

---

## CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA INCORPORAÇÃO EM MATRIZ POLIMÉRICA PARA USO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS

---

Maria C. Siqueira, Márcia R. M. Aouada, Vera L. S. Castro, Humberto M. Brandão, Raquel R. Rech, José M. Marconcini, Luiz H. C. Mattoso

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP - mc.ufscar@gmail.com  
Laboratório Nacional de Nanotecnologia para Agricultura, Embrapa Instrumentação, São Carlos/SP  
Departamento de Física e Química, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira/SP  
Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança, Embrapa Meio Ambiente-CNPMA, Jaguariúna/SP  
Laboratório de Nanotecnologia para Produção Animal, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG  
Laboratório de Genética e Sanidade Animal, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia/SC

**Projeto Componente:** PC3    **Plano de Ação:** PA2

---

### Resumo

Nanopartículas de prata foram sintetizadas, caracterizadas e incorporadas em matriz polimérica (carboximetilcelulose) para avaliação da sua toxicidade na utilização em embalagens alimentícias. A síntese foi realizada através do método de redução química de prata com borohidreto de sódio. Tamanho das partículas, permeabilidade ao vapor de água e análises térmicas foram algumas das caracterizações realizadas. Avaliação da toxicidade dessas nanopartículas sugere, inicialmente, a degeneração celular relacionada a ingestão das mesmas, feita através de teste oral agudo com posterior análise histopatológica. Teste de genotoxicidade utilizando *Allium cepa* como organismo teste também será realizado.

**Palavras-chave:** Nanopartículas de prata, toxicidade, embalagens alimentícias

---

### Introdução

O revestimento de frutas e legumes tem chamado a atenção do seguimento de embalagens, principalmente como uma oportunidade promissora para a criação de novos mercados no setor. Como as embalagens convencionais levam milhares de anos para se degradarem, uma das soluções encontradas é o desenvolvimento de filmes e biofilmes a partir de materiais renováveis (Moura et al., 2012).

Estudos têm apontado o uso de polissacarídeos no desenvolvimento de filmes, entre eles os derivados de celulose, utilizados amplamente na indústria alimentícia devido a suas propriedades sensoriais neutras (Milani and Maleki, 2012). Um dos sistemas promissores para a melhoria das características desses filmes é a incorporação de nanoestruturas aos mesmos (Fortunati et al., 2012).

A prata é amplamente conhecida pelo seu efeito bactericida, sendo esta característica de suma importância, considerando o crescimento microbiano na superfície dos alimentos a causa

mais comum de sua deteriorização (Lkhagvajav et al., 2011).

Devido ao pequeno tamanho e grande área superficial dos nanomateriais, estes apresentam propriedades únicas comparadas com os mesmos materiais em escala maior (Guzmán et al., 2009). Desta forma, torna-se importante avaliar o impacto destes novos materiais desde o seu desenvolvimento até o consumidor final, visando direcionar melhor as pesquisas. Assim, é necessária uma avaliação do impacto potencial em organismos vivos, seja em modelos animais ou vegetais, decorrente do uso de nanomateriais projetados e produzidos para a cadeia de alimentos. Isto resulta na criação de uma área nomeada nanotoxicologia, que aborda os aspectos toxicológicos desses materiais.

Em modelo animal, testes toxicológicos com ratos Wistar têm sido os mais utilizados (Cunha et al., 2009).

Dentre os vegetais superiores, a espécie *Allium cepa* (cebola) constitui um dos materiais pioneiros nos estudos de alterações cromossômicas causadas pela ação de agentes químicos. *Allium cepa* tem sido indicada como

um eficiente organismo-teste de citotoxicidade e genotoxicidade, devido suas características na cinética de proliferação, disponibilidade o ano todo, fácil manuseio, crescimento rápido de suas raízes, grande número de células em divisão, alta tolerância a diferentes condições de cultivo e possuir cromossomos em número reduzido e de grande tamanho (Matsumoto et al., 2006)

No presente estudo, nanopartículas de prata foram sintetizadas e incorporadas a matriz polimérica (CMC) para caracterização e avaliação da sua toxicidade na formação de filmes utilizados como embalagens de alimentos.

## Materiais e métodos

Síntese das nanopartículas de prata: Sintetizadas pela redução do sal nitrato de prata com borohidreto de sódio, utilizando o PVA como estabilizante polimérico, com todos os reagentes sob agitação forte e controlada, em temperatura ambiente (Evanoff and Chumanov, 2005). Todos os reagentes Aldrich. À solução de nanopartículas adicionou-se CMC 1% (Denver Indústria Ltda), com posterior formação de filme pela técnica casting.

Caracterização das nanopartículas de prata:

Distribuição do tamanho das partículas: Técnica de espalhamento dinâmico de luz (ZetaSizer Nano-ZS laser light scattering particle size analyzer /Malvern Instruments, Malvern, Worcestershire, UK). As medidas foram realizadas em triplicata a 25°C.

Permeabilidade ao vapor de água: Determinada pela modificação do método ASTM E96-92 para determinar a umidade relativa do filme. Quatro filmes com quatro cm de diâmetro foram utilizados para cada tratamento e alocados em placas de Teflon, previamente preenchidas com água destilada (6 cm<sup>3</sup>). Os filmes foram fixados nas placas. Estas foram alocadas em temperatura e umidades controladas (25 °C e 0% RH). As placas foram pesadas periodicamente e utilizadas para cálculo da umidade relativa do filme e posterior WVP.

Análises térmicas: A estabilidade térmica dos filmes foi feita utilizando-se TGA Q-500 (TA Instruments, New Castle, Del., USA) com faixa de temperatura 25-600 °C, taxa de aquecimento 10 °C min<sup>-1</sup>. Fluxo de nitrogênio e ar sintético foi mantido 40 e 60 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>, respectivamente.

Teste de Toxicidade Oral Aguda: Esse teste seguiu diretrizes do Guia 407 da OECD (Organisation for Economic Co-operation and

Development). É um teste oral com doses repetidas durante 28 dias, onde são utilizados roedores Wistar, sendo 5 machos e 5 fêmeas para cada dose analisada.

## Resultados e discussão

O diâmetro médio das nanopartículas de prata foi 8,12 nm (Fig.1). O pequeno tamanho é resultado da vigorosa agitação. O diâmetro pode ser influenciado por outros fatores como: tipo de agente redutor, concentração dos reagentes, temperatura de reação e tipo de processo para obtenção das nanopartículas.

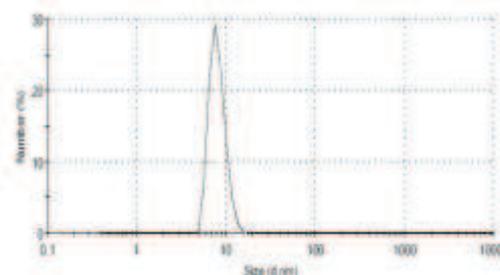


Fig.1: Distribuição do tamanho médio das partículas pela técnica de espalhamento dinâmico de luz.

Permeabilidade ao vapor de água dos filmes CMC 1% e CMC 1%/NPAg como avaliação de suas propriedades de barreira: os valores encontrados estão listados na Tab.1. Pode-se observar que a permeabilidade decresce quando nanopartículas de prata são incorporadas à matriz polimérica. Uma das causas desse decréscimo pode ser atribuída ao caminho mais tortuoso que a água precisa percorrer para permear pelo filme. Assim, os filmes de CMC incorporados com nanopartículas de prata apresentaram uma melhor barreira ao vapor de água, proporcionando uma menor troca de umidade entre o alimento e o meio, permitindo que a qualidade intrínseca do produto seja mantida por um tempo maior.

Tab.1: Valores médios de permeabilidade ao vapor de água e umidade relativa para os filmes.

Filmes	WVP (g.mm/KPa.h.m <sup>2</sup> )	RH (%)
CMC 1%	3.67 ± 0.32	44.62
CMC 1%/NPAg	2.89 ± 0.12	46.71

Análises térmicas para avaliação da estabilidade térmica: a temperatura de degradação do filme de CMC contendo nanopartículas de prata foi 272.1°C (Tab. 2). No filme de CMC puro a temperatura ficou um pouco abaixo (260.3°C). A adição de nanopartículas no filme modificou suas características térmicas, proporcionando maior estabilidade térmica a esses filmes.

Amostra	NPAg	CMC 1%	CMC 1%/NPAg
1ª perda massa (°C) / %	43.5/9.1	42.9/14.4	48.1/15.3
2ª perda massa (°C) / %	175.1/12.4	237.3/50.2	242.3/54.3
3ª perda massa (°C) / %	-	564.2/23.8	580.5/6.7
Resíduo (%)	78.5	28.7	6.6
TD (°C)	185.7	260.3	272.1

Teste de Toxicidade Oral Aguda: Testes iniciais sugerem a toxicidade das nanopartículas de prata, na concentração e tamanho estudados, indicando degeneração celular no fígado de ratos machos, na menor concentração estudada (1µg/mL), indicando o uso dessas nanopartículas somente na função de embalagem, sem ingestão como embalagem comestível.

## Conclusões

Até o presente momento pode-se concluir a melhoria das propriedades do filme de CMC incorporado com nanopartículas de prata para uso em embalagens de alimentos (termicamente melhores e o favorecimento das propriedades de barreira). Resultados dos testes de toxicidade sugeriram, inicialmente, degeneração celular no fígado de ratos machos causada pelas nanopartículas de prata. Teste de genotoxicidade será realizado a fim de acrescentar estudos sobre a toxicidade das mesmas.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes (disponibilização de bolsa) e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

## Referências

CUNHA, L.C.; AZEREDO, F.S.; SENA, A.A.S.; JUNIOR, R.S.L. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax.Rev. Bras. Farmacol. v.19, p.403-411, 2009.

EVANOFF, D.D.J.; CHUMANOV, G. Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays. *ChemPhysChem*, v.6, p.1221-1231, 2005.

FORTUNATI, E.; ARMENTANO, I.; ZHOU, Q.; IANNONI, A.; SAINO, E.; VISAI, L.; BERGLUND, L.A.; KENNY, J.M. Multifunctional bionanocomposite films of poly(lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, v.87, n.2, p.1596-1605,2012.

GUZMÁN, M.G.; DILLE, J.; GODET, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering*, v.2, p.3, 2009.

LKHAGVAJAV, N.; YASA, I.; CELIK, E.; KOIZHAIGANOVA, M.; SARIO, O. Antimicrobial activity of colloidal silver nanoparticles prepared by sol-gel method. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, v.6, n.1, p.149, 2011.

MATSUMOTO, S.T.; MANTOVANI, M.S.; MALAGUTTI, M.I.A.; MARIN-MORALES, M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *O. niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, v.29, p.148-158, 2006.

MILANI, J.; MALEKI, G. Food Industrial Processes – Methods and Equipment. 1th ed. InTech, 2012, 418p.

MOURA, M.R.; MATTOSO, L.H.C.; ZUCOLOTTO, V. Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. *Journal of Food Engineering*, v.109, n.3, p.520-524, 2012.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects. Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. Disponível em: [http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects\\_20745788](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788). Acesso em 10 out. 2012.