

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS  
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

ANA CLARA BARBETA VICENTE

**INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM FIBRAS  
ELETROFIADAS DE ZEÍNA E POLI(N-ISOPROPILACRILAMIDA) (PNIPAAm)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2019

ANA CLARA BARBETA VICENTE

**INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM FIBRAS  
ELETROFIADAS DE ZEÍNA E POLI(N-ISOPROPILACRILAMIDA) (PNIPAAm)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisângela Corradini

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Cava

LONDRINA

2019



## TERMO DE APROVAÇÃO

Ana Clara Barbeta Vicente

### **Incorporação de nanopartículas de prata em fibras eletrofiadas de zeína e poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado no dia 14 de novembro de 2019 como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Délia do Carmo Vieira  
(UTFPR – Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais)

---

Prof. Dr. Edvani Curti Muniz  
(UTFPR – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Elisângela Corradini  
(UTFPR – Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sílvia Midori Higa  
(UTFPR – Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais)  
Coordenadora do Curso de Engenharia de Materiais

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Claudia e Alexandre, por todo o amor, todo o carinho e todo o incentivo dados durante meus vinte e três anos. Em especial, pelo apoio dado durante estes anos de graduação, fundamental para que eu chegasse até aqui. Destaco, ainda, o exemplo de mulher pesquisadora e a inspiração que minha mãe sempre foi para mim. Também deixo meu muito obrigada à minha família, meus tios, primos e avós, que acreditaram em mim e me motivaram.

À minha orientadora e professora, Dr<sup>a</sup>. Elisângela Corradini, explico minha gratidão pelos cinco anos de ensinamentos e crescimento não apenas profissional e acadêmico, mas também pessoal. Da mesma forma, agradeço ao meu co-orientador, prof. Dr. Carlos Eduardo Cava, por ser exemplo de professor, pela compreensão e pelos ensinamentos transmitidos.

Agradeço à minha banca avaliadora – prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Délia do Carmo Vieira e prof. Dr. Edvani Curti Muniz – por aceitarem participar não apenas da avaliação do trabalho aqui desenvolvido, mas por contribuírem com meu crescimento acadêmico e com pontuações pertinentes para minha contínua melhora na pesquisa científica.

Aos professores do DAEMA, minha gratidão por auxiliarem em minha formação acadêmica, por me ajudarem a desenvolver um melhor entendimento de engenharia e a descobrir o “pensar como engenheiro”. Também por serem exemplos de profissionais e docentes em minha vida.

Agradeço aos laboratórios de Bacteriologia Básica e Aplicada, de Espectroscopia e de Microscopia Eletrônica, da UEL, pela contribuição direta no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colegas do laboratório L008, agradeço pelos conhecimentos trocados, pelas conversas e experiências nas horas de pesquisa compartilhadas.

Ao meu supervisor de estágio, Filippe, deixo explícitas minhas gratidão e admiração. Agradeço por todos os dias de ensinamentos, pela compreensão, pela parceria, por me mostrar a conduta de um bom profissional e por me guiar em minha primeira experiência como tal.

Agradeço aos meus amigos, Laura, Letícia, Gabriel e Júlio, por acompanharem meu desenvolvimento e por acreditarem em mim a todo momento.

Agradeço também por todo o apoio, por me ouvirem falar sobre o trabalho desenvolvido, por me ajudarem e por torcerem sempre por meu sucesso.

Meu muito obrigada a meu colega de estudos, de centro acadêmico, de estágio e meu amigo, Felipe Laraz, por estes anos de parceria e sincera amizade, pela oportunidade de crescimento profissional no DAEMA, pela presença em muitas de minhas vitórias – acadêmicas e pessoais – e por permitir que eu também estivesse presente em muitas de suas vitórias. O conhecimento compartilhado e o carinho existente, tornando melhor e mais leve o ambiente de trabalho, foram fundamentais para minha motivação e conclusão do curso.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho ou estiveram presentes em minha vida, mas não se encontram aqui citados.

“Science is not a boy’s game, it’s not a girl’s game. It’s everyone’s game. It’s about where we are and where we’re going”. (Nichelle Nichols)

## RESUMO

VICENTE, A. C. B. **Incorporação de nanopartículas de prata em fibras eletrofiadas de zeína e poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm)**. 2019. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2019.

Biomateriais são considerados materiais não vivos que podem ser aplicados em organismos vivos sem que causem reações adversas. A zeína e o poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm), na forma de blendas obtidas por eletrofiação, destacam-se entre os materiais poliméricos com esse fim. A zeína é uma proteína do milho, sendo biocompatível e também biodegradável. O PNIPAAm também apresenta biocompatibilidade, além de termossensibilidade. Nanopartículas de prata apresentam propriedade antimicrobiana, promovendo maior eficácia nas fibras eletrofiadas quanto à sua aplicação como biomaterial e evitando o crescimento de bactérias no meio em que são aplicadas. Visto isso, o presente trabalho estudou a influência de nanopartículas de prata em fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm. O comportamento térmico das fibras foi estudado por TGA, a morfologia e o diâmetro, por microscopia eletrônica de varredura. Antibiógramas foram utilizados para avaliar a atividade antimicrobiana das fibras contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Ainda, o teor de nanopartículas de prata foi determinado por espectroscopia UV-VIS. Constatou-se que o diâmetro médio das fibras diminuiu consideravelmente com o aumento do teor de nanopartículas no meio, enquanto a atividade antimicrobiana aumenta. Não houve alterações na estabilidade térmica das fibras.

**Palavras-chave:** biomateriais, zeína, PNIPAAm, eletrofiação, nanopartículas de prata.

## ABSTRACT

VICENTE, A. C. B. **Incorporation of silver nanoparticles in zein and poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) electrospun fibers.** 2019. 49 f. Monograph (Undergraduate in Materials Engineering). Academic Department of Materials Engineering, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2019.

Biomaterials are non-living materials that can be applied to a living organism without causing any diverse reaction. Zein and poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm), in form of electrospun blends, stand out among polymeric materials with this purpose. Zein is a corn protein, biocompatible and also biodegradable. PNIPAAm also features biocompatibility, besides termosensibility. Silver nanoparticles have antimicrobial activity, promoting greater effectiveness in electrospun fibers in their application as biomaterial and avoiding bacterial growth in the environment in which they are applied. Considering this, the present study evaluated the influence of silver nanoparticles in zein and PNIPAAm electrospun fibers. The fibers thermic behaviour was studied through TGA analysis. The morphology and the average diameter were evaluated through scanning electron microscopy. Antibiograms were used to study fibers antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The nanoparticles quantity was determined by UV-VIS spectroscopy. It was found that the fibers average diameter decreases considerably with increasing content of nanoparticles in the environment, while the antimicrobial activity increases. There were no alterations in fibers thermal stability.

**Key-words:** biomaterials, zein, PNIPAAm, electrospinning, silver nanoparticles.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química (a) do NIPAAm e (b) do PNIPAAm.....	19
Figura 2 - Fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm obtidas em concentração de 22,5% e taxa de 0,5 mL/h.....	21
Figura 3 – Representação de um equipamento para a técnica de eletrofiação horizontal.....	22
Figura 4 - Fluxograma de métodos e análises realizados no desenvolvimento do trabalho .....	25
Figura 5 - Valores de viscosidades reduzida e inerente em função da concentração .....	31
Figura 6 - Espectro de infravermelho com transformada de Fourier para o PNIPAAm sintetizado .....	33
Figura 7 - Espectro de UV-VIS da suspensão aquosa de nanopartículas de prata...34	
Figura 8 - Curva TGA indicando o comportamento térmico da suspensão de 6 nanopartículas de prata até 700°C.....	35
Figura 9 - (a) Espectros de UV-VIS das suspensões utilizadas para as fibras NP1, NP2 e NP3; (b) Aumento dos espectros de UV-VIS na região de 250 nm a 500 nm.....	36
Figura 10 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura das fibras eletrofiadas a) NP0; b) NP1; c) NP2; d) NP3 .....	38
Figura 11- Curvas TGA obtidas para as fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm .....	39
Figura 12 - Resultados de antibiograma (a) sem formação de halo de inibição e (b) com formação de halo de inibição, indicado pela seta vermelha .....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tempos de escoamento medidos no ensaio de viscosimetria e viscosidades relativa, específica, reduzida e inerente calculadas .....	31
Tabela 2 - Concentrações de nanopartículas de prata e massa de nanopartículas por grama de polímero em cada condição de fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm .	37
Tabela 3 - Diâmetros médios para as condições de eletrofição das fibras de zeína e PNIPAAm com diferentes teores de AgNPs.....	38
Tabela 4 - Temperaturas de início de degradação e perda de massa das fibras eletrofiadas.....	39

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Definições os tipos de viscosidade utilizadas.....	30
Quadro 2 - Verificação de halo de inibição em ambiente com diferentes microrganismos.....	41

## LISTA DE SIGLAS

AgNPs – nanopartículas de prata

ATCC – *American Type Culture Collection*

DAEMA – Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais

DMF – N,N-dimetilformamida

FTIR – espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

LCST – *Lower Critical Solution Temperature*

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

NCCLS – *National Committee for Clinical Laboratory Standards*

NIPAAm – N-isopropilacrilamida

PAN – poli(acrilonitrila)

PCL – poli( $\epsilon$ -caprolactona)

PNIPAAm – poli(N-isopropilacrilamida)

PVP – poli(vinil pirrolidona)

TEMED - tetrametilenodiamina

T<sub>g</sub> – temperatura de transição vítrea

TGA - termogravimetria

UEL – Universidade Estadual de Londrina

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

UV-VIS – espectroscopia de ultravioleta-visível

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
1.1 Objetivo .....	14
1.2 Objetivos específicos.....	14
1.3 Justificativa.....	14
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
2.1 Biomateriais .....	16
2.2 Zeína .....	17
2.3 Poli(N-isopropilacrilamida).....	18
2.4 Blendas .....	19
2.5 Eletrofição .....	21
2.6 Nanopartículas de prata (AgNPs) .....	22
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
3.1 Materiais.....	25
3.2 Métodos.....	25
3.2.1 Síntese e caracterização do PNIPAAm .....	26
3.2.2 Síntese e caracterização das nanopartículas de prata.....	27
3.2.3 Preparação da suspensão e obtenção das nanofibras .....	27
3.2.4 Caracterização das fibras e testes biológicos .....	28
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>30</b>
4.1 Caracterização do PNIPAAm.....	30
4.2 Caracterização das nanopartículas de prata .....	34
4.3 Caracterização das nanofibras .....	36
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os biomateriais são definidos como materiais utilizados em dispositivos médicos para desempenhar alguma função no sistema fisiológico. Dentre as características que essa classe de materiais precisa apresentar, está a biocompatibilidade, que é a capacidade do material de ser aplicado nos organismos vivos sem neles provocar reações adversas (MOURA, 2005).

Um método para o desenvolvimento de biomateriais na forma de fibras é denominado eletrofiação e se define como uma técnica eletrostática capaz de formar nanofibras a partir de uma solução polimérica. Esse processamento apresenta baixo custo e equipamento de fácil operação, tornando-se uma alternativa viável para a obtenção de novos materiais aplicados à biomedicina (COSTA et al., 2012a). Diversos polímeros, de origem natural ou sintética, têm mostrado grande potencial para serem utilizados como biomateriais na forma de fibras, entre eles, a zeína e o poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm).

A zeína é um polímero natural e biodegradável, proteína do milho (CORRADINI, 2004). O PNIPAAm, por sua vez, é um polímero sintético, também biocompatível, obtido a partir do monômero N-isopropilacrilamida (ELLIOTT, 2011). A junção desses dois polímeros em uma blenda para aplicação biomédica é uma opção promissora, uma vez que a zeína possui, em sua estrutura, aminoácidos semelhantes aos grupos encontrados no meio celular (CORRADINI et al., 2014). Além disso, o PNIPAAm apresenta a propriedade de termossensibilidade, alterando seu comportamento de hidrofiliabilidade em temperaturas próximas à do corpo humano (ELLIOTT, 2011).

A possibilidade da junção da zeína e do PNIPAAm em blendas na forma de fibras eletrofiadas foi estudada por Vicente et al. (2019). Os autores averiguaram a influência do fluxo e da concentração da solução no diâmetro das fibras e no rendimento do processo. Além disso, foram estudados a citotoxicidade das fibras e o comportamento de termossensibilidade do PNIPAAm quando inserido na blenda. Resultados da pesquisa indicam que as fibras desenvolvidas apresentam potencial para a aplicação no campo biomédico (VICENTE et al., 2019).

A inserção de nanopartículas de prata (AgNPs) às fibras eletrofiadas também confere proteção antimicrobiana à estrutura, aumentando sua eficácia na regeneração de tecidos sem maiores complicações (HASSAN et al., 2018).

No presente trabalho, foram incorporadas nanopartículas de prata em fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm a fim de avaliar o efeito das nanopartículas na morfologia e no diâmetro das fibras, bem como em sua ação antimicrobiana.

### **1.1 Objetivo**

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver nanofibras de zeína e poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) contendo nanopartículas de prata a partir de eletrofiação em solução.

### **1.2 Objetivos específicos**

Os objetivos específicos do trabalho foram:

- Sintetizar o PNIPAAm a partir de seu monômero, N-isopropilacrilamida;
- Caracterizar o PNIPAAm por meio de viscosimetria e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier;
- Sintetizar nanopartículas de prata (AgNPs);
- Caracterizar as AgNPs por meio de espectroscopia ultravioleta-visível (UV-VIS) e termogravimetria (TGA);
- Obter nanofibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm com nanopartículas de prata;
- Avaliar a atividade antimicrobiana das fibras eletrofiadas e a influência da inserção de nanopartículas de prata ao sistema;
- Determinar a morfologia e o diâmetro médio das fibras e avaliar sua estabilidade térmica.

### **1.3 Justificativa**

O estudo e o desenvolvimento de biomateriais são um campo emergente que desperta o interesse da comunidade científica. A produção dessa classe de materiais é de suma importância para a contribuição nas áreas médica, biomédica e farmacêutica, promovendo saúde e melhor qualidade de vida às pessoas que

necessitam deles. Ainda, nanofibras poliméricas apresentam aplicação potencial como biomateriais, uma vez que possuem alta razão de aspecto e podem ser facilmente obtidas por meio da eletrofiação. A inserção de nanopartículas de prata é promissora para a otimização dos efeitos de biocompatibilidade e para ação de atividade antimicrobiana no ambiente fisiológico.

Estudos anteriores visaram ao desenvolvimento da blenda de zeína e PNIPAAm na forma de nanofibras eletrofiadas, constatando-se a eficácia do material e sua possível aplicação, por meio de testes de citotoxicidade, no ambiente fisiológico, além de relacionar a influência dos fatores de eletrofiação ao diâmetro da fibra e ao rendimento do processo. Dessa forma, o presente trabalho tem por justificativa a busca de um biomaterial polimérico com alta eficácia de aplicação como substrato para crescimento de tecido ou como material para liberação controlada de fármaco. Nesse sentido, foi feito uso da inserção de nanopartículas de prata, procurando alcançar melhores propriedades antimicrobianas das mantas nanofibrílicas de zeína e PNIPAAm. O estudo, assim, deve contribuir com a comunidade científica no que tange a estudos de biomateriais poliméricos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Biomateriais

Define-se biomaterial todo material não vivo utilizado em dispositivo biomédico com o objetivo de interagir com o sistema biológico (MOURA, 2005). Nessa classe de materiais, a instigação mais notável é a interação do tecido vivo com o material aplicado, pois essa classe é fortemente dependente do material e pode ser classificada em: bioinerte, biotolerável e bioativa (PEREIRA; VASCONCELOS; ORÉFICE, 1999; SALLES, 2013). É dito que um material bioinerte não produz uma resposta no sistema em que é inserido. O material biotolerável é aquele que, uma vez no organismo, induz uma resposta mínima aceita pelo sistema imunológico. Por fim, o material é classificado como bioativo quando permite uma resposta biológica específica na interface com o tecido vivo, possibilitando a formação de uma ligação entre o tecido fisiológico e o material (RIGO et al., 1999). Ainda, para a eficiência da aplicação desses materiais no organismo vivo, deve-se levar em conta algumas propriedades que precisam estar presentes. Segundo Moura (2005), as características fundamentais envolvem biocompatibilidade, estabilidade química e mecânica, além de o material não ser tóxico ou cancerígeno e possuir características adequadas ao seu local de aplicação. O material, ainda, deve ser biofuncional, maximizando a eficiência do desempenho da função à qual foi destinado.

Dentre essas características, destaca-se a biocompatibilidade, uma vez que a biofuncionalidade só existirá se o material for, primeiramente, biocompatível. Considera-se um material como biocompatível se não causar reações adversas no organismo em que é inserido (MOURA, 2005). Além disso, a biocompatibilidade torna o material capaz de induzir em seu hospedeiro uma resposta apropriada a determinado dispositivo (SALLES, 2013). Em determinadas aplicações, como em substratos para crescimento de tecido ou liberação controlada de fármacos, ainda é desejável que o material seja biodegradável, pois assim será degradado pelo próprio organismo, descartando a necessidade de uma posterior retirada (MOURA, 2005).

Dentro da classe dos biomateriais, os polímeros – tanto naturais quanto sintéticos – destacam-se como potenciais candidatos, sendo amplamente utilizados na área biomédica (SALLES, 2013). Dois polímeros amplamente estudados com o fim

de aplicações como biomateriais são o poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) e a zeína (COLI, 2013; CORRADINI et al., 2014; VICENTE et al., 2019).

## 2.2 Zeína

As proteínas do grão de milho compreendem cerca de 10% de sua massa seca. Dentre elas, a zeína está presente em maior quantidade, representando cerca de 80% de todas as proteínas do grão (CORRADINI, 2004; PALIWAL; PALAKURTHI, 2014). Essa proteína pertence ao grupo das prolaminas, caracterizadas por serem insolúveis em água, mas solúveis em álcool 70% (SHUKLA; CHERYAN, 2001; TORRES, 2015). Além disso, é constituída por 17 aminoácidos, sendo 64% deles de caráter apolar, como a leucina, a prolina e a fenilalanina (CORRADINI, 2004; TORRES, 2015). Dos aminoácidos de caráter polar, destaca-se a glutamina (TORRES, 2015).

A zeína pode ser classificada em diferentes frações, de acordo com sua solubilidade: zeína- $\alpha$ , zeína- $\beta$ , zeína- $\gamma$  e zeína- $\delta$  (PALIWAL; PALAKURTHI, 2014). Entre essas frações, a zeína- $\alpha$  é a obtida em maior quantidade (LAWTON, 2002). Por ser derivada do grão de milho, é considerada um polímero natural, além de biodegradável e biocompatível. Esse polímero é apresentado como um pó amarelo (CORRADINI et al., 2014), amorfo, com massa molecular em torno de 40 kDa e apresenta temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) em torno de 165°C (CORRADINI, 2004; PALIWAL; PALAKURTHI, 2014). Também é de interesse seu uso na engenharia têxtil, como substrato para crescimento de tecidos, e na área farmacêutica, como suporte de biomoléculas carregadas (PALIWAL; PALAKURTHI, 2014).

As primeiras aplicações da zeína envolviam a produção de vernizes (CORRADINI, 2004). Hoje, é utilizada na liberação controlada de fármacos (PALIWAL; PALAKURTHI, 2014), devido ao fato de ela ser insolúvel no meio fisiológico (CORRADINI et al., 2014). Ao juntar-se com outros polímeros, a zeína pode ser usada na fabricação de substratos porosos para promover o crescimento de tecido ósseo. (CORRADINI et al., 2014). Devido à sua biodegradabilidade, ainda, há interesse no uso dessa proteína como alternativa aos polímeros sintéticos, derivados do petróleo (CORRADINI, 2004). A utilização da zeína como biomaterial se dá por conta da propriedade de biocompatibilidade do polímero e pela semelhança de suas estruturas

com os compostos orgânicos presentes no meio fisiológico e nas células do corpo (CORRADINI et al., 2014).

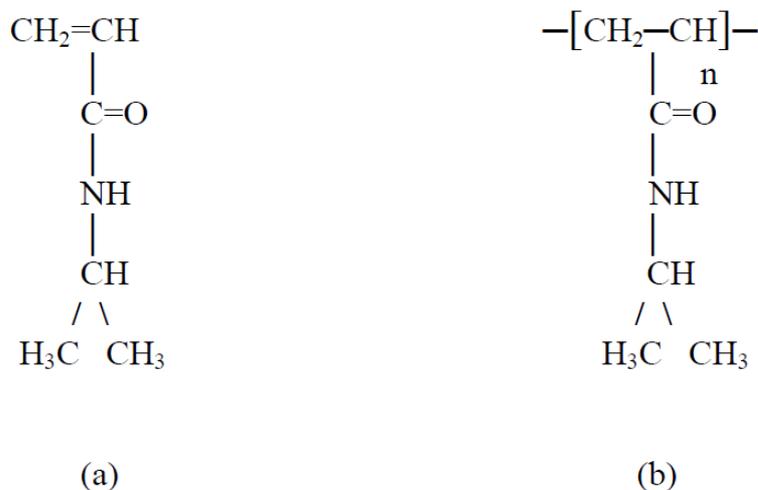
### **2.3 Poli(N-isopropilacrilamida)**

O poli(N-isopropilacrilamida), abreviado por PNIPAAm, um polímero com grande importância na área de biomateriais, foi sintetizado pela primeira vez em 1956, por cientistas na Rohm & Haas e CIBA Ltd. (ELLIOTT, 2011). Por apresentar propriedades de biocompatibilidade, ele é classificado como um biomaterial inteligente, além de ser um polímero termossensível. Termossensibilidade é a propriedade do material em que, com a variação de temperatura, há mudança de fase no material, que altera seu comportamento entre hidrofílico e hidrofóbico (SCHILD, 1992; ELLIOTT, 2011; TORRES, 2015).

Essa característica do PNIPAAm é devido à presença da chamada temperatura consoluta inferior (*Lower Critical Solution Temperature* – LCST) em torno de 32°C, possibilitando sua aplicação nas áreas farmacêutica e biomédica devido à proximidade da LCST à temperatura do corpo humano. Abaixo da temperatura consoluta inferior, o polímero apresenta comportamento hidrofílico, havendo afinidade com a água, e, acima dela, comportamento hidrofóbico (CAMPESI et al., 2007; ELLIOTT, 2011).

O monômero que origina o PNIPAAm por meio da polimerização em cadeia é o N-isopropilacrilamida (NIPAAm). A Figura 1 apresenta as estruturas químicas do monômero e da unidade repetitiva (mero) do polímero (MACHADO, 2012). Além da polimerização em cadeia, o PNIPAAm ainda apresenta outros métodos de síntese, cada qual resultando em características diferentes do polímero (SCHILD, 1992).

Figura 1 – Estrutura química (a) do NIPAAm e (b) do PNIPAAm



Fonte: Machado (2012, p.54).

Aplicações para o poli(N-isopropilacrilamida) envolvem dispositivos de liberação controlada de fármacos, biossensores, liberação enzimática e na área de engenharia de tecidos (TORRES, 2015). Também são encontradas aplicações do PNIPAAm na forma de géis, filmes, membranas e fibras (SCHILD, 1992).

## 2.4 Blendas

Uma blenda consiste na mistura de dois ou mais polímeros que, muitas vezes, resulta em material com propriedades mais interessantes que as dos polímeros isolados. Por esse motivo, seu desenvolvimento é uma alternativa promissora para a obtenção de novos materiais poliméricos (CORRADINI, 2004). Define-se blenda como a mistura física de dois ou mais polímeros, não havendo obrigatoriamente mistura química entre os constituintes. As interações entre as cadeias são majoritariamente formadas por ligações secundárias (CIVIERO, 2006).

No preparo de uma blenda, deve-se levar em conta sua miscibilidade, que é relacionada com a capacidade dos componentes da blenda se misturarem de modo a resultar em uma mistura homogênea (LUNA et al., 2015). Esse parâmetro depende de três fatores: condições de processamento, proporção dos componentes e interação química entre eles (CORRADINI, 2004). Blendas poliméricas raramente são miscíveis, a menos que ocorram determinadas interações, como iônicas ou ligações de

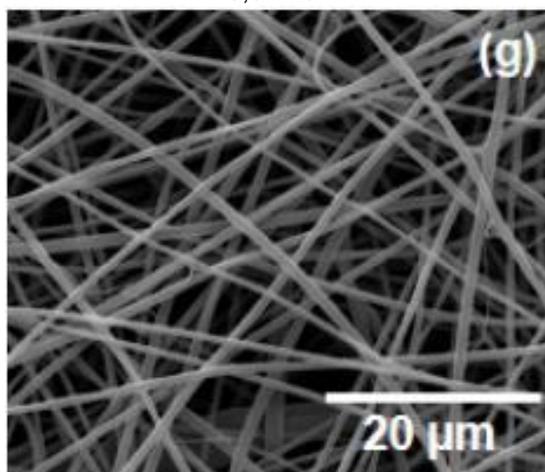
hidrogênio. Ou seja, a maioria das blendas é imiscível, nas quais os polímeros constituintes encontram-se separados em duas fases distintas (CORRADINI, 2004).

As propriedades finais de uma blenda dependem das propriedades dos polímeros formadores da mistura e do processamento, que pode ocorrer de diversas formas, entre elas, a eletrofiação (TORRES, 2015).

Devido a suas propriedades, como termoplasticidade, barreira a gases, biocompatibilidade e biodegradabilidade, a zeína apresenta bom potencial para a combinação com outros polímeros na forma de blendas. Na literatura, encontram-se estudos de blendas desse polímero com amido (SHUKLA; CHERYAN, 2001; HABEYCH et al., 2008), poli(vinil pirrolidona) (PVP) (SESSA et al., 2011), nylon-6 (SELLING; BISWAS, 2012) e poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) (CORRADINI et al., 2004), por exemplo. Ainda, blendas de zeína têm sido estudadas por meio da eletrofiação e com a combinação dessa proteína com polímeros como fibroína e quitosana para facilitar o processo (CORRADINI et al., 2014). O uso de zeína com outros polímeros, principalmente biodegradáveis, na forma de blendas para a produção de nanofibras resulta em materiais com boas propriedades mecânicas e de biocompatibilidade (VICENTE et al., 2019).

Vicente et al. (2019) demonstraram que o uso de blenda de zeína e PNIPAAm na obtenção de nanofibras eletrofiadas para aplicação biomédica é interessante. O PNIPAAm apresenta excelentes propriedades de formação de fibras, além de apresentar interação com os grupos amino ( $-NH_2$ ) da zeína, resultando em um material com propriedades superiores às dos polímeros puros (VICENTE et al., 2019). Ainda, Vicente et al. (2019) também estudaram a relação da influência da taxa de infusão e da concentração da solução polimérica no diâmetro das fibras e no rendimento do processo, havendo otimização do mesmo para a obtenção de melhores resultados. Fibras obtidas por eletrofiação de zeína e PNIPAAm podem ser observadas na Figura 2.

Figura 2 - Fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm obtidas em concentração de 22,5% e taxa de 0,5 mL/h.



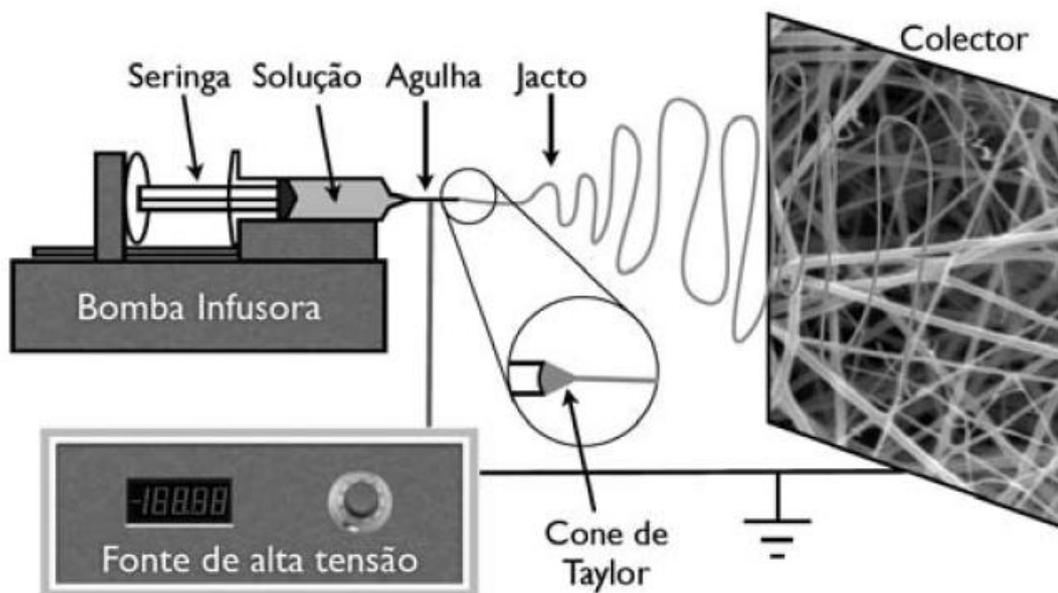
Fonte: Adaptado de Vicente et al. (2019).

## 2.5 Eletrofiação

A eletrofiação é um processo eletrostático capaz de formar fibras em diâmetros micro e nanométricos, a partir de solução, com área superficial maior que a obtida a partir de técnicas tradicionais (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; COSTA et al., 2012b). Essa técnica despertou interesse da comunidade científica por apresentar uma variedade de aplicações, na área biomédica, em vestuário de proteção, *scaffolds*, engenharia têxtil, biotecnologia, compósitos, entre outras áreas (SALLES, 2013).

Ainda, o processo envolvido na obtenção de fibras por eletrofiação é simples, dado o aparato necessário e sua operação. Para se realizar o processo de eletrofiação, necessita-se basicamente de um aparato composto por uma bomba de infusão, que manterá o fluxo de polímero constante, um capilar – podendo ser agulha de pequeno diâmetro – ligado a uma seringa que conterá a solução, um coletor metálico devidamente aterrado e uma fonte de alta tensão. A alta voltagem é necessária para que seja criado um jato de solução polimérica para fora do capilar, causando o estiramento das cadeias e a evaporação do solvente antes de o jato atingir o coletor, havendo deposição apenas das fibras na placa metálica (COSTA et al., 2012a; SALLES, 2013). A Figura 2 mostra o esquema de um sistema de eletrofiação horizontal.

Figura 3 – Representação de um equipamento para a técnica de eletrofiação horizontal.



Fonte: Franco, Silva e Borges (2010, p.58).

O resultado do processo de eletrofiação é influenciado por fatores que são classificados em três grupos: parâmetros de solução, parâmetros de processo e parâmetros ambientais. Os parâmetros de solução são a viscosidade da solução, a condutividade elétrica e a tensão superficial. Os parâmetros de processo englobam a tensão aplicada, a taxa de infusão e a distância do capilar ao coletor metálico. Por fim, os parâmetros ambientais são a umidade relativa do ar e a temperatura do ambiente (SALLES, 2013).

## 2.6 Nanopartículas de prata (AgNPs)

Define-se por nanopartículas metálicas, agregados de partículas com tamanhos entre 1 e 100 nm e propriedades dependentes de seus tamanho e forma (ANDRADE, 2013; ZHANG; YANG, 2017). Elas são consideradas uma nova classe de agentes antimicrobianos devido a suas propriedades físicas, químicas e biológicas (KHARAGHANI et al., 2018). Por essa mesma razão, nanopartículas de metais nobres vêm sendo amplamente estudadas por diversos pesquisadores (KAUR; KUMAR, 2019). Ainda, sua obtenção geralmente é a partir de dispersões coloidais e o método utilizado influencia fortemente na morfologia das nanopartículas sintetizadas, que podem se apresentar, por exemplo, na forma de nanocubos, nanofios e nanoesferas (ANDRADE, 2013). Esses materiais podem ser aplicados em sistemas de liberação

de fármacos, biossensores e em atividade antimicrobiana, sendo esta última utilizada para controlar infecções bacterianas (KAUR; KUMAR, 2019).

Entre as nanopartículas metálicas, encontram-se as nanopartículas de prata (AgNPs). O interesse no uso desse material se dá pelas suas propriedades físicas, químicas e biológicas, como suas ótimas propriedades ópticas e antimicrobianas (XU et al., 2018). Para a obtenção de nanopartículas de prata, o método mais comum é o químico, que consiste na redução de um sal metálico (ANDRADE, 2013).

Aplicações potenciais de interesse das nanopartículas de prata incluem o ramo biomédico, como em curativos, drogas antivirais e agentes antibacterianos e anti-inflamatórios (HASSAN et al., 2018). Isso se dá por ser de amplo conhecimento a atividade antimicrobiana desse nanomaterial, suprimindo com eficácia o crescimento de bactérias tais como *Salmonella*, *Staphylococcus* e *Escherichia coli* (VODNIK; VUKOVIC; NEDELJKOVIC, 2009). Além disso, a atenção dada às nanopartículas de prata também se deve à simplicidade de seu preparo, a sua alta sensibilidade e à biocompatibilidade desse material (REZAEI; RASTEGARZADEH; KIASAT, 2018).

A adição de nanopartículas em fibras eletrofiadas tem diversos propósitos, como melhorar ou conferir novas propriedades ao material, tais como ópticas, mecânicas, elétricas, térmicas e biológicas, entre muitas outras, como melhorar a habilidade do material em ser eletrofiado e mudar as propriedades da solução polimérica (CORRADINI et al., 2017). Ainda, a incorporação de nanopartículas de prata pode modificar a morfologia das fibras eletrofiadas, promovendo fibras mais uniformes e com menor diâmetro conforme o teor de prata aumenta. A atividade antimicrobiana do material obtido depende, também, da concentração e do tamanho das nanopartículas de prata presentes no sistema (MOHAMMADI et al., 2019).

Nanopartículas de prata em nanofibras poliméricas obtidas por eletrofiação foram estudadas por Kharaghani et al. (2018). Os autores obtiveram mantas nanofibrílicas de poliacrilonitrila (PAN) contendo nanopartículas de prata e constataram que o material desenvolvido apresentou notáveis propriedades antimicrobianas (KHARAGHANI et al., 2018). Hassan et al. (2018) também estudaram a aplicação desses nanomateriais em fibras eletrofiadas de blenda de poli(álcool vinílico) e quitosana, sendo notável a interação das nanopartículas com os grupos amino (-NH<sub>2</sub>) da quitosana. Ainda, na literatura, encontra-se estudo de nanofibras de acetato de celulose com nanopartículas de prata a partir de eletrofiação em solução (KALWAR et al., 2017). Resultados do trabalho realizado apontam que a presença de

nanopartículas de prata conferem atividade antimicrobiana às fibras, sendo eficiente contra microrganismos *E. coli* e *S. aureus*. Além disso, constatou-se que, conforme o teor de nanopartículas de prata aumenta, também há incremento da atividade antimicrobiana do material (KALWAR et al., 2017).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

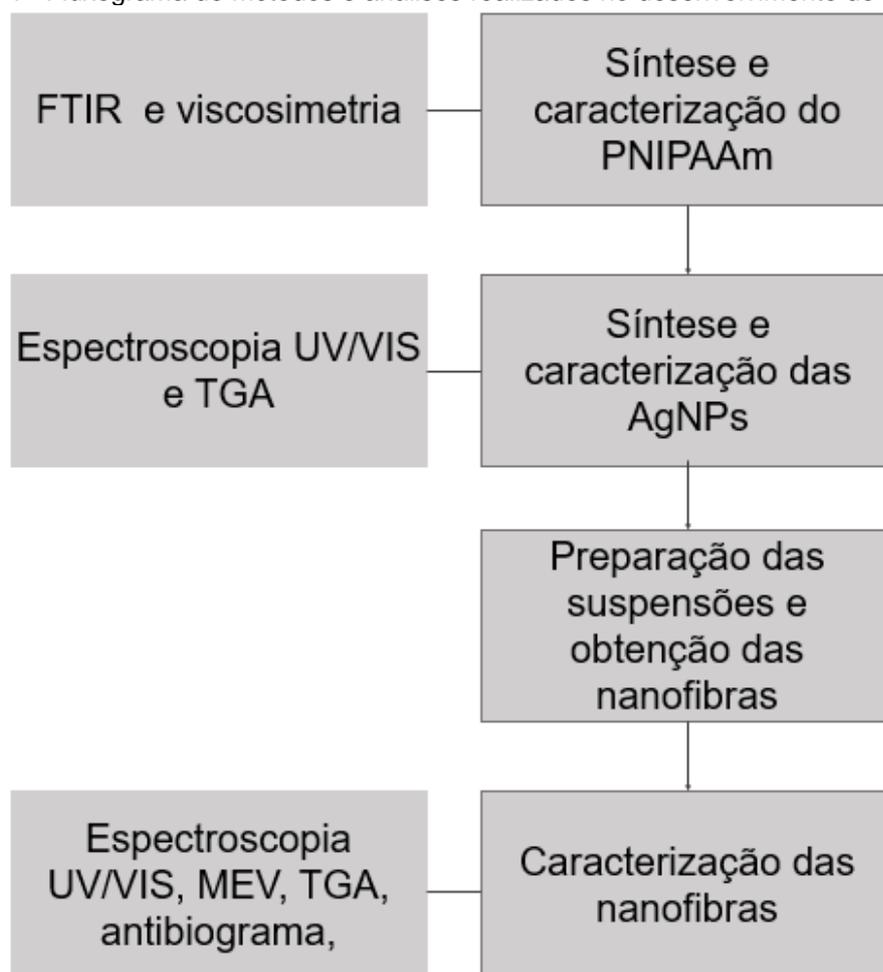
#### 3.1 Materiais

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram necessários: zeína, N-isopropilacrilamida (NIPAAm), tetrametilenodiamina (TEMED) e nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), fornecidos pela Sigma-Aldrich; clorofórmio proveniente da Alphatec; persulfato de sódio fornecido pela Dinâmica Química Contemporânea Ltda; N,N-dimetilformadida da Neon Comercial Ltda; e borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), da Fluka.

#### 3.2 Métodos

O presente trabalho seguiu metodologia conforme fluxograma mostrado na Figura 4.

Figura 4 - Fluxograma de métodos e análises realizados no desenvolvimento do trabalho



Fonte: Autoria própria.

### 3.2.1 Síntese e caracterização do PNIPAAm

A síntese do PNIPAAm foi realizada por meio do precursor NIPAAm, utilizando razão molar de 1,0:0,05:0,025 de NIPAAm, persulfato de sódio (iniciador) e TEMED (catalisador), respectivamente. Inicialmente, preparou-se uma solução 0,3 mol/L de monômero e adicionou-se o iniciador, por meio da dissolução de 10,18 g de NIPAAm e 1,071 g de persulfato de sódio em 300 mL de água destilada, sob agitação magnética e fluxo de nitrogênio por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,34 g de TEMED e a polimerização ocorreu em atmosfera de nitrogênio durante seis horas, em temperatura ambiente e sob agitação magnética. Após o processo, o polímero foi precipitado por gotejamento em água a 60°C com forte agitação e, em seguida, foi seco em estufa com circulação de ar a 70°C durante 24 horas.

A caracterização do polímero sintetizado se deu por meio das técnicas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e viscosimetria, para averiguação do polímero formado e determinação de sua massa molar viscosimétrica.

O ensaio para determinação da massa molar viscosimétrica foi realizado no laboratório de polímeros do Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais – DAEMA – da UTFPR câmpus Londrina. Para isso, foi utilizado um viscosímetro de Ubbelohde. Inicialmente, diluiu-se 0,25 g de PNIPAAm em 25 mL de água destilada, para preparação de solução 0,010 g/mL. Tomou-se como padrão de tempo o escoamento do solvente puro (água destilada) e as medidas de viscosidade de solução ocorreram cinco vezes, havendo posterior diluição por quatro vezes, com adição, respectivamente, de 5 mL, 5 mL, 10 mL e 10 mL à solução inicial. O experimento ocorreu em temperatura de 25°C.

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada em um espectrofotômetro modelo Perkin Elmer Spectrum Two, alocado no laboratório de análises do DAEMA. As medidas ocorreram por meio de pastilhas de KBr e a análise foi feita no intervalo de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.2.2 Síntese e caracterização das nanopartículas de prata

Para a síntese das nanopartículas de prata, foram preparadas as soluções 1 mM de  $\text{AgNO}_3$  e 2 mM de  $\text{NaBH}_4$ . A solução de borohidreto de sódio foi colocada em balão de fundo redondo e mantida em banho de gelo, em temperatura entre 2,5°C e 3°C. A solução de nitrato de prata foi colocada em bureta. O gotejamento de deu sob forte agitação magnética, no balão contendo a solução de  $\text{NaBH}_4$ , até que se observou mudança na coloração da mistura para amarelo.

A caracterização das nanopartículas de prata obtidas foi feita por espectroscopia UV-VIS, para averiguação da real formação das nanopartículas. A análise foi realizada em espectrofotômetro modelo Libra Biochrom, em comprimento de onda no intervalo de 190 a 900 nm, ao passo de 1 nm. Também se realizou a centrifugação, para separação do meio aquoso e secagem das nanopartículas para realocação em meio orgânico, em centrífuga de bancada refrigerada modelo Thermo Scientific Heraeus Megafuge 16. Essas técnicas foram realizadas nos laboratórios multiusuário e L-008 da UTFPR câmpus Londrina.

Ainda, realizou-se ensaio de termogravimetria (TGA) da suspensão aquosa de nanopartículas de prata. A análise ocorreu em equipamento Shimadzu TGA-51, alocado no laboratório de análises do DAEMA. A análise foi realizada a 10°C/min até a temperatura de 700°C, com fluxo de 20 mL/min de nitrogênio e foram utilizados massa de aproximadamente 13 mg de amostra e cadinho de platina.

### 3.2.3 Preparação da suspensão e obtenção das nanofibras

A preparação da suspensão se deu a partir da inserção das nanopartículas de prata no solvente utilizado para a solubilização da blenda de zeína e PNIPAAm. A solução polimérica foi obtida por meio de agitação magnética e utilizou-se como soluto uma proporção de 27/3% (m/m) de zeína/PNIPAAm, enquanto, como solvente, 60% de clorofórmio e 40% de N,N-dimetilformamida (DMF), em massa, contendo as nanopartículas de prata em diferentes concentrações, inicialmente desconhecidas. Primeiramente, preparou-se soluções individuais de zeína e PNIPAAm, cada uma solubilizada em metade da quantidade total de solvente. Então, as duas soluções foram misturadas, ainda em agitação magnética, em temperatura ambiente.

A obtenção das fibras a partir da suspensão foi realizada em um aparelho de eletrofiação horizontal alocado no laboratório L-008 da UTFPR câmpus Londrina. Os parâmetros de eletrofiação foram selecionados de acordo com resultados obtidos em estudos anteriores realizados (VICENTE et al., 2019). Foram necessários testes preliminares e ajuste do fluxo de polímero durante o processo. Assim, a concentração da solução polimérica foi de 22,5% (m/m), a tensão aplicada, de 22 kV, a distância, de 22 cm e, por fim, o fluxo foi de 0,6 mL/h. A escolha dessa condição se deu devido ao alto rendimento do processo apresentado por essa combinação de parâmetros em estudos anteriores, bem como à uniformidade das fibras obtidas. Embora apresente o maior diâmetro entre os resultados encontrados no planejamento fatorial realizado (VICENTE et al., 2019), o rendimento de processo se sobressaiu entre os requisitos avaliados para a escolha dos parâmetros de eletrofiação utilizados. A mudança no fluxo, de 0,5 mL/h, utilizado em estudos anteriores (VICENTE et al., 2019), para 0,6 mL/h foi necessária para que não houvesse gotejamento do solvente no coletor metálico e toda a solução utilizada fosse eficaz na formação de fibras. Foram eletrofiadas quatro condições com diferentes teores de nanopartículas de prata: NP0, contendo apenas os polímeros, sem AgNPs, e NP1, NP2 e NP3, inicialmente com concentrações desconhecidas a serem determinadas, nomeadas por ordem de desenvolvimento do material.

#### 3.2.4 Caracterização das fibras e testes biológicos

A concentração de nanopartículas de prata nas fibras eletrofiadas nas condições NP1, NP2 e NP3 foi determinada por espectroscopia UV-VIS das suspensões de AgNPs em clorofórmio e DMF. A análise ocorreu em espectrofotômetro Ultravioleta-visível Shimadzu, modelo UV-2600, localizado no Laboratório de Espectroscopia da UEL, com varredura em comprimento de onda de 200 nm a 700 nm, ao passo de 0,5 nm.

Análises preliminares da morfologia das fibras foi realizada por microscopia óptica de campo escuro, em microscópio óptico Zeiss AX10, alocado em laboratório do DAEMA. Posteriormente, a medida de diâmetro se deu partir de imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) efetuadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e de Microanálise, na Universidade Estadual de Londrina (UEL). Foi utilizado feixe de elétrons de 25 kV em um microscópio eletrônico de varredura FEI

Quanta 200. O diâmetro das fibras foi medido com auxílio do *software* Size Meter 1.1. A estabilidade térmica, por sua vez, foi averiguada por meio do ensaio de termogravimetria (TGA) em equipamento Shimadzu TGA-51, alocado no laboratório de análises do DAEMA. A análise foi realizada a 10°C/min até a temperatura de 800°C, com fluxo de 20 mL/min de nitrogênio e foram utilizados massa de aproximadamente 7 mg de amostra e cadinho de alumina.

O teste antimicrobiano foi realizado de acordo com o utilizado pelo *National Committe for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003), pelo método de difusão de disco, utilizando as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e a levedura *Candida albicans* (ATCC 10231). As bactérias foram reativadas em placas de petri contendo caldo Müller Hinton, sendo posteriormente encubadas. As suspensões contendo os microrganismos utilizadas na análise foram realizadas em tubo com solução salina, em escala McFarland de concentração  $1 \times 10^8$  UFC, sendo inoculadas em placas de Petri contendo ágar Müller Hinton previamente esterilizadas. Após a semeadura, discos de aproximadamente 6 mm de diâmetro das fibras eletrofiadas foram colocados em cada placa e os sistemas foram encubados. Após período de 24 horas, realizou-se a leitura de cada placa para observar a formação de halo de inibição.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização do PNIPAAm

A partir de medidas de tempos de escoamento das soluções poliméricas ( $t$ ) e do solvente puro ( $t_0$ ), definem-se as relações matemáticas apresentadas no Quadro 1, utilizadas no cálculo da massa molar viscosimétrica (CANEVAROLO, 2013).

Quadro 1 - Definições dos tipos de viscosidade utilizadas

Nome comum	Nome recomendado	Símbolo e definição matemática
Viscosidade relativa	Razão de viscosidade	$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} \cong \frac{t}{t_0}$
Viscosidade específica	-	$\eta_{sp} = \eta_r - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{t - t_0}{t_0}$
Viscosidade reduzida	Número de viscosidade	$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c}$
Viscosidade inerente	Número de viscosidade logarítmica	$\eta_{iner} = \frac{(\ln(\eta_r))}{c}$
Viscosidade intrínseca	Número de viscosidade limite	$[\eta] = \left[\frac{\eta_{sp}}{c}\right]_{c=0} = \left[\frac{(\ln(\eta_r))}{c}\right]_{c=0}$

Fonte: Canevarolo, 2013.

A Tabela 1 apresenta os tempos de escoamento resultantes do ensaio de viscosimetria para cada concentração utilizada e para a água destilada, tomada como referência. Naturalmente, a viscosidade da solução polimérica é maior que a do solvente puro (água). Dessa forma, o tempo de escoamento  $t$  é maior que o tempo de escoamento  $t_0$ .

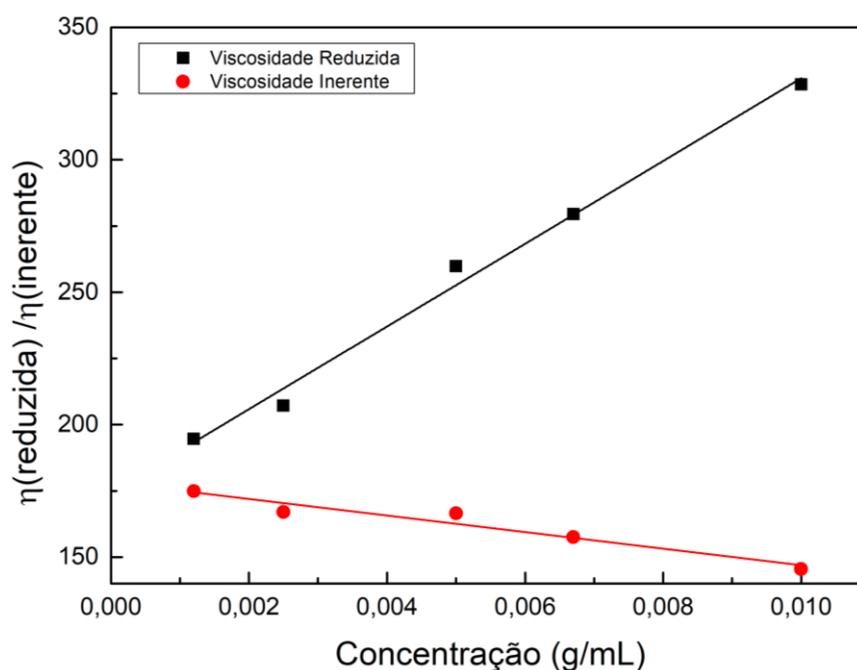
Tabela 1 - Tempos de escoamento medidos no ensaio de viscosimetria e viscosidades relativa, específica, reduzida e inerente calculadas

Concentração da solução (g/mL)	$t_{\text{médio}}$ (s)	$\eta_{\text{rel}}$	$\eta_{\text{sp}}$	$\eta_{\text{red}}$	$\eta_{\text{iner}}$
0,010	403,6	4,284	3,284	328,450	145,500
0,0067	270,6	2,873	1,873	279,494	157,496
0,0050	216,6	2,299	1,299	259,873	166,526
0,0025	143	1,518	0,518	207,219	166,970
0,0012	116,2	1,234	0,234	194,621	174,911
Solvente (água)	94,2	-	-	-	-

Fonte: autoria própria.

A partir dos tempos de escoamento, calculou-se os valores de viscosidades relativa ( $\eta_{\text{rel}}$ ), específica ( $\eta_{\text{sp}}$ ), reduzida ( $\eta_{\text{red}}$ ) e inerente ( $\eta_{\text{iner}}$ ), com base nos parâmetros necessários conhecidos para viscosimetria (CANEVAROLO, 2013) e, com auxílio de *software* OriginPro 9.0, plotou-se um gráfico com os dados de viscosidades reduzida e inerente obtidos, o qual é apresentado na Figura 5.

Figura 5 - Valores de viscosidades reduzida e inerente em função da concentração



Fonte: autoria própria.

A massa molar viscosimétrica é obtida utilizando um valor de viscosidade intrínseca que, por sua vez, é calculado por meio da extrapolação das curvas de viscosidades inerente e reduzida até uma concentração tendendo a zero. Para o experimento realizado, o valor de viscosidade intrínseca foi  $[\eta] = (176,38 \pm 1,78)$ , considerando-se a média das viscosidades encontradas pela extrapolação das duas retas. Para o cálculo da massa molar viscosimétrica, utilizou-se a equação de Mark-Houwink-Sakurada, expressa pela equação 1 (CANEVAROLO, 2013):

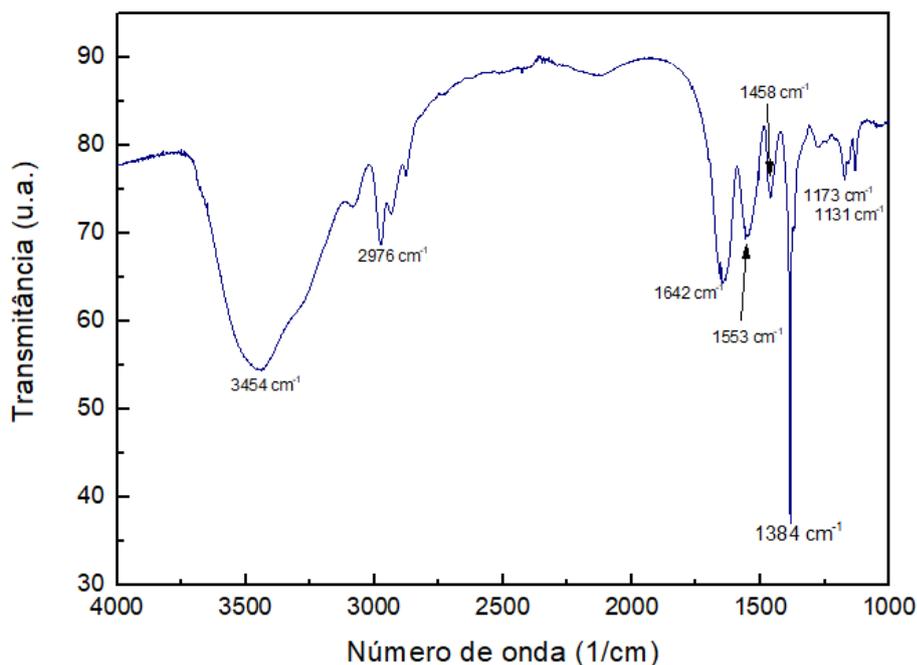
$$[\eta] = K(\bar{M}_v)^a \quad (1)$$

Na equação,  $[\eta]$  é a viscosidade intrínseca,  $\bar{M}_v$  é a massa molar viscosimétrica,  $a$  e  $K$  são constantes que dependem do polímero, do solvente e da temperatura. Para o sistema utilizado no ensaio de viscosimetria, as constantes são  $a = 0,97$  e  $K = 2,26 \times 10^{-4}$  mL/g (MARQUES et al., 2010). Dessa forma, a massa molar viscosimétrica obtida foi de  $1,19 \times 10^6$  g/mol.

A massa molar do PNIPAAm é notavelmente maior que a apresentada pela zeína, de cerca de 23 kDa (VICENTE et al., 2019) e é válido salientar que, devido a essa diferença, sua adição na blenda polimérica estudada melhora as condições de obtenção de fibras por eletrofiação, com relatos, na literatura, de formação de menos contas (*beads*) no material obtido (VICENTE et al., 2019).

O espectro de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier obtido do PNIPAAm sintetizado é apresentado na Figura 6.

Figura 6 - Espectro de infravermelho com transformada de Fourier para o PNIPAAm sintetizado



Fonte: autoria própria.

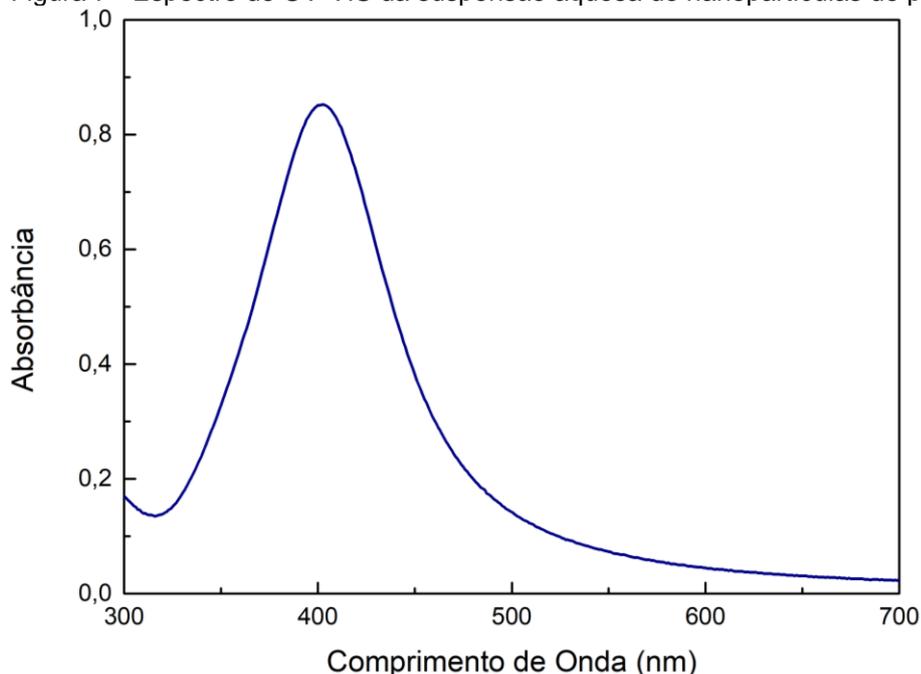
Em  $3454\text{ cm}^{-1}$ , observa-se uma larga banda, correspondente ao estiramento da ligação O-H, que não pertence ao polímero. A presença dessa banda de absorção pode estar relacionada à presença de água na amostra, uma vez que o polímero apresenta grande afinidade com essa substância a temperatura ambiente. A banda localizada em  $2976\text{ cm}^{-1}$  é referente ao estiramento de grupos metílicos  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ . Em  $1642\text{ cm}^{-1}$  e  $1553\text{ cm}^{-1}$ , encontram-se as bandas de absorção correspondentes ao estiramento de grupos carbonílicos e de estiramento simétrico de ligações N-H das amidas, respectivamente. A banda encontrada em  $1458\text{ cm}^{-1}$  equivale ao dobramento de hidrocarbonetos  $\text{CH}_2$ . A deformação no plano de isopropilas é caracterizada pela banda em  $1384\text{ cm}^{-1}$ . Por fim, as bandas de deformação do  $\text{CH}_3$  encontram-se em  $1173\text{ cm}^{-1}$  e  $1131\text{ cm}^{-1}$  (RIBEIRO, 2012; PAIVA et al., 2013; VICENTE et al., 2019).

Cabe, ainda, sinalizar que o rendimento da síntese não foi possível de ser determinado, uma vez que, durante a secagem do polímero em estufa, quantidade significativa do material aderiu ao recipiente onde foram alocadas, comprometendo a pesagem da massa final.

## 4.2 Caracterização das nanopartículas de prata

A Figura 7 apresenta o gráfico obtido a partir da análise de espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-VIS) da suspensão aquosa de nanopartículas de prata.

Figura 7 - Espectro de UV-VIS da suspensão aquosa de nanopartículas de prata.



Fonte: autoria própria

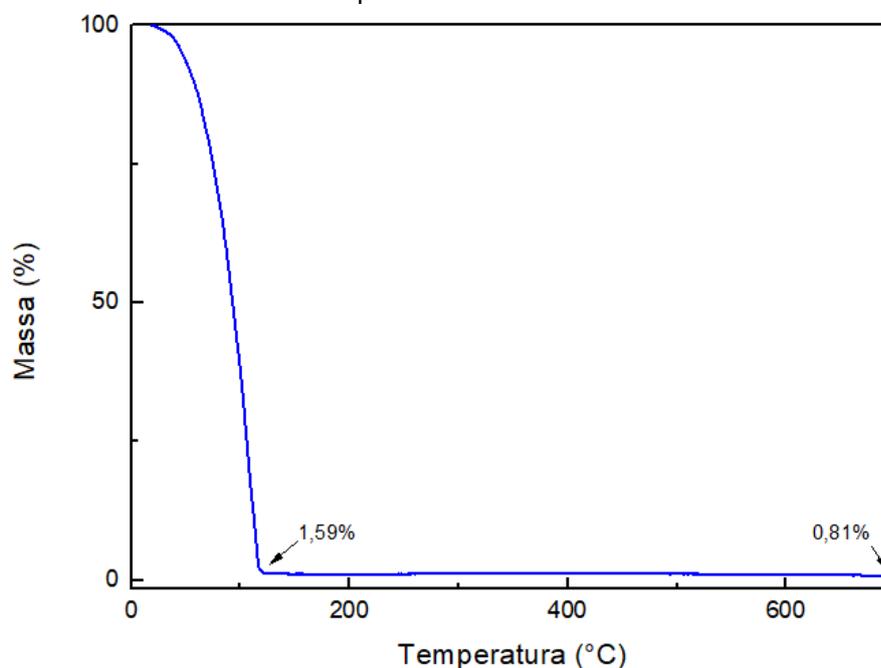
Quando irradiadas por luz, as nanopartículas metálicas em geral apresentam oscilações de seus elétrons livres na superfície. Dessa forma, parte da luz visível é absorvida, gerando o chamado efeito de ressonância de *plasmon*, que pode ser explicado pela teoria de Mie. Esse modelo correlaciona matematicamente as bandas de absorção de *plasmon*, visíveis no espectro, com propriedades intrínsecas das nanopartículas metálicas, possibilitando a análise de importantes características por meio da interpretação do espectro experimental. É importante ressaltar, também, que o tamanho das nanopartículas metálicas está relacionado com o comprimento de onda das bandas de absorção. Nanopartículas metálicas que possuem maior tamanho possuem bandas de absorção de *plasmon* deslocadas para maiores comprimentos de onda, enquanto nanopartículas com menores tamanhos, para menores comprimentos de onda (BALLOTTIN, 2014).

É notável uma banda de absorbância em 402 nm, característico de nanopartículas de prata morfologicamente esféricas, constatando a real formação das

AgNPs no processo de síntese (BALLOTTIN, 2014). A massa obtida do material sintetizado, após a centrifugação e secagem, não foi averiguada pela balança de precisão utilizada, impossibilitando o cálculo de rendimento da síntese. Ainda, por meio do *software* MieLab, foi possível estimar, por meio de comparativo entre uma curva teórica e a curva experimental apresentada na Figura 6, o diâmetro das nanopartículas obtidas, de 22 nm.

O resultado do ensaio de termogravimetria da suspensão aquosa de nanopartículas de prata é apresentado na Figura 8.

Figura 8 - Curva TGA indicando o comportamento térmico da suspensão de 6 nanopartículas de prata até 700°C.



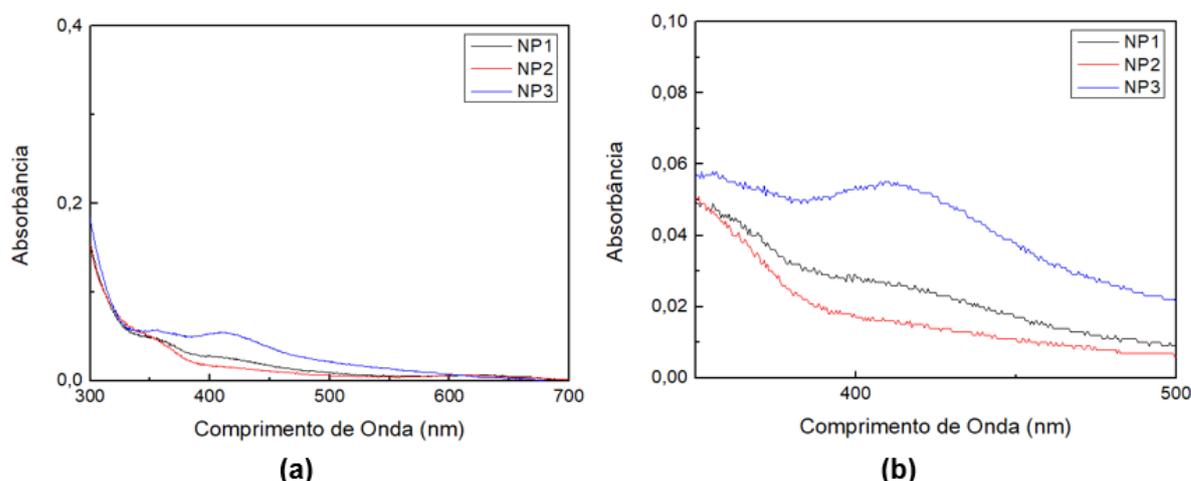
Fonte: autoria própria.

Na Figura, nota-se uma grande perda de massa, de 98,41%, entre as temperaturas de 27,49°C e 120,80°C, referente à perda da água, meio em que a suspensão se encontrava. A partir deste ponto, a curva torna-se quase constante, havendo perda de mais 0,78% de massa, apenas, mostrando estabilidade térmica das nanopartículas de prata sintetizadas até a temperatura final, de 700°C.

### 4.3 Caracterização das nanofibras

A Figura 9 apresenta os espectros de UV-VIS das suspensões de nanopartículas de prata em clorofórmio e DMF utilizadas para solubilizar os polímeros nas condições NP1, NP2 e NP3 eletrofiadas, à esquerda, e um aumento na região de 250 nm a 500 nm para os mesmos espectros, à direita.

Figura 9 - (a) Espectros de UV-VIS das suspensões utilizadas para as fibras NP1, NP2 e NP3; (b) Aumento dos espectros de UV-VIS na região de 250 nm a 500 nm



Fonte: autoria própria.

A condição NP3 apresentou maior absorvância, de 0,055, seguida pela condição NP1, com absorvância de 0,027. Por fim, a condição NP2 apresentou absorvância de 0,016. Para o cálculo da concentração de nanopartículas de prata nas fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm, utilizou-se a lei de Beer-Lambert, expressa na equação 2:

$$A = \epsilon bc \quad (2)$$

Na equação, A é a absorvância,  $\epsilon$  é a absorvidade molar, dada em  $M^{-1}cm^{-1}$ , b é o comprimento do percurso da amostra, em centímetros, e c é a concentração de nanopartículas na suspensão, em molar (SHANG; GAO, 2014). Assumiu-se o coeficiente de extinção molar como  $\epsilon=1,8 \times 10^8 M^{-1}cm^{-1}$  (PARAMELLE et al., 2014), e b = 1 cm, sendo a largura da cubeta utilizada. Para A, assumiu-se os valores encontrados nos espectros mostrados na Figura 9. Dessa forma, as concentrações

de nanopartículas de prata em cada condição eletrofiadas, em mol/L, e suas respectivas relações de massa de nanopartículas de prata por grama de polímero são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2 - Concentrações de nanopartículas de prata e massa de nanopartículas por grama de polímero em cada condição de fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm

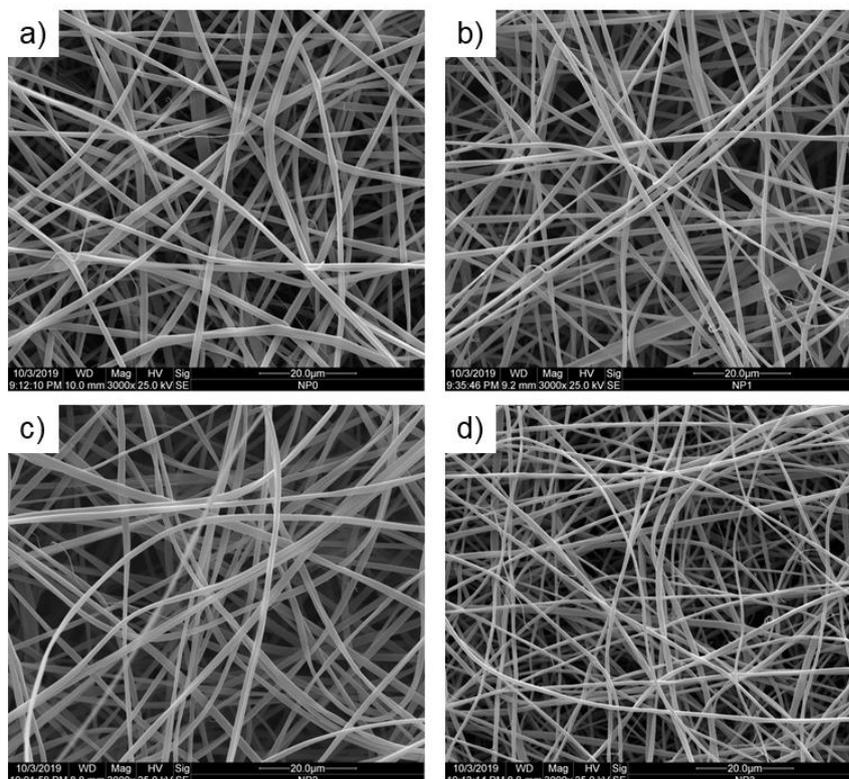
Condição	Concentração (M)	Massa de AgNPs por grama de polímero (g)
NP0	0	0
NP1	$6,46 \times 10^{-12}$	$5,14 \times 10^{-12}$
NP2	$3,83 \times 10^{-12}$	$3,05 \times 10^{-12}$
NP3	$1,32 \times 10^{-11}$	$1,05 \times 10^{-11}$

Fonte: autoria própria.

Nota-se, dessa forma, que a concentração de nanopartículas de prata é ascendente na ordem de condições: NP0, NP2, NP1 e NP3.

Na Figura 10 estão presentes imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das condições eletrofiadas. Pode-se notar grande formação de estiramentos emaranhados, evidenciando a formação de fibras uniformes para todas as condições testadas. As fibras formadas não apresentaram presença de solvente no coletor ou contas (*beads*) em sua extensão, resultado considerado satisfatório no desenvolvimento do material desejado.

Figura 10 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura das fibras eletrofiadas a) NP0; b) NP1; c) NP2; d) NP3



Fonte: autoria própria.

Ainda, por meio do *software* Size Meter 1.1, foi possível calcular o diâmetro médio das fibras eletrofiadas. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Diâmetros médios para as condições de eletrofiação das fibras de zeína e PNIPAAm com diferentes teores de AgNPs

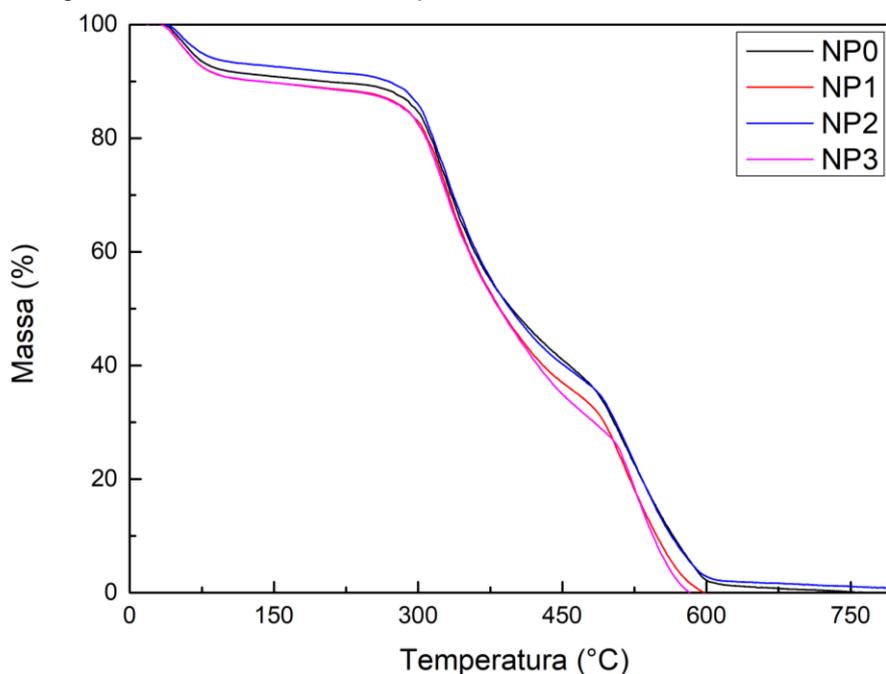
Experimento	Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )	Desvio padrão ( $\mu\text{m}$ )
NP0	1,5979	$\pm 0,0805$
NP1	1,0779	$\pm 0,0905$
NP2	1,2601	$\pm 0,0858$
NP3	0,6757	$\pm 0,0724$

Fonte: autoria própria

O maior diâmetro médio é observado para a condição NP0, equivalente às fibras sem nanopartículas de prata. Em contrapartida, o menor diâmetro corresponde à condição NP3, com maior teor de prata nas fibras eletrofiadas. É notável, portanto, que o diâmetro das fibras diminui conforme o aumento de prata presente nelas, corroborando o que diz a literatura (MOHAMMADI et al., 2019).

A estabilidade térmica das fibras foi analisada por ensaio de termogravimetria. Os resultados são apresentados na Figura 11.

Figura 11- Curvas TGA obtidas para as fibras eletrofiadas de zeína e PNIPAAm



Fonte: autoria própria.

A primeira perda de massa nas fibras ocorre em temperatura até 110°C, correspondente à saída de água, resultando em 6% a 9% de perda de material. O início da degradação das fibras, indicado pela temperatura  $T_{\text{onset}}$ , e a porcentagem de massa perdida no intervalo mais acentuado de degradação são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Temperaturas de início de degradação e perda de massa das fibras eletrofiadas

Condição	$T_{\text{onset}}$ (°C)	Perda de massa (%)
NP0	275,7	52,4
NP1	278,3	53,3
NP2	278,3	51,9
NP3	282,9	55,4

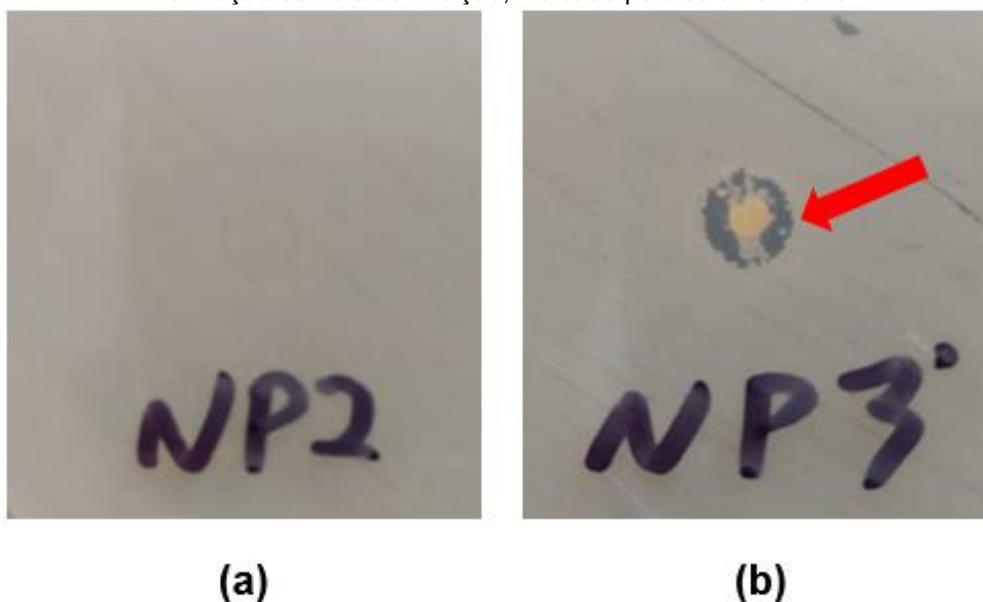
Fonte: autoria própria.

Uma vez que as temperaturas de decomposição e as perdas de massa são semelhantes para todas as condições, assumiu-se que a incorporação de

nanopartículas de prata nas fibras eletrofiadas não apresentou influência significativa na estabilidade térmica do material, havendo apenas um pequeno aumento na temperatura de início de degradação. Cabe, ainda, salientar que as massas finais das condições NP1 e NP3 terminaram em porcentagens negativas, provavelmente devido à falta de limpeza do equipamento de TGA utilizado, o que ocasionou perda de massa de resquícios de materiais anteriormente ensaiados, influenciando, assim, as curvas apresentadas na Figura 11.

Testes qualitativos do antibiograma foram realizados para avaliar a atividade antimicrobiana do material desenvolvido, verificada por meio da formação ou não de halo de inibição (NCCLS, 2003). Um exemplo de formação de halo de inibição é mostrado na Figura 12.

Figura 12 - Resultados de antibiograma (a) sem formação de halo de inibição e (b) com formação de halo de inibição, indicado pela seta vermelha



Fonte: Autoria própria

Em concentração de  $1 \times 10^8$  UFC/mL, verificou-se o comportamento descrito no Quadro 2 para o resultado dos testes.

Quadro 2 - Verificação de halo de inibição em ambiente com diferentes microrganismos.

MICRORGANISMO	FORMAÇÃO DE HALO			
	NP0	NP1	NP2	NP3
<i>Escherichia coli</i>	SIM	SIM	SIM	SIM
<i>Staphylococcus aureus</i>	NÃO	NÃO	NÃO	SIM
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	NÃO	NÃO	NÃO	SIM
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SIM	NÃO	NÃO	SIM
<i>Candida albicans</i>	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO

Fonte: autoria própria.

Nota-se, primeiramente, que nenhuma das condições foi eficaz contra a proliferação de *Candida albicans*, mostrando a ausência de ação antimicrobiana contra a levedura. No que tange às bactérias, vê-se que a condição NP3, com maior teor de prata, apresentou atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados. As condições NP1 e NP2, por sua vez, apresentaram atividade antimicrobiana apenas contra *Escherichia coli* e, por fim, a condição NP0, com ausência de prata, apresentou atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Dessa forma, é possível inferir que a atividade antimicrobiana das fibras cresce à medida que o teor de nanopartículas de prata aumenta, atingindo diferentes bactérias. Ainda, a não diferenciação de ação antimicrobiana de NP1 e NP2 pode ser atribuída à insuficiência de prata nas fibras em ambas as condições. Em NP0, a ação presente em *Pseudomonas aeruginosa* pode decorrer de desvios experimentais, como variação no tempo de incubação ou temperatura de manuseio (NCCLS, 2003). De forma geral, tem-se, com o aumento do teor de prata nas fibras, maior abrangência de atividade antimicrobiana, conforme prevê a literatura (KALWAR et al., 2017).

É reportado na literatura a ação antimicrobiana das nanopartículas de prata contra as bactérias estudadas, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa* (RAI; YADAV; GADE, 2009), o que corrobora com a hipótese de a ausência de atividade antimicrobiana de NP1 e NP2 nos microrganismos apresentados decorrer da insuficiência de prata no sistema

para efetiva ação. Ainda, sabe-se que o mecanismo de ação da prata contra esses microrganismos se dá pela supressão da atividade respiratória das bactérias. As AgNPs aderem às membranas celulares e penetram nas bactérias, atacando a atividade respiratória e a divisão celular, destruindo-as. É válido ressaltar que, ao contrário do que acontece com antibióticos, os microrganismos não são capazes de desenvolver resistência à prata, o que a torna interessante para a aplicação antimicrobiana (RAI; YADAV; GADE, 2009).

## 5 CONCLUSÃO

No presente trabalho foram desenvolvidas mantas nanofibrílicas de zeína e poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) contendo nanopartículas de prata. As fibras foram desenvolvidas em quatro diferentes teores de AgNPs, respectivamente: 0,  $6,46 \times 10^{-12}$  M,  $3,83 \times 10^{-12}$  M e  $1,32 \times 10^{-11}$  M. As análises de termogravimetria indicaram que a incorporação de prata nas fibras não influenciou significativamente a estabilidade térmica do sistema. Ainda, foi possível observar que as fibras obtidas, em todas as condições, apresentaram uniformidade, sem a presença de contas (*beads*) ou de solvente respingado no meio analisado.

Também se observou que, com a incorporação de nanopartículas de prata nas fibras, o diâmetro médio resultante do processo de eletrofiação diminuiu consideravelmente. O maior diâmetro médio medido foi de  $(1,5979 \pm 0,0805)$   $\mu\text{m}$ , para NP0 (ausência de nanopartículas) e o menor, de  $(0,6757 \pm 0,0724)$   $\mu\text{m}$ , para NP3, condição com maior teor de nanopartículas.

Ao avaliar a atividade antimicrobiana por meio de análise de antibiograma, verificou-se que, aparentemente, as condições NP1 e NP2 não apresentavam concentração suficiente de nanopartículas de prata para agir com maior eficácia se comparadas a NP0 contra diferentes bactérias. A condição NP3, por sua vez, apresentou ação antimicrobiana contra todas as bactérias analisadas, resultado constatado pela formação de halo de inibição no ambiente do ensaio. Quanto à levedura analisada, as fibras não apresentaram, de maneira geral, ação antimicrobiana, não surtindo efeito contra sua proliferação.

É pertinente ressaltar que a síntese de nanopartículas de prata foi feita com sucesso, resultando em nanopartículas esféricas de diâmetro aproximado de 22 nm.

Dessa forma, o trabalho desenvolvido mostrou promissora aplicação das fibras desenvolvidas com nanopartículas de prata ao ambiente fisiológico, permitindo seu emprego como biomaterial. Ainda, espera-se que os resultados apresentados possam contribuir com a comunidade científica no que diz respeito a biomateriais poliméricos.

Cabe ainda salientar que é relevante o estudo futuro de propriedades mecânicas das fibras em função do teor de nanopartículas de prata presente, bem como a obtenção de fibras com maiores teores de nanopartículas. Também é possível

o estudo de limites de concentração de bactérias para a ação antimicrobiana das fibras contendo determinados teores de nanopartículas de prata.

## REFERÊNCIAS

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

BALLOTTIN, D. P. M. **Caracterização de nanopartículas de prata e sua aplicação na produção de tecidos antimicrobianos**. 2014. 435 f. Tese (Doutorado em ciências) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 325-347, 2010.

CAMPESI, G. M. et al. Resistência mecânica de hidrogéis termo-sensíveis constituídos de Alginato-Ca<sup>2+</sup> / PNIPAAm, tipo semi-IPN. **Química Nova**, v. 30, p. 1649-1652, 2007.

CANEVAROLO, S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 3 ed. São Paulo: Artliber Editora, 2013.

CIVIERO, E. **Preparação e Caracterização de Blendas Poliméricas Recicladas**. 2006. 42 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

COLI, M. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas de Prata em Matrizes de Hidrogéis Eletro-termossensíveis**. 2013. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciência em Materiais para Engenharia) – Programa de Pós-graduação em Materiais para Engenharia, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2013.

CORRADINI, E. **Desenvolvimento de Blendas Poliméricas de Zeína e Amido de Milho**. Tese (doutorado) – Interunidades Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

CORRADINI, E. et al. Mechanical, thermal and morphological properties of poly(epsilon-caprolactone)/zein blends. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 15, p. 340–345, 2004.

CORRADINI, E. et al. Recent Advances in Food-Packing, Pharmaceutical and Biomedical Applications of Zein and Zein-Based Materials. **Int. J. Mol. Sci**, v. 15, 2014.

CORRADINI, E. et al. Preparation of Polymeric Mats Through Electrospinning for Technological Uses. In: LONGO, E.; LA PORTA, F. de A. (Org.) **Recent Advances in Complex Functional Materials**. 1 ed. Springer International Publishing, 2017, p.83-128.

COSTA, R. G. F. et al. Eletrofiação de Polímeros em Solução: parte I: fundamentação Teórica. **Polímeros**, São Carlos, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.

\_\_\_\_\_. Eletrofiação de Polímeros em Solução. Parte II: Aplicações e Perspectivas. **Polímeros**, São Carlos, v. 22, n. 2, p. 178-185, 2012.

ELLIOTT, L. C. C. **Single molecule tracking studies of lower critical solution temperature transition behavior in poly(n-isopropylacrylamide)**. 2011. 172 f. Dissertação (Doctor of Philosophy in Chemistry) - Graduate College, University of Illinois, Urbana, 2011.

FRANCO, P.Q.; SILVA, J.C.; BORGES, J.P. Produção de fibras de hidroxiapatite por electrofiação. **Ciência & Tecnologia dos Materiais**, v. 22, p. 57-64, 2010.

HABEYCH, E. et al. Starch-zein blends formed by shear flow. **Chemical Engineering Science**, v. 63, p. 5229–5238, 2008.

HASSAN, M. K. et al. PVA/chitosan/silver nanoparticles electrospun nanocomposites: molecular relaxations investigated by modern broadband dielectric spectroscopy. **Nanomaterials**, v. 8, p. 888, 2018.

KALWAR, K. et al. AgNPs incorporated on deacetylated electrospun cellulose nanofibers and their effect on the antimicrobial activity. **Polymers for Advanced Technologies**, 2017.

KAUR, A; KUMAR, R. Enhanced bactericidal efficacy of polymer stabilized silver nanoparticles in conjugation with different classes of antibiotics. **RSC Advances**, v. 9, p. 1095-1105, 2019.

KHARAGHANI et al. Electrospun antibacterial polyacrylonitrile nanofiber membranes functionalized with silver nanoparticles by a facile wetting method. **European Polymer Journal**, v. 108, p. 69-75, 2018.

LAWTON, J. W. Zein: A History of Processing and Use. **Cereal Chemistry**, v. 79, p. 1-18, 2002.

LUNA, C. B. B. et al. Desenvolvimento de Blendas Poliméricas Visando a Tenacificação dos Polímeros: uma Revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 67-80, 2015.

MACHADO, A. C. S. D. V. **Síntese e caracterização de oligômeros termossensíveis com grupos terminais reativos via polimerização radicalar controlada**. 2012. 188f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

MARQUES, N. N. et al. Efeito da temperatura de síntese sobre a massa molar do polímero termossensível poli (N-isopropilacrilamida). In: Reunião Anual da SBPC, 62, 2010, Natal (Rio Grande do Norte). **Anais da 62ª Reunião Anual da SBPC**. Natal. 2010.

MOHAMMADI, M. A. et al. Electrospun Nanofibers as Advanced Antibacterial Platforms: a Review of Recent Studies. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 2, p. 463-473, 2019.

MOURA, M. R. D. **Caracterização de matriz polimérica de hidrogel termosensível sintetizada a partir de alginato-Ca<sup>2+</sup> e poli(N-isopropil acrilamida), do tipo IPN e semi-IPN**. 2005. 120f. Dissertação (Mestrado em Química) - Pós-graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition**. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

PAIVA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2013.

PALIWAL, R.; PALAKURTHI, S. Zein in controlled drug delivery and tissue engineering. **Journal of Controlled Release**, n. 189, p. 108-122, 2014.

PARAMELLE, D. et al. A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra. **Analyst**. v. 139, p. 4855-4861, 2014.

PEREIRA, A. P. V.; VASCONCELOS, W. L.; ORÉFICE, R. L. Novos Biomateriais: Híbridos Orgânico-Inorgânicos Bioativos. **Polímeros**, v. 9, 1999.

RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**. v. 27, p. 76-83, 2009.

REZAEI, Z. B.; RASTEGARZADEH, S.; KIASAT, A. In-situ decorated silver nanoparticles on electrospun poly (vinyl alcohol)/chitosan nanofibers as a plasmonic sensor for azathioprine determination. **Colloids and Surfaces A**, v. 559, p. 266-274, 2018.

RIBEIRO, C. A. **Síntese e Caracterização de Hidrogéis termosensíveis baseados em Poli(N-isopropilacrilamida)**. 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciência em Materiais para Engenharia) – Programa de pós-graduação em materiais para engenharia. Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2012.

RIGO et al., Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 15, n. 1-2, p. 21-29, 1999.

SALLES, T. H. C. **Eletrofiação de Nanofibras de Blendas de Gelatina/PVP a Partir de Soluções de Água e Ácido Acético**. 2013. 83 f. Dissertação (Mestrado em Materiais e Processos de Fabricação) - Pós-graduação de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

SCHILD, H. G. Poly(N-isopropylacrylamide): Experiment, Theory and Application. **Progress in Polymer Science**, v. 17, n. 2, p. 163-249, 1992.

SELLING, G. W.; BISWAS, A. Blends of zein and nylon-6. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 20, p. 631–637, 2012.

SESSA, D. J. et al. Melt-processed blends of zein with polyvinylpyrrolidone. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 57–62, 2011.

SHANG, J.; GAO, X. Nanoparticle Counting: Towards Accurate Determination of the Molar Concentration. **Chemical Society Reviews**. v. 43, n. 21, p. 7267-7278, 2014.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v. 13, p. 171-192, 2001.

TORRES, S. J. V. **Obtenção de fibras de blendas zeína/PNIPAAm por eletrofição em solução**. 2015. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Materiais) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015.

VICENTE, A. C. B. et al. Influence of process variables on the yield and diameter of zein-poly(N-isopropylacrylamide) fiber blends obtained by electrospinning. **Journal of Molecular Liquids**, v. 292, p. 109971-109978, 2019.

VODNIK, V. V.; VUKOVIC, J. V.; NEDELJKOVIC, J. M. Synthesis and characterization of silver-poly(methylmethacrylate) nanocomposites. **Colloid Polym Sci**, v. 287, p. 847-851, 2009.

XU, M. et al. Synthesis and Comparative Biological Properties of Ag-PEG nanoparticles with tunable morphologies from janus to multi-core shell structure. **Materials**, v. 11, p. 1787, 2018.

ZHANG, D.; YANG, Y. Synthesis of 1-dodecanethiol-capped Ag nanoparticles and their high catalytic activity. **Appl. Phys. A**, v. 123, p. 82, 2017.