultante em agitação por cerca de 5 minutos, de tal forma que a altura do líquido atinja no máximo 3 mm; e

deixar a solução resultante em estufa a 40°C por 3 dias para a completa secagem.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a solução aquosa de citrato de sódio estar em uma concentração de $0,5 \text{ mg.ml}^{-1}$ a $1,0 \text{ mg.ml}^{-1}$ e ter pH corrigido para 7.

25 3. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a relação entre QS e AgNO_3 poder variar de 10:4 a 15:4 em massa.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o polímero hidrofílico ser polivinil álcool (PVA).

30 5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o polímero hidrofílico ser quitosana.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o polímero hidrofílico ser polialilamina hidroclorada (PAH).

7. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o polímero hidrofílico ser dendrimro poliamidoamina (PAMAM).

35 8. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o polímero hidrofílico ser polivinil sulfônico (PVS).

9. Uso de nanopartículas de prata, do processo das reivindicações 1 a 8, caracterizado por ser em filmes para embalagens bactericidas.

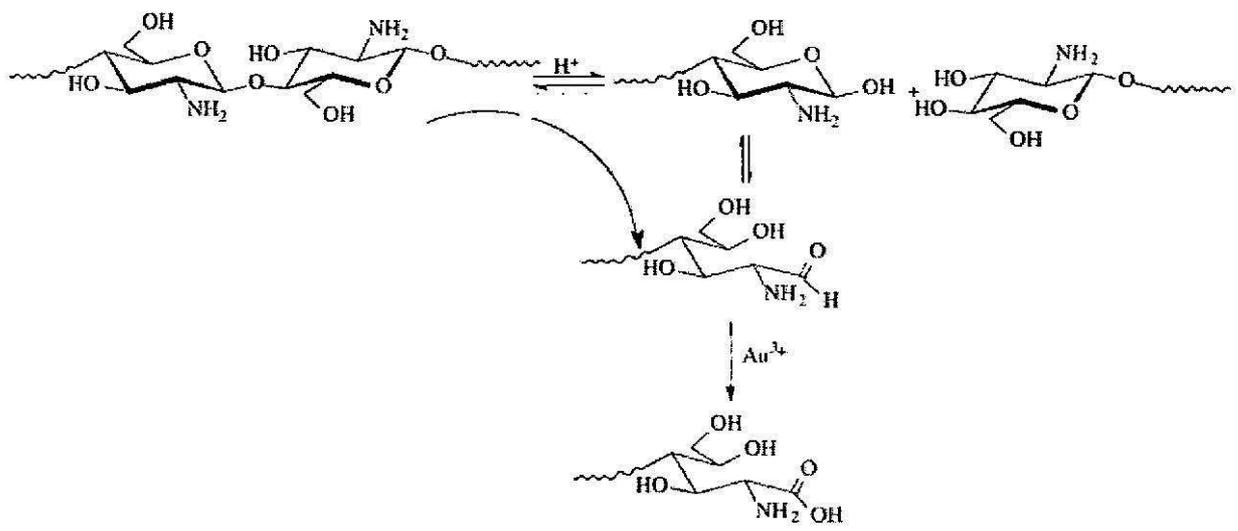


FIG. 1

RESUMO**PROCESSO DE SÍNTESE E INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM MATRIZES POLIMÉRICAS HIDROFÍLICAS E USO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

5 O presente pedido de patente se refere a um novo processo de síntese de um complexo nanoestruturado de nanopartículas de prata (NpAg) e quitosana (NpAg:QS) e a posterior incorporação do mesmo em matrizes poliméricas hidrofílicas. Os nanocomplexos são obtidos em uma única etapa por meio da redução de seus íons em solução aquosa pela ação em conjunto do ácido cítrico e quitosana (QS). Com esta nova
10 rota de síntese utilizando dois redutores em conjunto, é possível inibir a degradação da QS durante a síntese, reduzir o tempo de síntese, bem como obter NpAg com uma distribuição e tamanhos menores com o uso de redutores brandos ao meio ambiente. Após a síntese é obtido o nanocompósito em pó, NpAg:QS. Este pó pode ser redissolvido em uma solução aquosa ácida juntamente com um polímero hidrofílico, como o
15 polivinil álcool (PVA). Como produto final obtêm-se um filme plástico com propriedades bactericidas, devido tanto a ação das NpAg como da QS.