

Nanopartículas de prata: síntese, caracterização e aplicação como agente antibacteriano

Silver nanoparticles: synthesis, characterization and application as antibacterial agent



Isadora Ferreira Caixeta

Graduanda do curso de Engenharia Química do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM. e-mail: isadora-caixeta@hotmail.com

Sandra Lúcia Nogueira

Doutora em Física pela UFU. Professora orientadora (UNIPAM). e-mail: sandraIn@unipam.edu.br

Maria Rejane Borges de Araújo

Especialista em Educação Ambiental pelo UNIPAM. Professora coorientadora (UNIPAM). e-mail: mariarejane@unipam.edu.br

RESUMO: Nanopartículas de prata (AgNP) têm se destacado no âmbito nanotecnológico devido a sua atividade antimicrobiana. Os microrganismos contaminantes são um risco para a sociedade, fazendo das suas habilidades de resistência a agentes microbianos comuns um problema à saúde humana. As AgNP são apresentadas como um potencial antimicrobiano, demonstrando assim, a necessidade de estudo e desenvolvimento de novos produtos baseados nelas. Este estudo pretendeu sintetizar AgNP em membranas, caracterizando-as através das análises de MEV e espectroscopia UV-vis e avaliar a atividade antimicrobiana desta sobre a bactéria *Escherichia coli*, através da filtração de águas contaminadas. A síntese química foi capaz de reduzir nanopartículas com diâmetros de 40-60 nm, e estas demonstraram eficiência na inibição do crescimento bacteriológico, apresentando um potencial agente antimicrobiano para o tratamento de águas poluídas por microrganismos patogênicos.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas de Prata. Atividade antibacteriana. *Escherichia coli*.

ABSTRACT: Silver nanoparticles (AgNP) have been highlighted in the nanotechnological scope due to their antimicrobial activity. Contaminating micro-organisms are a risk to society, making their resistance skills to common microbial agents a problem to human health. The AgNP are presented as a potential antimicrobial, thus demonstrating the need to study and develop new products based on them. This study consists of synthesizing AgNP in membranes, characterizing them through SEM analyses and UV-vis spectroscopy and evaluating antimicrobial activity against the *Escherichia coli* bacteria through the filtration of contaminated water. The chemical synthesis was able to reduce nanoparticles with diameters of 40-60 nm, and these showed efficiency in inhibition of bacteriological growth,

presenting a potential antimicrobial agent for the treatment of water polluted by pathogenic micro-organisms.

KEYWORDS: Silver nanoparticles. Antibacterial activity. *Escherichia coli*.

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia, em seus vários campos de atuação (engenharia, medicina, biologia, farmacêutica), tem contribuído para o desenvolvimento de novos materiais, técnicas e sistemas, através do controle, síntese e reestruturação em escalas nanométricas (1×10^{-9} m) de materiais de nível atômico e molecular (ROCO; WILLIAMS; ALIVISATOS, 2000; DONALDSON; STONE, 2000). Apesar da visão de um mundo com nanomateriais ter sido apresentada em 1959 pelo físico Richard Feynman, em seu discurso do Prêmio Nobel, foi apenas no século 21 que as pesquisas e a produção destes se intensificaram, tornaram-se globais (ROCO; WILLIAMS; ALIVISATOS, 2000).

As nanopartículas se diferem das macromoléculas de mesmo material, apresentando uma maior superfície de contato, novas propriedades físicas e químicas, chamando assim a atenção da comunidade científica (GHOSH CHAUDHURI; PARIJA, 2011). Nanopartículas de metais nobres se destacam, devido a suas múltiplas aplicações e ações, e as nanopartículas de prata particularmente apresentam atividade óptica (EVANOFF; CHUMANOV, 2005), catalítica (TSUJINO; MATSUMURA, 2005; GANGULA et al., 2011), condutora (LI; WU; ONG, 2005) e antimicrobiana, atividade com maior ênfase de pesquisas (LOK et al., 2007; PRABHU; POULOSEV, 2012; PAL; TAK; SONG, 2007).

A constante descoberta e desenvolvimento de novos agentes microbianos se faz necessária diante da incrível habilidade de resistências das bactérias. A adaptação destas a diferentes ambientes e circunstâncias têm aumentado nos últimos anos, diminuindo a eficácia no uso de pesticidas, antibióticos, materiais biocidas e outros meios conhecidos de combatê-las (SILVEIRA, 2009; SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004).

Águas contaminadas por microrganismos apresentam risco à sociedade, principalmente se forem ingeridas. Tendo a resolução nº 357 do CONAMA como referência, esta exige que sejam desinfestadas as águas que contenham organismos potencialmente patogênicos. Estes podem comprometer a saúde e o bem-estar humano, causando doenças como enterites, diarreias infantis e doenças epidêmicas, sendo as principais bactérias responsáveis por elas a *Salmonella spp.*, a *Shigella spp.*, *Escherichia coli* e a *Vibrio cholerae* (BRASIL, 2014).

O presente trabalho visa sintetizar nanopartículas de prata (AgNPs) através da redução química com borohidreto de sódio; estudar a eficiência da atividade antimicrobiana destas contra a bactéria *Escherichia coli*, através da filtração de águas contaminadas em membranas de éster celulose impregnadas com AgNPs; utilizar de análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia

UV-visível para caracterizar a síntese das nanopartículas; além de analisar o crescimento bacteriológico nas membranas, através da técnica de ausência/presença, após sua utilização para filtração.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A visão da emergência do campo nanotecnológico, diante do cenário de inovação tecnológica e científica, levou em 1999 o governo dos Estados Unidos da América a criar um programa de incentivo para tal, instituindo uma estratégia para o desenvolvimento e pesquisas nesta área (ROCO; WILLIAMS; ALIVISATOS, 2000). No Brasil essa preocupação partiu da ABDI (Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial), que promoveu diversas atividades a partir de 2006, para mesclar a nanotecnologia e as necessidades industriais, promovendo assim, no ano de 2010, em parceria com a CGEE (Centro de Gestão e Estudos Estratégicos), um planejamento do estudo prospectivo da nanotecnologia.

De acordo com o Relatório Anual viabilizado para a *National Nanotechnology Initiative* (2016; 2017), nos EUA, foram investidos em nanotecnologia mais de U\$ 15 bilhões em 2014 e em torno U\$14 bilhões em 2015. Nesses dois anos, as pesquisas relacionadas com a síntese de nanopartículas de prata e suas aplicações foram as de maior relevância no *National Institute of Standards and Technology*, sendo disponibilizados a este mais de U\$ 53.6 bilhões para estudos.

As principais rotas para a produção de nanopartículas de prata (AgNPs) envolvem processos físicos ou químicos. O primeiro geralmente ocorre através da reação de evaporação/condensação dentro de um forno tubular, à pressão atmosférica (JUNG *et al.*, 2006). Infelizmente o uso desse equipamento é desvantajoso em termos de ocupação do espaço físico, de alto consumo de energia e de aumento da temperatura ambiente. Em sua pesquisa, Jung *et al.* (2006), utilizaram um pequeno aquecedor de cerâmica com área de aquecimento local, contornando assim as inconveniências mencionadas. Em sínteses físicas modernas, a técnica de ablação a laser é utilizada no material em solução, sendo vantajoso pela ausência de reagentes químicos na solução, garantindo pureza às AgNPs (DELL'AGLIO *et al.*, 2016; ZULIN *et al.*, 2017; VALVERDE-ALVA *et al.*, 2015).

No processo químico predomina a reação de redução dos íons de prata, para a síntese das AgNPs, empregando citrato e borohidreto de sódio como redutores (KAMAT; FLUMIANI; HARTLAND, 1998; HE; KUNITAKE; NAKAO, 2003). Essa abordagem leva à formação de nanopartículas instáveis, além de aglomerados. Para evitar essas complicações, é comum a utilização de agentes estabilizadores e matrizes de sustentação como filmes (POREL *et al.*, 2007; LIANG *et al.*, 2014), espumas (JAIN; PRADEEP, 2005) e membranas (HE; KUNITAKE; NAKAO, 2003; SON; YOUK; PARK, 2006).

Devido ao risco e à toxicidade dos métodos comumente utilizados, surgiu a necessidade do desenvolvimento de sínteses baseadas na química verde, que não apresentam potenciais riscos biológicos ao ambiente. A maioria das biossínteses

envolve reações de redução/oxidação, nas quais são adotadas agentes ecologicamente viáveis como, bactérias, fungos e extrato de plantas (KALISHWARALAL *et al.*, 2008; PRABHU; POULOSE, 2012).

A prata (Ag) e seus íons (Ag⁺) vêm há séculos sendo estudados, por causa de suas atividades contra microrganismos. Em estudo realizado por Modak e Fox (1973), foi relatado o mecanismo de ação antibacteriano da prata, no qual os íons de Ag se ligam às moléculas de DNA das bactérias, inibindo assim o crescimento das colônias. Russell e Hugo (1994) propuseram também que a forte reação da Ag com o grupo tiol (sulfidril, -SH) provocaria mudanças na estrutura celular das bactérias, e por consequência, levaria à morte destas. Posteriormente foi comprovado experimentalmente por Liau *et al.* (1997) que esta interação é essencial no combate destas.

As nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam melhor eficiência antibacteriana quando comparadas com a Ag e Ag⁺, pois possuem maior superfície de contato com os microrganismos (KANG *et al.*, 2016), entretanto, seu mecanismo de ação ainda não é totalmente compreendido.

Pal, Tak e Song (2007) demonstraram que as AgNPs, através da absorção de Ag⁺ pelas membranas celulares, inibem a respiração enzimática das células bacterianas, formando espécies de oxigênio reativas, deteriorando-as. Esta ação pôde ser observada pela formação de “nódulos” pretos ao redor da superfície celular. O mesmo efeito foi constatado também por Sondi e Salopek-Sondi (2004), que apresenta o mecanismo de ação das AgNPs, relacionado com a liberação de moléculas de lipopolissacarídeo (LPS), as quais modificam a permeabilidade da membrana celular, causando degradação estrutural.

As doenças causadas por bactérias patogênicas, vírus e protozoários se tornaram comuns e se propagaram por todo o mundo, apresentando um risco à saúde humana, quando presentes na água. Contanto que esta esteja contaminada, as doenças podem ser contraídas desde a inalação de gotas até o contato com a pele, mas, sobretudo, pela ingestão (WHO, 2011). De acordo com a *World Health Organization* (2016), 663 milhões de pessoas obtêm água através de fontes inapropriadas e pelo menos 1,8 bilhões de pessoas as ingerem de nascentes contaminadas por fezes.

O habitat natural da bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*) é o intestino humano e animal, sendo a única da espécie do grupo dos coliformes termotolerantes exclusiva deste ambiente. Quando identificada neste local geralmente não é nociva à saúde, entretanto, em outras partes do corpo pode causar sérias doenças. Estima-se por ano a morte de 502 mil pessoas por causa de diarreia, uma das principais infecções bacterianas (WHO, 2011; 2016; BRASIL, 2005).

A *E. coli* é o microrganismo mais adequado para indicar a contaminação de um corpo d'água por bactérias termotolerantes, pois é inquestionável sua natureza de origem, as fezes. Apesar de o método de identificação desta não ser o mais rápido, é menos duvidoso, pois outras técnicas de análises microbiológicas, de águas infectadas, acusam espécies do mesmo grupo que podem ser também encontradas

em solos, plantas ou em águas que contenham matéria orgânica (WHO, 2011; BRASIL, 2000).

3. METODOLOGIA

Para as sínteses das nanopartículas de prata, caracterização e avaliação da eficácia da atividade antibacteriana destas, foram utilizados os Laboratórios de Química e de Microbiologia, localizados dentro das dependências do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) e o Laboratório de Ensino e Pesquisa em Usinagem (LEPU) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

3.1. NANOPARTÍCULAS DE PRATA

3.1.1. Síntese química das nanopartículas

A fundamentação da síntese das nanopartículas de prata foi feita a partir do método químico proposto por He, Kunitake e Nakao (2003), que utilizaram membranas de éster de celulose (0,45 µm Milipore®) (MCs) como nanoreatores e estabilizadores das nanopartículas.

Para a formação das membranas impregnadas com AgNPs, foram utilizados 100 mL de solução de nitrato de prata (AgNO_3), na qual as MCs foram embebidas por 1 minuto e em seguida lavadas em etanol PA durante 30 segundos. Posteriormente as MCs foram imersas por 10 minutos em 100 mL de solução de borohidreto de sódio (NaBH_4), para a redução dos íons de Ag, seguido de lavagem em água destilada por 1 minuto. Diferentes concentrações dos reagentes foram utilizadas para uma avaliação da síntese das nanopartículas, relacionadas na Tabela 1.

TABELA 1. Relação da composição das soluções de AgNO_3 e NaBH_4

Ensaio	Concentrações (mM)	
	AgNO_3	NaBH_4
E1	1	200
E2	10	200
E3	1	100
E4	10	100

Fonte: Autoria própria, 2017

3.2. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Para a caracterização das nanopartículas de prata, foi utilizada microscopia eletrônica de varredura (MEV), marca Hitachi, modelo TM 3000 – Tabletop Micros-

cope e também o espectrômetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis, para a caracterização óptica. Para a análise UV foram preparadas soluções com citrato de sódio, este como agente estabilizador, de acordo com o procedimento realizado por Jana, Gearheart e Murphy (2001), e para estas, foram utilizadas as mesmas concentrações do sal precursor e do redutor descritas na Tabela 1.

3.2.1. Avaliação da atividade antimicrobiana

Sendo a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*) a principal representante do grupo dos coliformes termotolerantes e indicadora de contaminação de águas por organismos patogênicos (BRASIL, 2014), esta foi utilizada para avaliação da atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata.

3.3. SUSPENSÃO BACTERIANA

Para o ensaio microbiano foi selecionada a cepa da *E. coli* (ATCC 25922), esta foi cultivada em Ágar Padrão (PCA) por 24 h a 35° C, visando as recomendações da ANVISA. Posteriormente foram inoculadas em água destilada estéril, para a suspensão bacteriana, e uma diluição da bactéria foi feita para obtenção da turvação correspondente ao tubo 0,5 da Escala de Macfarland, obtendo-se uma concentração final de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

3.4. TESTE BACTERIOLÓGICO

As colônias em suspensão mencionadas acima foram filtradas a vácuo em membranas impregnadas com AgNPs (MC/AgNP), as quais foram descritas no título 3.1.1 deste trabalho, em triplicata. O mesmo procedimento foi realizado em membranas de éster celulose (MC) puras para controle.

O teste bacteriológico para coliforme termotolerantes foi realizado conforme o método recomendado pela *American Public Health Association* (APHA) (2012), em que as MC/AgNP e as MC puras serão depositadas em placas de Petri contendo Ágar EMB e incubadas invertidas a 35° C durante 24 h. Após este período foi feita a contagem das colônias, no contador de colônias.

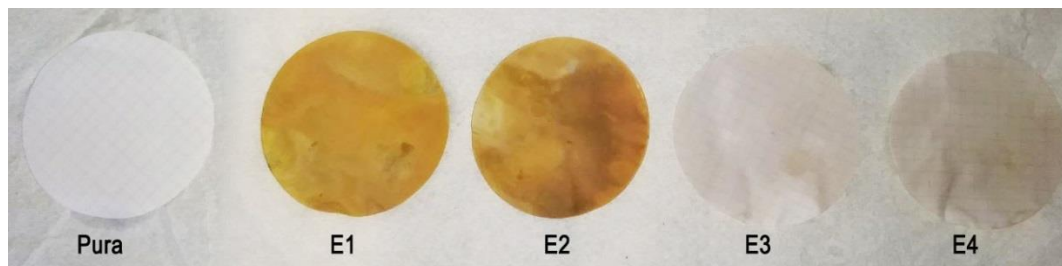
4. RESULTADOS

4.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AGNP)

Durante a síntese química, a tonalidade das membranas de éster celulose (MC) alterou-se imediatamente após a deposição destas na solução de NaBH_4 , de branco (Pura) para amarelo (E1, E2): a Figura 1 expressa o resultado dessa reação. Essa mudança na coloração indica a deposição de nanopartículas de prata na membrana (MC/AgNP), devido a absorção plasmática das AgNP (HE; KUNITAKE; NAKAO,

2003). O mesmo não ocorreu com os ensaios E3 e E4, provavelmente devido à baixa concentração da solução de AgNO_3 utilizada.

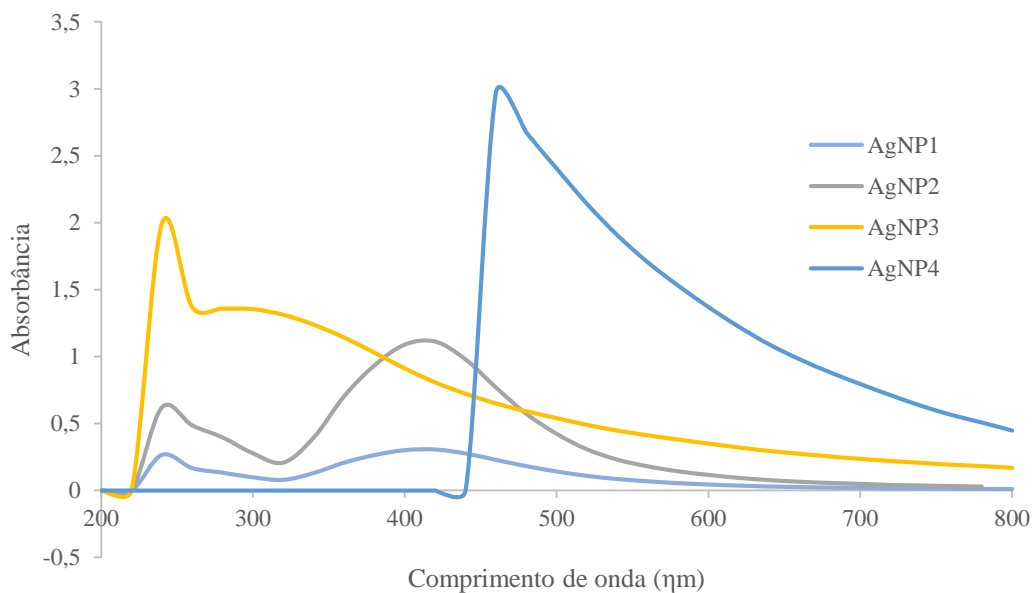
FIGURA 1. Membranas de éster celulose impregnadas com nanopartículas de prata



Fonte: Autoria própria, 2018.

Os espectros UV-Vis das soluções dos ensaios E3 (AgNP3) e E4 (AgNP4) que confirmam a síntese das AgNP podem ser observados na Figura 2, que apresenta uma banda espectral em ampla faixa de comprimento de onda.

FIGURA 2. Espectro UV-Vis das soluções de nanopartículas de prata estabilizadas por citrato de sódio



Fonte: Autoria própria, 2018

Através da espectroscopia UV-Vis, é possível analisar as nanopartículas dispersas. O resultado é uma banda de absorção característica de nanopartícula, situada em uma ampla faixa do espectro visível, que representa uma superposição das frequências do fenômeno de ressonância SPR plasmônica (SPR- Surface Plasmons Resonance) das AgNPs examinadas (ZHANG; NOGUEZ, 2008).

Esse fenômeno ocorre quando os elétrons livres na superfície das nanopartículas metálicas são induzidos pelo campo eletromagnético da luz incidente produzida pelo espectrofotômetro, gerando uma oscilação máxima em determinadas frequências, caracterizando a ressonância com a frequência de oscilação da luz incidente.

Essa frequência de ressonância está diretamente ligada à forma, tamanho, organização das nanopartículas e índice de refração do meio. Desse modo, é possível que nanopartículas de mesma natureza apresentem frequências diferentes, através da variação destas propriedades.

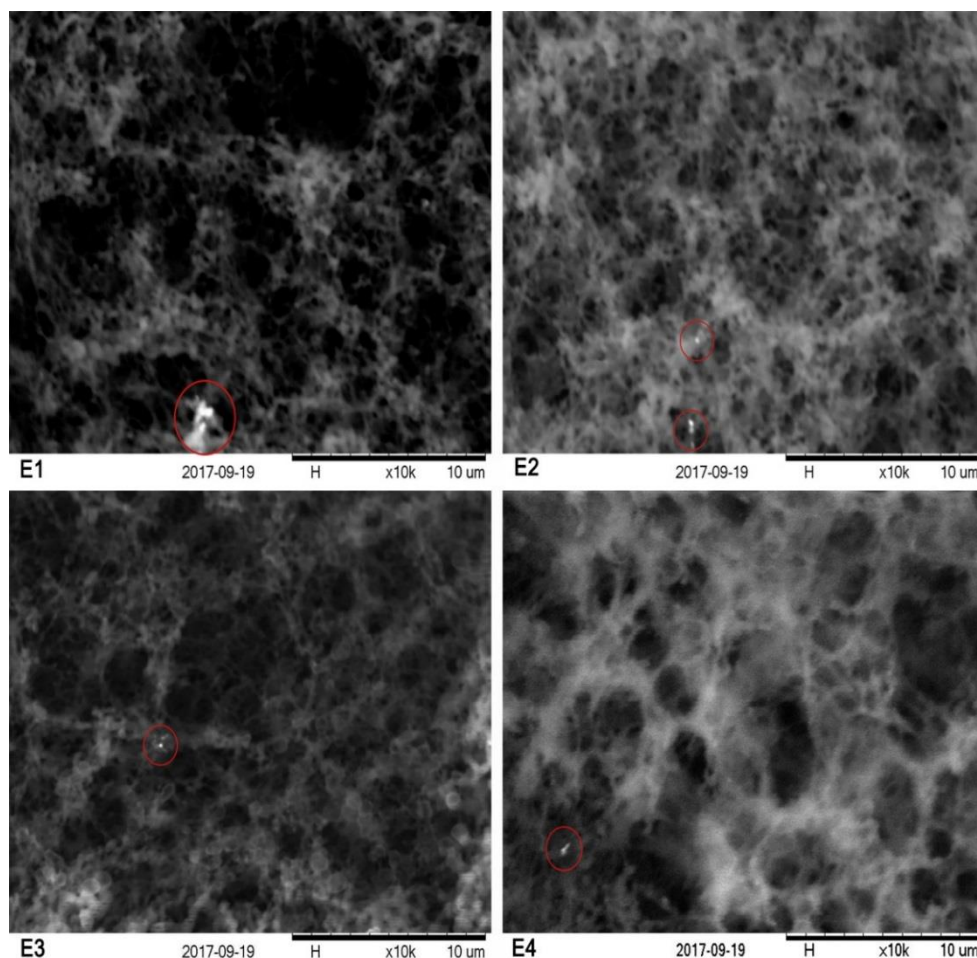
De acordo com Zhang e Noguez (2008), nanopartículas esféricas entre 10-20 nm possuem uma banda de absorção no espectro em comprimentos de onda inferiores a 400 nm. Dependendo do tamanho, uma suspensão de Ag-NPs com diâmetros maiores, entre 30 e 100 nm, se apresenta com cores que variam do laranja, verde até violeta. A banda de maior intensidade, por volta de 400 nm, mostra a característica das AgNPs esféricas de diâmetros aproximados a 40-60 nm.

Para a solução do ensaio E1, a banda de absorção se deu na faixa de 460 nm (Figura 2), indicando a formação de aglomerados das nanopartículas. A microscopia obtida através da análise MEV (Figura 3) confirma a deposição coloidal das AgNP nas membranas.

A membrana pura é intrinsecamente isolante, e ao depositar as nanopartículas nesta, ela se torna eletricamente condutora, possibilitando sua interação com feixe de elétrons, fonte de excitação, e resultando no espalhamento destes para a captura da imagem. Além disto as AgNPs minimizam o acúmulo de carga, causado pelo feixe, evitando a degradação da amostra (PEREIRA DA SILVA; FERRI, 2015).

As membranas, apesar de possuírem poros de 0,45 μm , conforme a especificação do fabricante, são compostas por fibras que apresentam uma superfície nanoporosa, permitindo uma melhor penetração das partículas de prata. A ligação entre os íons de prata e a celulose é provável devido à interação eletrostática (íon-dipolo) dos oxigênios carregados negativamente dos grupos polares hidroxila e éter da membrana e os cátions transientes do metal (HE; KUNITAKE; NAKAO, 2003).

FIGURA 3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das membranas impregnadas com nanopartículas de prata

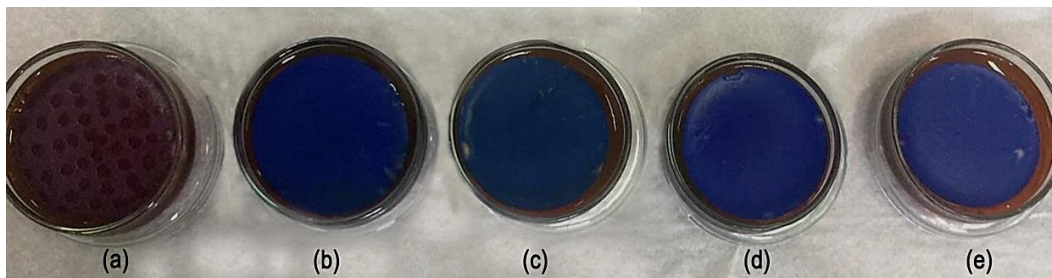


4.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Após o período de 24h de contato entre as colônias de *E. coli* ATCC 25922, retidas nas membranas de éster celulose, e as nanopartículas de prata, estas apresentaram eficiência de 100% na eliminação e anulação do crescimento das bactérias, conforme pode ser visualizado na Figura 4 (na página seguinte), não sendo necessário, desta forma, a contagem das colônias.

As diferentes concentrações das soluções do sal precursor (AgNO_3) e do redutor (NaBH_4) não influenciaram a atividade antimicrobiana da nanopartícula de prata neste período. Nas membranas (b), (c), (d) e (e), que correspondem respectivamente aos ensaios E1, E2, E3 e E4, não foram visualizadas colônias bacterianas, diferentemente da membrana (a) pura, na qual observa-se o crescimento das colônias da suspensão bacteriológica filtrada. Para o mesmo período, Jain e Pra-deep (2005), também obtiveram a completa inibição das bactérias *E. coli*, confirmando a atividade antimicrobiana da nanopartícula de prata.

FIGURA 4. Atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata em membranas de Éster Celulose contra bactérias *E. coli* ATCC 25922



Fonte: autoria própria, 2018

5. CONCLUSÕES

A síntese química das nanopartículas de prata (AgNP) através da redução com borohidreto de sódio resultou em nanopartículas com diâmetro mínimo de 40 nm, onde, com o aumento da concentração das soluções de nitrato de prata e borohidreto de sódio, houve a formação de aglomerados destas. A membrana de éster celulose se apresentou como um potencial estabilizador das AgNP, utilizando baixas concentrações dos agentes precursores e redutores, 1 mM e 100 mM respectivamente.

As nanopartículas de prata demonstraram ter atividade antimicrobiana, independentemente do diâmetro, contra a bactéria *Escherichia coli*, com inibição completa do crescimento bacteriano.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. *Estudo prospectivo nanotecnologia*. Brasília: ABDI, 2010. (Cadernos da indústria ABDI XX).

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18. ed. Washington, DC: APHA, 1992, cap. 9, pp. 45-64.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde: Módulo IV Descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos*. Brasília: ANVISA, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_4_2004.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2017.

_____. CONAMA. Resolução nº 274, de 29 de novembro de 2000. DOU nº 18, de 25/01/2001, Seção 1, pp. 70-71, 2000.

_____. CONAMA. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. DOU nº 053, de 18/03/2005, pp. 58-63. 2005.

_____. Fundação Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. *Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS*. Brasília: FUNASA, 2014.

CAIXETA, Isabela Ferreira; PEREIRA, Juliana Borges; CRUVINEL, Abel da Silva. Análise microbiológica da água da nascente no terreno da Escola Estadual Cônego Getúlio. In: Congresso Mineiro de Engenharias e Arquitetura Patos De Minas, 3., 2016, Patos de Minas. *Revista CENAR*. Patos de Minas: UNIPAM, 2(2016): 26-30.

DONALDSON, Ken; STONE, Vicki. Nanoscience fact versus fiction. *Communications of the ACM*, 47(11): 113-115, 2004.

EVANOFF, David D.; CHUMANOV, George. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. *Chem Phys Chem*, 6(7): 1221-1231, 2005.

GANGULA, Abilash et al. Catalytic reduction of 4-nitrophenol using biogenic gold and silver nanoparticles derived from *Breynia rhamnoides*. *Langmuir*, 27(24): 15268-15274, 2011.

GHOSH CHAUDHURI, Rajib; PARIA, Santanu. Core/shell nanoparticles: classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. *Chemical reviews*, 112(4): 2373-2433, 2011.

HE, Junhui; KUNITAKE, Toyoki; NAKAO, Aiko. Facile in situ synthesis of noble metal nanoparticles in porous cellulose fibers. *Chemistry of Materials*, 15(23): 4401-4406, 2003.

JAIN, Prashant; PRADEEP, T. Potential of silver nanoparticle - coated polyurethane foam as an antibacterial water filter. *Biotechnology and bioengineering*, 90(1): 59-63, 2005.

JANA, Nikhil R.; GEARHEART, Latha; MURPHY, Catherine J. Wet Chemical Synthesis of High Aspect Ratio Cylindrical Gold Nanorods. *The Journal of Physical Chemistry B*, [s.l.], 105(19): 4065-4067, maio 2001.

KALISHWARALAL, K. et al. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by the culture supernatant of *Bacillus licheniformis*. *Materials letters*, 62(29): 4411-4413, 2008.

KAMAT, Prashant V.; FLUMIANI, Mark; HARTLAND, Gregory V. Picosecond dynamics of silver nanoclusters. Photoejection of electrons and fragmentation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 102(17): 3123-3128, 1998.

KANG, Chan Kyu et al. Antibacterial cotton fibers treated with silver nanoparticles and quaternary ammonium salts. *Carbohydrate Polymers*, 151 (2016): 1012-1018.

LEE, P. C.; MEISEL, D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *The Journal of Physical Chemistry*, [s.l.], 86(17): 3391-3395, 1982.

LI, Yuning; WU, Yiliang; ONG, Beng S. Facile synthesis of silver nanoparticles useful for fabrication of high-conductivity elements for printed electronics. *Journal of the American Chemical Society*, 127(10): 3266-3267, 2005.

LIANG, Kai-Ling et al. Polymer-assisted self-assembly of silver nanoparticles into interconnected morphology and enhanced surface electric conductivity. *RSC Advances*, 4(2): 15098-15103, 2014.

LIAU, S. Y. et al. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions. *Letters in applied microbiology*, 25(4): 279-283, 1997.

LOK, Chun-Nam et al. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 12(4): 527-534, 2007.

MODAK, Shanta M.; FOX, Charles L. Binding of silver sulfadiazine to the cellular components of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemical pharmacology*, 22(19): 2391-2404, 1973.

NATIONAL NANOTECHNOLOGY INITIATIVE. National Science and Technology Council Committee on Technology and Subcommittee on Nanoscale Science, Engineering, and Technology. *Supplement to The President's Budget for Fiscal Year 2016*. United States of America, 2016. Disponível em: <https://www.nano.gov/sites/default/files/pub_resource/nni_fy16_budget_supplement.pdf>. Acesso em 11 fev. 2017.

NATIONAL NANOTECHNOLOGY INITIATIVE. National Science and Technology Council Committee on Technology and Subcommittee on Nanoscale Science, Engineering, and Technology. *Supplement to The President's Budget for Fiscal Year 2017*. USA, 2016. Disponível em: <https://www.nano.gov/sites/default/files/pub_resource/nni_fy17_budget_supplement.ppd> Acesso em 11 fev. 2017.

PAL, Sukdeb; TAK, Yu Kyung; SONG, Joon Myong. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 73(6): 1712-1720, 2007.

PEREIRA-DA-SILVA, Marcelo de Assumpção; FERRI, Fabio Aparecido. Microscopia

eletrônica de varredura. *Técnicas de Nanocaracterização*, [s.l.], p. 1-42, 2015. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-85-352-8091-3.50010-5>.

PRABHU, Sukumaran; POULOSE, Eldho K. Silver nanoparticles: mechanism of anti-microbial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(1): 32, 2012.

POREL, S. *et al.* Optical power limiting in the femtosecond regime by silver nanoparticle-embedded polymer film. *Journal of Applied Physics*, 102(3): 33-107, 2007.

ROCO, Mihail C.; WILLIAMS, R. Stanley; ALIVISATOS, Paul. Nanotechnology Research Directions: IWGN Workshop Report: Vision for Nanotechnology in the Next Decade. *Springer Science & Business Media*, 2000. Disponível em: <<http://www.wtec.org/loyola/nano/IWGN.Research.Directions/>> Acesso em: fev. 2017.

RUSSELL, A. D.; HUGO, W. B. 7 antimicrobial activity and action of silver. *Progress in medicinal chemistry*, 31(1994): 351-370.

SILVEIRA, Maria Eduarda. *Environmental spread of antibiotic molecules, antibiotic resistant bacteria and genes: jigsaw pieces of a public health problem*. Tese de Doutorado. Universidade Fernando Pessoa, 2009.

SON, Won Keun; YOUK, Ji Ho; PARK, Won Ho. Antimicrobial cellulose acetate nanofibers containing silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 65(4): 430-434, 2006.

SONDI, Ivan; SALOPEK-SONDI, Branka. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of colloid and interface science*, 275(1): 177-182, 2004.

TURKEVICH, John; STEVENSON, Peter Cooper; HILLIER, James. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of The Faraday Society*, [s.l.], 11(1951): 55-75.

TSUJINO, K.; MATSUMURA, M. Boring deep cylindrical nanoholes in silicon using silver nanoparticles as a catalyst. *Advanced Materials*, 17(8): 1045-1047, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Guidelines for drinking-water quality*. 4. ed. Switzerland: WHO, 2011. Disponível em: <<http://www.who.int>>. Acesso em: 3 mar. 2017.

_____. *Drinking-water*. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int>>. Acesso em: 4 mar. 2017.

ZHANG, I.Z.; NOGUEZ, C. Plasmonic optical properties and applications of metal nanostructures. *Plasmonics*. 3(2008): 127-150.