

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 29/08/2017.

Universidade Estadual Paulista – UNESP

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente

Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais – POSMAT

**“Filmes de borracha natural com nanopartículas de prata e pontos
quânticos”**

Caroline Silva Danna

Orientador: Prof. Dr. Aldo Eloizo Job

Presidente Prudente

2016



Caroline Silva Danna

**“Filmes de borracha natural com nanopartículas de prata e pontos
quânticos”**

Tese apresentada como requisito à obtenção do título de Doutor à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, área de concentração de Materiais Poliméricos, Híbridos e Nano-Estruturados, sob orientação do Prof. Dr. Aldo Eloizo Job.

Presidente Prudente

2016

Danna, Caroline Silva.

Filme de borracha borracha natural com nanopartículas de prata e pontos quânticos / Caroline Silva Danna, 2016

110 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Eloizo Job

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, 2016

1. Borracha Natural. 2. Nanopartículas de Prata. 3. Pontos Quânticos. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. II. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE CAROLINE SILVA DANNA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS.

Aos 29 dias do mês de fevereiro do ano de 2016, às 14:00 horas, no(a) Faculdade de Ciências e Tecnologia - UNESP/Presidente Prudente, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. ALDO ELOIZO JOB - Orientador(a) do(a) Departamento de Física / FCT/UNESP - Câmpus de Presidente Prudente, Prof. Dr. RODRIGO FERNANDO BIANCHI do(a) Instituto de Ciências Exatas e Biológicas/ Departamento de Física / Universidade Federal de Ouro Preto, Prof^a. Dr^a. DALITA GOMES SILVA MORAES CAVALCANTE do(a) FCT - UNESP de Presidente Prudente / Departamento de Física, Química e Biologia, Prof. Dr. ANTONIO HERNANDES CHAVES NETO do(a) Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Prof. Dr. FELIPE SILVA BELLUCCI do(a) Secretaria de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação - SETEC / Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação - MCTI, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da TESE DE DOUTORADO de CAROLINE SILVA DANNA, intitulada **Filmes de borracha natural com nanopartículas de prata e pontos quânticos**. Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: Aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. ALDO ELOIZO JOB

Prof. Dr. RODRIGO FERNANDO BIANCHI

Prof^a. Dr^a. DALITA GOMES SILVA MORAES CAVALCANTE

Prof. Dr. ANTONIO HERNANDES CHAVES NETO

Prof. Dr. FELIPE SILVA BELLUCCI

Dedico este trabalho à minha mãe,
Clzei Catarina Silva, que mesmo
estando longe geograficamente,
sei que sempre está ao meu lado
para tudo e para sempre.

Se o caminho era este, não sei! Sei que estou bem longe de onde parti e sei bem como cheguei até aqui. O 'estranho' é que a chegada não se parece com o que imaginei. Será que passou de forma despercebida? Ou será que de tanto caminhar sonhando alonguei a medida? Mas sei que é tempo de registrar a batalha vencida. E de fato, depois de tanto e tudo, sou a mesma menina que tropeça ao caminhar apressada, olhando o horizonte que teima em se afastar. Mesmo assim, prossigo no caminho. Agora novo caminho. Vou descobrindo que há distâncias maiores e que só existe fim para quem para de sonhar!

AGRADECIMENTOS

- *Agradeço a minha mãe, Cleci, que amo muito e que sempre me apoiou em tudo mas que também me puxou a orelha nas horas mais necessárias, e essas horas ela sabia sem nem mesmo eu falar. Acho que é coisa de Mãe!*
- *Agradeço imensamente ao Prof. Aldo que me orientou, me aconselhou e me mostrou o caminho do amadurecimento como profissional e pessoal; agradeço por toda a confiança que depositou em mim, mesmo quando eu não tinha certeza que podia;*
- *Agradeço aos integrantes da banca, tanto da qualificação quanto da defesa, que são Dr. Aldo E. Job (orientador), Prof. Dr. Rodrigo F. Bianchi, Dr. Dalita G. S. M. Cavalcante, Prof. Dr. Antonio H. C. Neto e Dr. Felipe S. Bellucci, assim como os suplentes o Prof. Dr. Deuber L. S. Agostini e o Prof. Dr. Elton A. P.dos Reis.*
- *Agradeço ao Prof. Dr. Ricardo F. Aroca que me recebeu durante o período de estadia (doutorado sanduíche) na University of Windsor no Canadá;*
- *Agradeço, de forma especial, ao Dr. Igor O. Osorio Román que durante a estadia no Canadá me ajudou com as necessidades diárias no laboratório além de colaborar com a realização de um dos capítulos desse trabalho abrindo para mim e para o grupo LTBA uma nova possibilidade de linha de pesquisa.*
- *Agradeço a Glenda Gonçalves de Souza e extendo o agradecimento a todos que me auxiliaram na realização das técnicas de caracterização apresentadas nesse trabalho.*
- *Agradeço a todos da Família Silva (minha família), com quem posso sempre contar e sei que são meu porto seguro;*
- *Agradeço em especial as minhas primas, Lizandra (Mala) e Luciana (Lolo), pela amizade de sempre e por me aguentarem todo o tempo, amo vocês!*

- *Agradeço minhas amigas (os) e companheiras (os) de vida e/ou república Edilene, Talita (Bracho), Marcos (Tone/Vizinho), Maria Luisa (Malu), Nathália, Gabriele (Gabi), Lucas (Lulu), saibam que vocês fazem meus dias mais leves.*

- *Agradeço as companheiras de laboratório e vida Leandra que sempre me apoiou, Dalita que me ensinou tanto sobre assuntos diversos, a Andressa que é a melhor I.C. que eu conheço, e a todos os outros com quem convivo diariamente no Morumbi e também aos que já passaram por lá desde quanto cheguei, pois a convivência com vocês é essencial para as tomadas de decisão para o futuro;*

- *Agradeço aos bons amigos (muchachada) de Canadá Igor, José Pedro Simão (Juca), Paulo Henrique Cardoso, Laura Carvalho de Barros, Adriana Terra e Paulo Kastrup, que fizeram do meu ano de 2014 um ano mais que especial.*

- *Agradeço a Capes e ao CNPq/Ciência sem Fronteira pelo apoio financeiro.*

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Introdução	3
Capítulo 2 - Revisão Bibliográfica.....	6
2.1 <i>Látex e Borracha Natural</i>	<i>6</i>
2.2 <i>Nanopartículas de Prata.....</i>	<i>9</i>
2.3 <i>Biomateriais.....</i>	<i>11</i>
2.4 <i>Pontos Quânticos</i>	<i>14</i>
Capítulo 3 – Objetivos	18
Capítulo 4 - Técnicas de Caracterização	19
4.1 <i>Espectroscopia de Ultravioleta Visível (UV-Vis)</i>	<i>19</i>
4.2 <i>Espectroscopia de Infra Vermelho (FT-IR)</i>	<i>23</i>
4.2. <i>Espectroscopia de Infravermelho modo ATR</i>	<i>24</i>
4.3 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</i>	<i>25</i>
4.4 <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....</i>	<i>27</i>
4.5 <i>Testes de Citotoxicidade</i>	<i>28</i>
4.6 <i>Teste de Genotoxicidade</i>	<i>30</i>
Capítulo 5 - Materiais e Métodos	32
5.1 <i>Obtenção do Látex</i>	<i>32</i>
5.2 <i>Membrana de Borracha Natural</i>	<i>33</i>

5.3	<i>Solução de Nitrato de Prata</i>	34
5.4	<i>Processo de Síntese e Obtenção das Membranas de BN/Ag</i>	35
5.5	<i>Espectroscopia de Ultra Violeta Visível</i>	36
5.6	<i>Espectroscopia de Infravermelho modo ATR</i>	36
5.7	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura</i>	36
5.8	<i>Microscopia de Força Atômica</i>	36
5.9	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	36
5.10	<i>Linhagem Celular</i>	37
5.11	<i>Teste de Citotoxicidade</i>	37
5.11.1	Obtenção do extrato líquido (EL)	37
5.11.2	Ensaio MTT	38
5.11.3	Contato Direto	40
5.11.4	Adesão Celular	41
5.12	<i>Teste de Genotoxicidade</i>	42
5.13	<i>Espectroscopia de Emissão Óptica acoplado a Plasma Induzido (ICP-OES)</i>	45
5.14	<i>Síntese dos QDs-CdTe</i>	45
5.14.1	Preparação da Solução Tampão de Citrato/Borax	45
5.14.2	Síntese dos Pontos Quânticos de Telureto de Cádmio	46
5.14.3	Concentração dos QDs-CdTe	47
5.15	<i>Preparação dos Filmes de Borracha Natural e QDs-CdTe</i>	47

Capítulo 6 - Resultados e Discussões.....	49
6.1 <i>Caracterização das membranas de BN/Ag.....</i>	49
6.1.1 Espectroscopia de Ultravioleta Visível (UV-Vis).....	49
6.1.2 Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) modo ATR.....	50
6.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise Elementar por EDS	56
6.1.4 Microscopia de Força Atômica (AFM).....	59
6.1.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	60
6.1.6 Análise dos Extratos Líquido.....	62
6.2 <i>Avaliação da Citotoxicidade.....</i>	63
6.2.1 Testes de Citotoxicidade para o Filme de BN Pura	63
6.2.2 Testes de Citotoxicidade para os Filmes de BN pura e BN/Ag	67
6.2.3 Contato Direto.....	68
6.2.4 Adesão Celular.....	71
6.3 <i>Avaliação da Genotoxicidade</i>	73
6.4 <i>Filmes Flexíveis Fluorescentes.....</i>	74
6.4.1 Espectroscopia de Ultravioleta-Visível.....	76
6.4.2 Espectroscopia de Fluorescência	77
6.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise Elementar por Raios –X.....	78

6.4.4 Microscopia de Força Atômica (AFM).....	80
Capítulo 7 – Conclusão.....	82
Capítulo 8 – Perspectivas Futuras.....	85
Capítulo 9 – Referências Bibliográficas.....	86

Índice de Figuras

Figura 1 - Imagem ilustrativa para comparativo de escala de tamanho. [2].....	3
Figura 2 - Dados do Mercado Internacional de Nanocompósitos entre os anos de 2012 a 2018. Adaptado de [5].	4
Figura 3 - Processo de sangria da seringueira e em destaque o látex coletado.	6
Figura 4 - Modelo proposto para partícula de borracha natural [22].	7
Figura 5 - Representação esquemática da estrutura química do poli-cis-isopreno [11].....	8
Figura 6 – Imagens de um sistema indutor de neoformação tecidual utilizando a borracha natural e seguimento clínico de um paciente que fez uso do material [32]	9
Figura 7 - Esquema representativo de mecanismos de ação antimicrobianas da prata. Adaptado de Li et al [47].	11
Figura 8 - Exemplos de biomateriais. Em (A) pele artificial ^[1] ; (B) prótese metálica de joelho ^[1] ; (C) e (D) estruturas de polietileno para reconstrução auricular e implante de queixo ^[1] ; (E) implante dentário.	13
Figura 9 - Infográfico sobre as etapas para a criação de um biomaterial [Adaptado de]. .	14
Figura 10 - (a) Estrutura representativa para um quantum dot; (b) distintas soluções de quantum dots; (c) quantum dots em estado sólido[67, 68].	16
Figura 11 –Esquema ilustrativo para relação entre o tamanho de nanopartícula e comprimento de onda de emissão. [67, 68 e 69]	17
Figura 12 - Representação da oscilação da nuvem eletrônica da nanopartícula interagindo com um campo elétrico externo.	19
Figura 13 - Esquema geral de um espectrofotômetro.....	21

Figura 14 - Equação para a intensidade da absorbância.	21
Figura 15 - Representação da atenuação do feixe incidente após interação com a amostra.	22
Figura 16 - Equação da Lei de Beer.	22
Figura 17 - Quadro de frequências na região do espectro de infravermelho. Fonte: https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/InfraRed/ infrared.htm [59].	24
Figura 18 - Esquema ilustrativo da emissão de raios-X [62].....	26
Figura 19 - Princípio de funcionamento do equipamento de microscopia eletrônica de varredura (MEV).	27
Figura 20 - Esquema Ilustrativo de um Equipamento de DSC.	27
Figura 21 - Imagem mostrando o processo de sangria para a coleta de látex. Local: Fazenda Indiana.	33
Figura 22 - Látex em placa de Petri antes e depois do processo de secagem.	34
Figura 23 - Membranas de BN pura e BN/Ag nos diferentes tempos de redução.	35
Figura 24 - Esquema do teste de MTT.	39
Figura 25 - Equema do processo de fixação das células sobre os filmes.	42
Figura 26 - Esquema ilustrativo do ensaio de cometa.....	44
Figura 27 - Soluções de QDs-CaTe (a) sem incidência de luz UV; (b) com incidência de luz UV. As soluções estão dispostas em ordem crescente de tempo de síntese....	47
Figura 28 - Ilustração do processo de preparação do filme de BN/QDs.	48
Figura 29 - Espectros de UV-Vis para os filmes de borracha natural e prata.....	50
Figura 30 - Espectros de FT-IR para os filmes de borracha natural pura e com nanopartículas de prata nos diferentes tempos de redução.	51

Figura 31 - Espectros FT-IR/ATR para os filmes de BN pura e BN/Ag nos diferentes tempos de redução. Estudo da região entre 4000 cm^{-1} a 2000 cm^{-1}	53
Figura 32 - Espectros FT-IR/ATR para os filmes de BN pura e BN/Ag nos diferentes tempos de redução. Estudo da região entre 1600 cm^{-1} a 800 cm^{-1}	54
Figura 33 - Esquema de um possível modelo de reação para a formação de AgNPs no filme de BN.....	55
Figura 34 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para o filme de borracha natural pura (a) formada pelos elétrons secundários (SE) e (b) formada pelos elétrons retroespalhados (backscattering electron) BSE..	56
Figura 35 - (a) gráfico da análise elementar e (b) tabela de porcentagens e atribuições dos picos obtidos para o filme de BN pura.	57
Figura 36 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para o filme BN/Ag 120'.	58
Figura 37 - Imagens de Microscopia de Força Atômica (AFM) para os filmes de BN pura, BN/Ag30', BN/Ag60', BN/Ag90' e BN/Ag120'.....	59
Figura 38 - Comparativo entre as curvas de DSC para os filmes de BN pura e BN/Ag nos diferentes tempos de redução.....	61
Figura 39 – Resultados das análises dos extratos líquidos por Espectroscopia de Emissão Óptica acoplado a Plasma Induzido (ICP).....	62
Figura 40 - Viabilidade celular da linhagem CCD 1059sK para o extrato líquido com BN pura em meio de cultura.	64
Figura 41 - Comparativo visual para as células CCD 1059 sK expostas ao extrato com meio de cultura, no início do experimento (a), (c) e (e); e depois de transcorrido o período de 24 horas (b), (d) e (f).	65

Figura 42 - Viabilidade celular da linhagem CCD 1059 sK para o extrato de BN pura em água.....	66
Figura 43 - Comparativo visual para as células expostas ao extrato com água, no início do experimento (a) e (c) e depois de transcorrido o período de 24 horas (b) e (d).	67
Figura 44 - Gráfico da porcentagem de viabilidade celular para os extratos obtidos para os filmes de BN pura, BN/Ag30', BN/Ag60', BN/Ag90' e BN/Ag120'.....	68
Figura 45 - Foto da medida dos halos, com o auxílio de uma régua milimétrica em todas as condições- testes.	69
Figura 46 - Imagens das células visualizadas através de microscópio óptico no aumento de 100X, para todas as condições testadas.	70
Figura 47 - Imagens de MEV para o filme de BN (A) sem células aderidas e (B) com as células aderidas na superfície.	71
Figura 48 - Imagens de MEV em diferentes magnitudes para as distintas amostras com células aderidas na superfície.	72
Figura 49 – Teste do Cometa para os filmes de BN e BN/Ag nos diferentes tempos de redução. Na parte superior do gráfico se pode observar as imagens do cometa para o controle positivo (a); controle negativo (b); para o filme de BN pura (c) e a BN/Ag120' (d).	73
Figura 50 - Mistura do látex com solução de QDs. As placas estão dispostas de forma crescente de acordo com o tempo de síntese dos QDs.	75
Figura 51 - Filmes de BN/QDs-CdTe após o tempo de secagem (a) luz ambiente, e (b) iluminadas com lâmpada UV.....	75

Figura 52 - Espectroscopia UV-Vis para os filmes de BN pura e para as diferentes membranas de BN/QD. Inset: imagem das membranas com e sem a incidência de luz ultravioleta.	76
Figura 53 - Espectro de fluorescência dos filmes BN/DQ2, BN/QD3 e BN/QD4. Linha de excitação 514 nm.	77
Figura 54 - Imagem de MEV para a membrana de BN/QD.	78
Figura 55 – Imagem de microscopia de transmissão eletrônica (TEM) da solução de DQs. [96]	80
Figura 56 - Imagens de AFM pra os filmes de BN Pura e BN/QD1, BN/AD2, BN/QD3 e BN/QD4.....	81

Índice de Tabelas

Tabela I - Classificação dos Danos ao DNA. [85]	31
Tabela II - Grau de citotoxicidade baseado no tamanho do halo observado macroscopicamente.....	41
Tabela III - Grau de citotoxicidade baseado no nas condições observadas microscopicamente das células.....	41
Tabela IV - Designação para os filmes de BN e BN/Ag.	52
Tabela V - Valores para a análise elementar da membrana de BN/Ag120'.	58
Tabela VI - Valores em cm do tamanho dos halos encontrados entre as células e as membranas testadas e a classificação de citotoxicidade correspondente baseada na ISO 10993/2009.....	69
Tabela VII - Resultado das observações microscópicas das células em todas as condições experimentais, baseado na classificação de grau de citotoxicidade da ISO 10993/2009.	70
Tabela VIII - Resultado da análise elementar do filme BNQD4.	79

DANNA, Caroline Silva. Filmes de borracha natural com nanopartículas de prata e pontos quânticos. 2016. Tese (Ciências e Tecnologia de Materiais) – UNESP, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, 2016.

RESUMO

Filmes de borracha natural (BN), fabricadas a partir do látex da seringueira *Hevea brasiliensis*, foram utilizadas neste trabalho como substratos ativos para a obtenção de nanopartículas de prata (AgNPs) e como substrato inativo para nanopartículas semicondutoras fluorescentes, os pontos quânticos ou *quantum dots* (QDs). O filme de BN agiu como um reator para a síntese das AgNPs, sendo ele o agente redutor, estabilizador e substrato destas. A síntese pode ter ocorrido devido a interação de amidas, provenientes das proteínas presentes no látex, com os íons prata, provenientes da dissociação do nitrato de prata (AgNO_3) em água, dando origem a um processo de síntese verde de nanopartículas (NP). O processo de síntese foi realizado por imersão dos filmes de BN na solução de AgNO_3 por diferentes tempos, sendo os filmes obtidos após este processo denominados filmes de BN/Ag com distintas concentrações de AgNPs, sendo estas com formato esférico e tamanho variando entre 25 nm a 60 nm. Estudos de citotoxicidade e genotoxicidade *in vitro*, foram realizados utilizando as linhagens celulares CCD 1059 sk (fibroblasto humano normal) e CHO K1 (fibroblasto de ovário de hamster) e a avaliação dos resultados destes ensaios demonstram que os filmes, tanto de BN e de BN/Ag, não geram danos ao metabolismo celular para as linhagens estudadas e também não se observou dano ao DNA de tais células. Ainda neste trabalho foi obtido filmes flexíveis fluorescentes devido a mistura líquido-líquido do látex de borracha natural com a solução de QDs de Telureto de Cádmio; após o processo de secagem obteve-se um filme flexível fluorescente com emissão em diferentes comprimentos de onda do espectro visível sendo que as amostras em estado sólido apresentam emissão de igual comprimento de onda das soluções de QDs, demonstrando assim

a boa miscibilidade entre os dois materiais, podendo então a BN ser aplicada como substrato inerte para tais nanopartículas a fim de se obter um filme flexível fluorescente.

Palavras-chave: borracha natural, nanopartículas de prata, síntese verde de nanopartículas, citotoxicidade, pontos quânticos, *quantum dots* Cd/Te, filme flexível fluorescente.

ABSTRACT

Natural rubber films (NR), made from latex of *Hevea brasiliensis*, were used in this study as active substrates to obtain silver nanoparticles (AgNPs) and as inactive substrate for fluorescent semi-conductor nanoparticles, quantum dots (QDs). The NR film plays as a reactor, reduce agent, stabilizer and substrate for AgNPs synthesis. The synthesis may be due to interaction amides derived from proteins present in latex, with the silver ions from the dissociation of silver nitrate (AgNO_3) in water giving rise to a process of green synthesis of nanoparticles (NP). The synthesis process was carried out by immersing the BN film on AgNO_3 solution for different times, and the films obtained after this process called BN films/Ag with different concentrations of AgNPS, which are spherical shape and size between 25 nm 60 nm. Cytotoxicity and genotoxicity studies *in vitro* were performed using the cell line CCD 1059 sk (normal human fibroblast) and CHO-K1 (hamster ovary fibroblast) the results of these assays demonstrate that films, BN and BN/Ag, do not generate damage to cell lineage metabolism and also there was no damage to the DNA of these cells. Still, in this work, was obtained flexible fluorescent films from liquid-liquid mixture between the natural rubber latex and QDs solution; after the drying process there was obtained a fluorescent flexible film and those emissions can be observed for different wavelengths in the visible spectrum while the samples in the solid state, exhibit same the emission of QDs solutions, thus demonstrating the good miscibility between the two materials, then the BN may be applied as inert substrate for this nanoparticles in order to obtain a flexible fluorescent film.

Key-words: natural rubber, silver nanoparticles, green synthesis of nanoparticles, cytotoxicity studies, Cd/Te quantum dots, flexible fluorescent films.

Capítulo 1 – Introdução

1.1 Introdução

A nanotecnologia utiliza de materiais e/ou dispositivos onde pelo menos um dos materiais está em escala nanométrica, ou seja, de materiais que variam de 0,1 até 100 nanômetros de tamanho; é uma ciência multidisciplinar que envolve diferentes ramos de pesquisa, como a Física, Química, Biologia, Medicina e Engenharia [1,2]. Na Figura 1 é possível observar a ilustração de uma escala comparativa entre tamanhos de algumas estruturas que apresentam dimensões de 0,1 nm como os átomos de silício e uma espécie de formiga que apresenta dimensões na escala de centímetros.

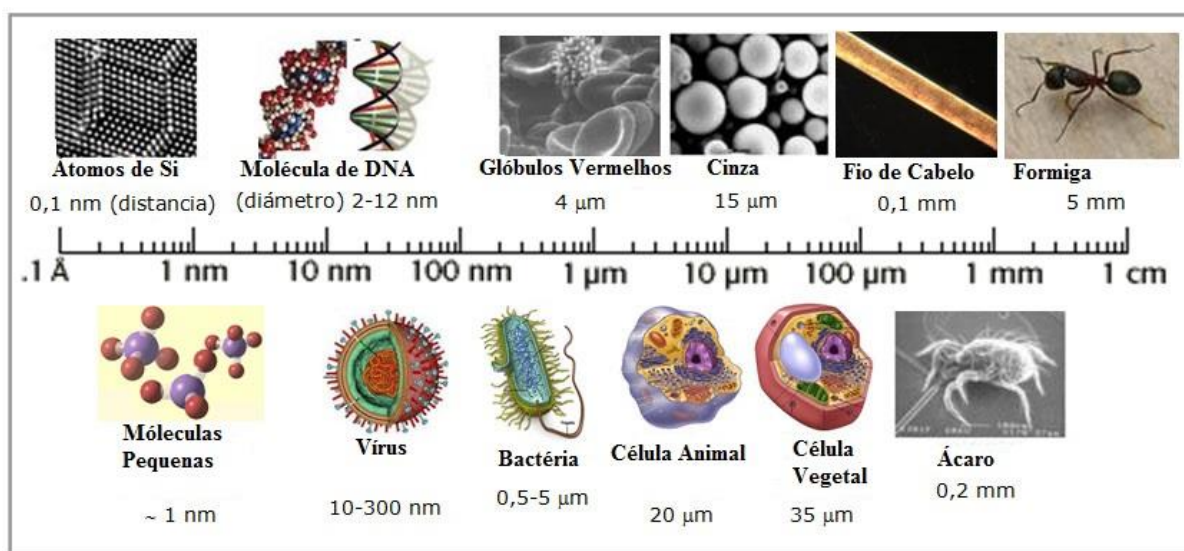


Figura 1 - Imagem ilustrativa para comparativo de escala de tamanho. [2]

O conceito de Nanotecnologia tem sua origem no século XX, com Richard Feynman, que tratava da importância de materiais em escala atômica, e este conceito pode ter sido o precursor para estudos de desenvolvimento de equipamentos com precisão atômica para que os materiais nanométricos pudessem ser mais bem conhecidos [3]. Assim, com o desenvolvimento e domínio das técnicas de produção e caracterização de nanomateriais cada vez mais se pode controlar, de forma precisa, a morfologia das nanoestruturas dando assim melhor direcionamento para aplicações em variados campos da ciência; a possibilidade de

“ver” as estruturas nanométricas possibilita que essas sejam mescladas com estruturas macrométricas para gerar novos materiais, que são chamados nanocompósitos.

Um material denominado compósito é uma classe de materiais que apresentam ao menos duas fases, sendo uma das fases contínuas, a matriz, e a outra dispersa. As propriedades das fases conjuntas se diferem das propriedades de cada fase individual, e esse fato faz do compósito um material singular, assim quando uma das fases do compósito está em escala nanométrica, este compósito é denominado nanocompósito e apresenta forte crescimento no cenário industrial, principalmente, devido às propriedades mecânicas á ele associados, tais como leveza e resistência á aplicação de altas cargas. Como exemplo, podemos citar a utilização de um nanocompósito, tendo plástico como matriz polimérica e fibras de carbono como agente reforçador, utilizado na fabricação da parte exterior da BMW I3[4].

A produção de nanocompósitos poliméricos nos dias de hoje ultrapassa a produção de alumínio, cobre e todos os compósitos não-ferrosos [5] sendo que em 2105 a produção chegou próximo a seiscentos milhões de toneladas e estima-se que a receita gerada seja superior à 3 bilhões de dólares americanos[5], essas informações e a estimativa de produção e receita gerada até o ano de 2018 está apresentada na Figura 2.

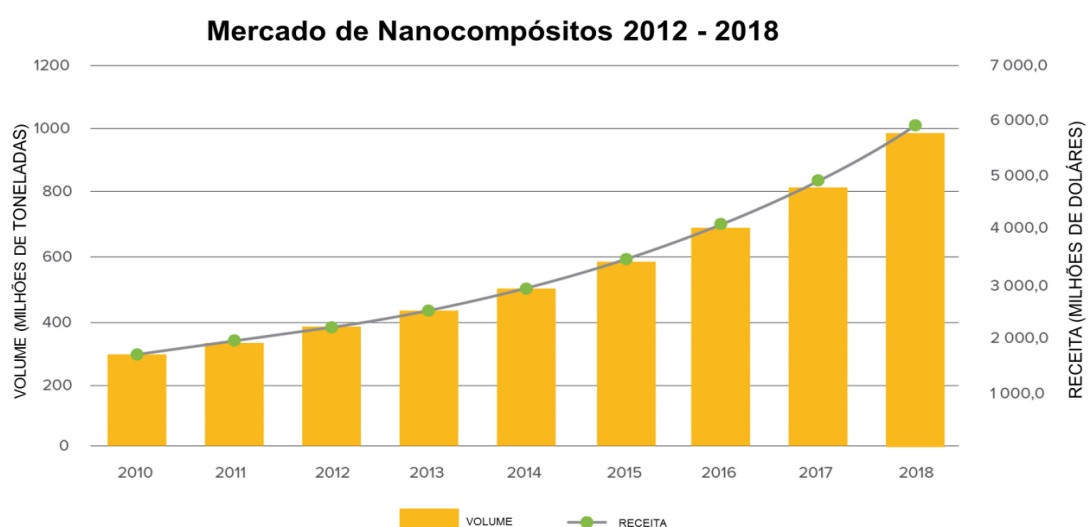


Figura 2 - Dados do Mercado Internacional de Nanocompósitos entre os anos de 2012 a 2018. Adaptado de [5].

Nanocompósitos com uma das fases sendo nanopartículas, em especial as metálicas e a outra fase polimérica, recebem atenção diferenciada devido a gama de possíveis aplicações como, sensores de vários tipos [6, 7] à aplicações biológicas [8, 9] como por exemplo a utilização de nanopartículas de ouro e prata para fabricação de um biossensor ultrasensível para identificação de DNA em soluções de baixa concentração [10].

Os materiais poliméricos também empregados em pesquisas nas áreas que englobam a nanotecnologia como matriz para as nanoestruturas [11, 12] como por exemplo a utilização da borracha natural como agente redutor para nanopartículas de ouro [11] ou matriz para sistema controlado de liberação da nanopartículas de prata (AgNPs) [13] e também a utilização do látex para a obtenção de coloides de prata [14] não sendo necessário a utilização de outros agentes redutores, isso faz da borracha natural um material promissor para essa área de aplicação.

A borracha natural é um polímero obtido da seiva da árvore da espécie *Hevea brasiliensis*, mais conhecida como seringueira e os produtos fabricados usando este polímero como matéria-prima atingem um mercado amplamente diversificado que vão desde artefatos de uso hospitalar (luvas cirúrgicas, cateteres, garrotes, próteses entre outros); de uso na indústria da moda (tecidos impermeáveis, elásticos para diversos usos, etc.) [15, 16]; indústria automobilística (piso antiestático [17], pneus, coxins, câmara de ar, etc.). Algumas das características que fazem deste polímero indispensável no cenário industrial atual são: a alta elasticidade, flexibilidade, resistência à abrasão e corrosão, impermeabilidade, e também pode ser considerado um material de baixo custo e de fácil aquisição. Visto as inúmeras possibilidades de aplicação de tal polímero, este foi utilizado na obtenção dos filmes obtidos e estudados neste trabalho dando origem há dois diferentes nanocompósitos poliméricos, um com nanopartículas metálicas de prata que foi utilizado para estudos biológicos e outro com nanopartículas semicondutoras fluorescentes para obtenção de um filme flexível fluorescente.

Capítulo 7 – Conclusão

Para o trabalho apresentado foi realizado um estudo bibliográfico englobando os temas nele abordado, tais como látex, borracha natural e suas aplicações diversas, avaliações e citotoxicidade e biomateriais, filmes fluorescentes flexíveis, *quantum dots* e aplicações.

O filme de borracha natural age como substrato ativo no processo de síntese de nanopartículas de prata podendo ser considerada um reator para a reação química de formação destas.

A presença das nanopartículas metálicas de prata no filme de BN é confirmada por espectroscopia de Ultravioleta Visível, devido o aparecimento de uma banda simétrica, referente ao *plasmon* de superfície dessas partículas, essa banda, centrada em 430 nm é um indicativo característico deste metal em específico. É possível observar também que o valor máximo da absorbância para as bandas de cada filme se desloca para maiores comprimentos de onda, indicando crescimento de partícula, então todo o processo de nucleação, crescimento e estabilização da nanopartícula ocorre na estrutura do filme, ficando este “impregnado” com as nanopartículas metálicas, assim podemos concluir que as AgNPs se formam no filme de BN e todo o processo de crescimento acontece nele.

Com o auxílio da Espectroscopia de Infravermelho foi possível observar algumas mudanças estruturais no filme, o que nos leva a propor um mecanismo de como as AgNPs estão se formando na matriz polimérica. Algumas bandas, (1654 cm^{-1} , 1445 cm^{-1} , 1374 cm^{-1} , 1307 cm^{-1} e 1240 cm^{-1}), relacionadas ao grupamento funcional amida (R-CO-NR_2), ligada às proteínas presente na borracha natural, sofrem diminuição de intensidade, sendo este um indicativo do desaparecimento de tais grupos com o transcorrer do tempo de síntese e portanto de formação de nanopartículas.

Por outro lado, é possível notar o aparecimento de uma banda em 1515 cm^{-1} que aumenta de intensidade a medida que o tempo de redução aumenta, essa banda é

característica do grupamento amina (R_2-NH) e seu aparecimento é diretamente ligada ao aparecimento deste grupo funcional, que seria um dos possíveis produtos de reação entre o grupo amida e íons de prata (Ag^+); portanto sobre o ponto de vista químico, podemos associar estes grupos como responsáveis pelo processo de redução do íon prata (Ag^+) em prata metálica (Ag^0) no filme de borracha natural.

Analisando as imagens obtidas com o microscópio eletrônico de varredura (MEV) foi possível demonstrar a presença das AgNPs na estrutura do filme de BN, e estimar o tamanho das mesmas, que ficam em torno de 25 nm a 60 nm e a análise elementar por EDS confirma a identidade dessas NPs como sendo de prata.

A presença dessas nanopátulas na estrutura do filme gera modificações em sua superfície, diminuindo a rugosidade da mesma, comprovada nas imagens obtidas por microscopia de força atômica (AFM), e com isso podemos propor que as AgNPs se formam na estrutura do filme ocupando suas irregularidades superficiais.

A análise térmica, realizada por DSC, mostra que o processo de síntese, que é realizado em solução de nitrato de prata à temperatura de 80°C não gera danos à estrutura da borracha natural, uma vez que o valor para a transição vítrea se mantém inalterado mesmo após o maior tempo de síntese que é de duas horas.

Para a avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade foram obtidos extratos líquidos para os diferentes filmes obtidos com AgNPs, ou seja, os filmes foram colocadas em meio líquido para se conhecer se essas eram capazes de liberar prata para tal líquido; a análise desses extrato foi realizada com o auxílio da técnica de Espectroscopia de Emissão Óptica acoplado a Plasma Induzido (ICP-OES), onde se pode identificar que apenas os filmes de BN/Ag30' e BN/Ag60' são capazes de liberar prata em solução, no entanto essas quantidades são baixas, em torno de 0.17 $\mu g/mL$ e 0.08 $\mu g/mL$ respectivamente; os filmes que foram obtidas com maiores tempos de redução, BN/Ag90' e BN/Ag120' não liberaram e/ou a

liberação de prata ficou abaixo do limite de detecção do equipamento que é de 0.029 µg/mL.

Em relação aos testes de citotoxicidade foi possível verificar que os extratos líquidos, utilizando o meio de cultura como veículo extrator, e a membrana de BN pura como material sólido, são citotóxicos para as linhagem celular estudada, resultado este que condiz com o apresentado na literatura. Assim, o veículo extrator utilizado foi a água, uma vez que este não gera danos metabólicos às células utilizadas; os resultados utilizando água como veículo extrator, e as membranas de BN pura e BN/Ag nos diferentes tempos de redução, não apresentam citotoxicidade, para a linhagem celular estudada. Assim pode-se concluir que as membranas de BN pura e com diferentes concentrações de prata, BN/Ag30', BN/Ag60', BN/Ag90' e BN/Ag120', não são citotóxicas, apresentando viabilidade celular acima dos 70%.

A avaliação da citotoxicidade por MTT foi complementada com as análises de contato direto e adesão celular que ao se observar os resultados se confirma a não citotoxicidade dos filmes de BN e BN/Ag.

Os testes de danos ao DNA, mostrou que as membranas contendo AgNPs também não são passivas de causar danos ao código genético das linhagens celulares estudadas, podendo-se então concluir que esse material também não é genotóxico.

Já em relação às membranas flexíveis fluorescentes, os resultados apresentados referem-se a um estudo inicial sobre a possibilidade de aplicação de látex de borracha natural para a formação de um substrato flexível para os QDs, uma vez que ao se agregar uma solução de QDs ao látex suas propriedades fluorescentes são mantidas. Assim, levando em consideração os resultados apresentados, pôde-se concluir que a incorporação dos *quantum dots* na matriz polimérica flexível de borracha natural, foi possível e que a morfologia do filme não é afetada, gerando então um filme flexível fluorescente.

Capítulo 9 – Referências Bibliográficas

-
- [1] BIJU, V. et al. Semiconductor quantum dots and metal nanoparticles: syntheses, optical properties, and biological applications. *Anal Bioanal Chem*, 391:2469–2495, 2008.
- [2] Adaptada de: *Química Viva*, vol 11, nº 3, 2012.
- [3] FEYNMAN, R, P. There's plenty of room at the bottom. *Engineering and Science*, v. 23, p. 22 – 36, 1960.
- [4] Acesso em: <http://www.bmwusa.com/bmw/BMWi>.
- [5] Acesso em: <http://ocsial.com/en/application/nanocomposites>
- [6] RASHEED, P.A.; Sandhyarani, N. Graphene-DNA electrochemical sensor for the sensitive detection of BRCA1 gene. *Sensors and Actuators B*; 204; 777–782; 2014.
- [7] LIN, J-H.; TSENG, W-L. Ultrasensitive detection of target analyte-induced aggregation of gold nanoparticles using laser-induced nanoparticle Rayleigh scattering. *Talanta*; 132; 44–51; 2015.
- [8] RATHNAYAKE, I. *et al.* Imparting Antimicrobial Properties to Natural Rubber Latex Foam via Green Synthesized Silver Nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*; 2014.
- [9] MAKWANA, B.A. *et al.* Highly stable antibacterial silver nanoparticles as selective fluorescent sensor for Fe³⁺ ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*; 134; 73–80; 2015.
- [10] GUO, L. *et al.* Single plasmonic nanoparticles for ultrasensitive DNA sensing: From invisible to visible. *Biosensors and Bioelectronics*. 79, 266–272, 2016.
- [11] CABRERA, F. C. *et al.* Portable smart films for ultrasensitive detection and chemical analysis using SERS and SERRS. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2011.
- [12] HU, Z. *et al.* In-situ synthesis of metal nanoparticle-polymer composites and their application as efficient interfacial materials for both polymer and planar heterojunction perovskite solar cells. *Organic Electronics*, 27, 46-52, 2015.
- [13] GUIDELLI, E. J. *et al.* Silver nanoparticles delivery system based on natural rubber latex membranes. *Journal of Nanopart Research.*, 15, 1536, 2013.
- [14] GUIDELLI, E. J. *et al.* Green synthesis of colloidal silver nanoparticles using natural rubber latex extracted from *Hevea brasiliensis*. *Spectrochimica Acta Part A* 82; 140– 145; 2011.
- [15] WONG, Y; YUEN, H; LEUNG,C; KU, C; LAM, H. Selected applications of nanotechnology in textiles autex. *China : Research Journal*, 6, 1, 2006.
- [16] XIN, J. H. *Nanotechnology for Textiles and Apparel*. China: The Technology Symposium for Textiles and Apparel 2009.
- [17] REIS, E. A. P.; RUIZ, M. R.; JOB, A. E. ; AGOSTINI, D. L. S. ; BUDEMBERG, E. R. ; SANTOS, R. J. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201500153, "Compósito com propriedade antiestática à base de resíduos de couro". Data de depósito: 23/01/2015.
- [18] SETHURAJ, M.R. *Natural Rubber, Biology, Cultivation and Technology*. Elsevier Sci., Netherlands, 1992.
- [19] SOUTHORN, W.A.; YIP, E. J. *Rubb. Res. Inst. Malaya*, 20, 1968.
- [20] RIPPEL, M.M.; GALEMBECK, F. *Nanostructures and Adhesion Rubber: New Era for Classic Journal of Brazilian Chemical Society*, 20; 6;1024-1030, 2009.

-
- [21] SETHURAJ, M.R.; MATHEW, N.M. Natural Rubber. Biology, Cultivation and Thechnology. Elsevier Science, Netherlands, 1992.
- [22] NAWAMAWAT, K. et al. Surface nanostructure of Hevea brasiliensis natural rubber latex particles. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects; 390; 157-166; 2011.
- [23] TARACHIWIN, L. *et al.* Structural Characterization of r-Terminal Group of Natural Rubber. 2. Decomposition of Branch-Points by Phospholipase and Chemical Treatments. Biomacromolecules. 6; 4; 1858-63, 2005.
- [24] BITTENCOURT. A, M, B. et al. Aggregation Stability Of Natural Rubber Latex With Low Dry Rubber Content (DRC) in Acidic Medium. Polymer Bulletin, v. 40, n. 1, p. 111-116, jan. 1998.
- [25] FERREIRA, M. *et al.* Angiogenic Properties of Natural Rubber Latex Biomembranes and The Serum Fraction of *Hevea brasiliensis*. Brazilian Journal of Physics, 39, 3, September, 2009.
- [26] PINHO, E.C.C.M. de et al. Uso Experimental da Biomembrana de Látex na Reconstrução Conjuntival. Arquivos Brasileiros de Oftalmologia, n. 67, n. 1, p. 27-32, 2004.
- [27] ISSA , J.P.M. *et al.* Bone Repair Investigation Using rhBMP-2 and Angiogenic Protein Extracted From Latex. MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE 75; 145–152, 2012.
- [28] RATHNAYAKE, W.G.I.U *et al.* Synthesis and characterization of nano silver based natural rubber latex foam for imparting antibacterial and anti-fungal properties. Polymer Testing. 31; 586–592; 2012.
- [29] JAMAL, E. M. A. *et al.* Synthesis of nickel–rubber nanocomposites and evaluation of their dielectric properties. Materials Science and Engineering B. 156; 24–31; 2009.
- [30] CABRERA, F. C. *et al.* Characterization of Natural Rubber/Gold Nanoparticles SERS-Active Substrate. J. APPL. POLYM. SCI. 186 – 192; 2013.
- [31] A. RAHIMI, A.; MASHAK, A. Review on rubbers in medicine: natural, silicone and polyurethane rubbers. Plastics, Rubber and Composites . 42; 6; 223 – 230; 2013.
- [32] REIS, M. C. (2013). Sistema Indutor de Neoformação Tecidual para Pé Diabético com Circuito Emissor de Luz de LEDs e Utilização do Látex Natural. Tese de Doutorado em Engenharia Elétrica, Publicação PGEA.TD-083/2013, Departamento de Engenharia Elétrica, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 163p.
- [33] MODY, V. V.; SIWALE, R.; SINGH. A.; MODY, H. R. Introdution to Metallic Nanoparticles. Journal of Pharmacy & BioAliied Sciences. 2, 4; 282 – 289. 2010.
- [34] CHEN, X.; SCHLUESENER, H. J. Nanosilver: A nanoproduct in medical application. Toxicology Letters. Tuebingen, n.176, p.1-12, 2008.
- [35] CRESPIELHO, F. N.; et al. Enhanced charge transport and incorporation of redox mediators in layer-by-layer films containing PAMAM-encapsulated gold nanoparticles. Journal of physical Chemistry B, Washington, v.110, n.35, p.17478-17483, 2006.
- [36] GLIGA, A. R. et al. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. Particle and Fibre Toxicology 2014, 11.
- [37] GIBBS, R. J. Silver Colloids: *Do they work*. [S. l.]: Edicao do Autor, 1999.
- [38] NOWACK B, KRUG HF, HEIGHT M: 120 years of nanosilver history: implications for policy makers. Environ Sci Technol 2011, 45(4):1177–1183.

-
- [39] POIRIER, M. et al. Interaction between silver nanoparticles of 20 nm (AgNP20) and human neutrophils: induction of apoptosis and inhibition of de novo protein synthesis by AgNP20 aggregates. *J. Appl. Toxicol.* 2014; 34: 404–412.
- [40] MONTEIRO, D. R. *et al* The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. *Int. J. Antimicrob Agents*; 34:103-10, 2009.
- [41] BÜRGERS R, et al. The anti-adherence activity and bactericidal effect of microparticulate silver additives in composite resin materials. *Arch Oral Biol*; 54:595-601, 2009.
- [42] KIM, K. J, *et al.* Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. *Biometals*; 22:235-42; 2009.
- [43] PANÁČEK A, *et al.* Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials* 2009;30:6333-40.
- [44] MORONES, J.; ELECHIGUERRA, J.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J.; RAMIREZ, J. T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, Bristol, v. 16, p. 23462353, 2005.
- [45] DASTJERDI, R., MONTAZER, M.; A review on the application of inorganic nanostructured materials in the modification of textiles: Focus on anti-microbial properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 79, p. 5-18, 2010.
- [46] WONG, K. K. Y.; LIU, X. Silver Nanoparticles – The Real “Silver Bullet” in Clinical medicine? *Med. Chem. Commun*, v.1, pp.125-131, 2010.
- [47] LI, Q.; MAHENDRA, S.; LYON, D.Y.; BRUNET, L.; LIGA, M.V.; LI, D.; ALVAREZ, P.J.J.; Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Research*, v. 42, p. 4591-4602, 2008.
- [48] PARK, J; LAKES, R. S. “Biomaterials – An Introduction”. Springer. 3ª edição. p. 2; 2007.
- [49] GÁLIA, C. A; et al. “Uso de enxerto homólogo e heterólogo em diáfise femoral de ratos: comparação entre enxerto ósseo congelado e liofilizado”. *Revista Brasileira de Ortopedia e Traumatologia*. 2005.
- [50] <http://www.integralife.com/index.aspx?redir=Soft+Tissue>. Acesso em 01/03/2016.
- [51] PINHO, R. *et al.* Falência de artroplastia total do joelho primária e sua revisão - um caso extremo de hipersensibilidade aos metais. *Portuguese Journal of Orthopaedics and Traumatology*. 23(2): 177-184, 2015.
- [52] MAIA, M. *et al.* Reconstrução da estrutura facial por biomateriais: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*. 25(3), 566-72, 2010.
- [53] PARIDA, P.; BEHERA, A.; MISHRA, S. C. Classification of Biomaterials used in Medicine. *International Journal of Advances in Applied Sciences (IJAAS)*, 1, 3, 31 – 35, 2012.
- [54] Norma I.S. EN ISO 10993-5 (2009) (English): Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity [Authority: The European Union Per Directive 90/385/EEC].
- [55] Norma ASTM F813 - Standard Practice for Direct Contact Cell Culture Evaluation of Materials for Medical Devices. 2012.
- [56] Norma ASTM F 619/14. Standard Practice for Extraction of Medical Plastics. 2014.
- [57] AZEVEDO, A. P. G. B. et al. Uso da Informação de Patentes para Estudo dos Métodos de Avaliação de citotoxicidade *in vitro* como alternativa ao Uso de Animais. *Cadernos de Prospecção* , 8, .2, 213-221. 2015.

-
- [58] RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. *Biomaterials Science – An Introduction to Materials in Medicine*. Elsevier: Oxford. Biomaterials Science: An Evolving, Multidisciplinary Endeavor. 2013.
- [59] LIANG, R. *et al.* Quantum Dots-Based Flexible Films and Their Application as the Phosphor in White Light-Emitting Diodes. *Chemistry of Materials*, 26, 2595–2600, 2014.
- [60] ZHU, L. *et al.* Photoluminescent poly(ether ether ketone)–quantum dot composite films. *Chem. Commun.*, 49, 5283, 2013.
- [61] WOELFLE, C., CLAUS, R. O. Transparent and flexible quantum dot–polymer composites using an ionic liquid as compatible polymerization medium. *Nanotechnology*. 18, 025402, 2007.
- [62] ZHU, J. *et al.* Ionic liquid assisted electrospinning of quantum dots/elastomer composite nanofibers. *Polymer* 52, 1954-1962. 2011.
- [63] JIN, F. *et al.* A facile layer-by-layer assembly method for the fabrication of fluorescent polymer/quantum dot nanocomposite thin films. *RSC Adv.*, 4, 33206, 2014.
- [64] ROSSETTI, R., BECK, B. M.; BRUS, L. E. Quantum size effects in the redox potentials, resonance Raman spectra, and electronic spectra of CdS crystallites in aqueous solution. *J. Chem. Phys.* 79, 1086–1088, 1983.
- [65] EKIMOV, A.I.; EFROS, A.L.; Onushchenko, A.A. Quantum size effect in semiconductor microcrystals. *Solid State Commun.*, 56, 921–924, 1985.
- [66] DRUMMEN, G. P. C. Quantum Dots—From Synthesis to Applications in Biomedicine and Life Sciences. *Int. J. Mol. Sci.* 11, 154-163. 2010.
- [67] BRUS, L. E. Kavli Prize Lecture: Semiconductor Nanocrystals; disponível em: <http://go.nature.com/jI95ft>.
- [68] Ioannou, D. and Griffin, D. K. Nanotechnology and molecular cytogenetics: the future has not yet arrived. Disponível em: <http://www.nano-reviews.net/index.php/nano/article/view/5117>.
- [69] BRUS, L. E. Commentary: Carbon Nanotubes, CdSe Nanocrystals, and Electron-Electron Interaction. *Nano Letters*, 10, 363 – 365, 2010.
- [70] WANG, H. Transparent, flexible and luminescent composite films by incorporating CuInS₂ based quantum dots into a cyanoethyl cellulose matrix. *RSC Advances*, 2, 2675–2677, 2012.
- [71] NOGUEZ, C. Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The influence of shape and physical environment. *Journal of Physical Chemistry*. Washington, v.11, p.3806-3819, 2007.
- [72] SKOOG, D. A. *Princípios de Análise Instrumental*, 5ª edicao, Porto Alegre: Editora Bookman, 2009.
- [73] BARTH, A.; ZSCHERP, C. What vibrations tell us about proteins. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 35, 4, 369–430; 2002.
- [74] STUART, B. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd. 2004.
- [75] Acesso em: <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/InfraRed/infrared.htm>. Data de acesso: 11/08/2015.
- [76] *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, Three – Volume Set. 1999.
- [77] ALCANTARA JR, P. *Espectroscopia Molecular*. Curso. Física Moderna II. 2002.
- [78] DEDAVID, B. A.; GOMES, I. C.; Machado, G. *Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostras, materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. 2007.

-
- [79] MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. J. Immunol. Methods, v.65, p.55-63, 1983
- [80] CAVALCANTE, D. G.S.M.; *et al.* Cytotoxic, biochemical and genotoxic effects of biodiesel produced by different routes on ZFL cell line. Toxicology in Vitro. V. 28, 6, 1117–1125, 2014.
- [81] CAVALCANTE, D. G. S. M.; MARTINEZ, C. B. R.; SOFIA, S. H. Genotoxic effects of Roundup® on the fish *Prochilodus lineatus*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. V. 655, 1 – 2, 2008.
- [82] GERLIER, D.; THOMASSET, N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. Journal of Immunological Methods. 94, 1-2, 57-63, 1986.
- [83] SINGH, N.P.; MCCOY, M.T.; TICE R.R.; SCHNEIDER E.L. A single technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. Experimental Cell Research, 175:184-191, 1998.
- [84] CAVALCANTE, DALITA GOMES SILVA MORAIS. Biomarcadores genéticos e bioquímicos para avaliar os efeitos do biodiesel, por meio de bioensaios in vivo e in vitro. Tese (doutorado), Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. 2012.
- [85] KOBAYASHI, H.; SUGUYAMA, C.; MORIKAWA, Y.; HAYASHI, M.; SOFUNI, T. A comparison between manual microscopic analysis and computerized image analysis in the single cell gel electrophoresis. MMS Commun, 3:103–115, 1995.
- [86] TICE, R.R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J.C.; SASAKI, Y.F. Single Cell Gel/Comet Assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology Testing. Environmental and Molecular Mutagenesis, 35: 206-221, 2000.
- [87] ZHANG, Y. *et al.* Morphology and Antibacterial Properties of Natural Rubber Composites Based on Biosynthesized Nanosilver. Journal of Applied Polymer Science. 2014.
- [88] YING, E. *et al.* Synthesis and Bio-Imaging Application of Highly Luminescent Mercaptosuccinic Acid-Coated CdTe Nanocrystals. PLoS ONE 3(5): e2222. doi:10.1371/journal.pone.0002222, 2008.
- [89] PÉREZ-DONOSO, J. M., *et al.* Biomimetic, Mild Chemical Synthesis of CdTe-GSH Quantum Dots with Improved Biocompatibility. PLoS ONE 7(1): e30741. doi:10.1371/journal.pone.0030741. 2012.
- [90] MONTEIRO, R. D. *et al.* Silver Distribution and Release from an Antimicrobial Denture Base Resin Containing Silver Colloidal Nanoparticles. Journal of Prosthodontics. v. 21; 7–15; 2012.
- [91] QIN, Y. *et al.* Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 372, 172–176; 2010.
- [92] KONG, J.; YU, S. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 39, 8, 549–559, 2007.
- [93] TAMM, L. K.; TATULIAN, S. A. Infrared spectroscopy of proteins and peptides in lipid bilayers. Quarterly Reviews of Biophysics 30, 4, 365 – 429, 1997.
- [94] ANTONIA, A.C.D., MARTINS, M. A., MORENO, R.M.B., MOTTOSO, L.H.C., GONÇALVES, P.S., JOB, A.E., Caracterização Mecânica e Térmica da Borracha Natural Formulada e Vulcanizada dos Clones: GT 1, IAN 873, PB 235 e RRIM 600. Polímeros: Ciência e Tecnologia. v 19, p. 63-71. 2009.
- [95] BAEK, H. S. Evaluation of the Extraction Method for the Cytotoxicity Testing of Latex Gloves. Yonsei Medical Journal. vol. 46, n. 4, 579 - 583, 2005.
- [96] NOGUEIRA, P.F. M.; PAINO, I. M. M.; ZUCOLOTTI, V. Nanosilver: Properties, Applications and Impacts on Health and Environment. Vigilância Sanitária em Debate. 1, 4, 59-71. 2013.

-
- [97] DE SOUZA, T.A.J., FRANCHI, L.P., TAKAHASHI, C.S. Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles of Different Sizes in CHO-K1 and CHO-XRS5 Cell Lines. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. In Press, Accepted Manuscript, Available online 19 November 2015.
- [98] KABA, S.I.; EGOROVA, E.M. In Vitro Studies of the Toxic Effects of Silver Nanoparticles on HeLa and U937 Cells, *Nanotechnol. Sci. Appl.*, 8, 19-29, 2015.
- [99] ZHANG, T.; WANG, L.; CHEN, Q.; CHEN, C. Cytotoxic Potential of Silver Nanoparticles, *Yonsei Medical Journal*, 55 283-291, 2014.
- [100] RIVEROS A. L., et al. Capping Biological Quantum dots with the Peptide CLPFFD to Increase Stability and to Reduce Effects on Cell Viability. *Nanoscience and Nanotechnology*. 2015 .