

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

**NANOCOMPÓSITOS DE POLIETILENO/SÍLICA COM
PRATA PARA APLICAÇÕES ANTIBACTERIANAS**

Giovani Pavoski

Tese de Doutorado

Porto Alegre, março de 2019

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

**NANOCOMPÓSITOS DE POLIETILENO/SÍLICA COM
PRATA PARA APLICAÇÕES ANTIBACTERIANAS**

Giovani Pavoski

Tese realizada sob a orientação da Prof^ª. Dr^ª. Griselda B. Galland, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em preenchimento parcial dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciência dos Materiais.

Porto Alegre, março de 2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela força e oportunidade oferecidas em minha vida.

À professora Dr^a. Griselda B. Galland pela orientação neste trabalho, por tudo que me ensinou e pela amizade e confiança.

A Capes pelo auxílio financeiro.

A todos os meus familiares que de uma forma ou outra sempre me ajudaram nos momentos que eu mais precisei.

À banca examinadora, professora Dr^a. Nara R. de S. Basso (PUCRS), professora Dr^a. Naira Maria Balzaretto (UFRGS), professor Dr. Marcéo A. Milani e ao professor Dr. Edílson V. Benvenuti por participarem desta defesa de doutorado.

Ao professor Dr. Adriano Brandelli, a doutoranda Cristiane dos Santos e ao Prof. Dr. Luiz Fernando Wentz Brum pela parceria para realização das atividades antibacterianas e por sempre responder minhas dúvidas, questões e correções dos trabalhos em conjunto.

Ao professor Dr. João Henrique pelos ensinamentos no laboratório e parceria nos trabalhos.

Ao professor Dr Xavier Font, pela aceitação e orientação na Universidade Autônoma de Barcelona.

A doutoranda Thuany pela imensa colaboração neste trabalho.

A todos os colegas do K-106.

A todas as pessoas e amigos que de alguma forma estiveram comigo durante esta jornada, meu muito obrigado a todos vocês.

TRABALHOS GERADOS

1. ARTIGOS

1.1 Giovani Pavoski, Renan Kalikoski, Gustavo Souza, Luiz Fernando Wentz Brum, Cristiane dos Santos, Ahmad Abo Markeb, João Henrique Zimnoch dos Santos, Xavier Font, Ignacio Dell'Erba, Griselda B. Galland, Synthesis of polyethylene/silica-silver nanocomposites with antibacterial properties by in situ polymerization, *Eur. Polym. J.* 106 (2018) 92–101.

1.2 Giovani Pavoski, Daniel Luiz Stamm Baldisserotto, Thuany Maraschin, Luiz Fernando Wentz Brum, Cristiane dos Santos, João Henrique Zimnoch dos Santos, Adriano Brandelli, Griselda Barrera Galland. Silver nanoparticles encapsulated in silica: synthesis, characterization and application as antibacterial fillers in the ethylene polymerization. Artigo submetido.

1.3. Giovani Pavoski, Renan Kalikoski, Gustavo Souza, Daniel Baldisserotto, Carlos Bergmann, Adriano Brandelli, Marly Jacobi, Griselda B. Galland ANTIBIOTICIDAL POLYETHYLENE/ZnO NANOCOMPOSITES OBTAINED BY *IN SITU* POLYMERIZATION. Artigo submetido.

2. CONGRESSOS

2.1 Giovani Pavoski, Renan Kalikoski, Marcéo A. Milani, Larissa B Capeletti, Ismael dos Santos Belmonte, Henri Schrekker, João H. Z. dos Santos, Ignacio dell'Erba, Griselda B. Galland, *In Situ* Polymerization for the Preparation of Polyethylene/Silica-Silver Nanocomposites with Antimicrobial Properties, BCCM 3, Brazilian Conference on Composite Materials, Gramado, RS – Agosto 28-31, 2016.

2.2 G. Pavoski, R. KaliKoski, C. Santos, L.F.W. Brum, J.H.Z. Santos, I. dell'Erba, G.B. Galland, Polimerização In Situ de Nanocompósitos de Polietileno/Sílica-Prata com Propriedades Antimicrobianas, MultiMat I, Encontro Multidisciplinar em Ciência dos Materiais do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS – Novembro 23-25, 2016.

2.3 Giovani Pavoski, Renan Kalikoski, Gustavo Souza, Daniel Luiz Stamm Baldisserotto, Luis Fernando Wentz Brum, Cristiane dos Santos, Ignacio dell'Erba, Griselda Barrera Galland, *In situ* polymerization of polymer nanocomposites with antibacterial properties, XVI LATIN-AMERICAN POLYMER SYMPOSIUM (SLAP 2018) and XIV IBEROAMERICAN POLYMER CONGRESS (CIP 2018), Mar del Plata, Argentina.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES.....	XIII
RESUMO.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 GERAL.....	3
2.2 ESPECÍFICOS.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 NANOPARTÍCULAS DE PRATA.....	4
3.1.1 Redução e estabilização das NPAs.....	4
3.1.2 Propriedades Antibacterianas.....	6
3.1.3 Toxicidade das NPAs em células humanas	8
3.2 POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE (PEAD).....	10
3.3 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS.....	11
3.3.1 Polimerização <i>In Situ</i>	11
3.3.2 Polimerização Intercalante em Solução.....	11
3.3.2 Polimerização Intercalante por Fusão.....	12
3.4 MECANISMO DE AÇÃO ANTIBACTERIANA EM NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS COM NANOPARTÍCULAS MÉTÁLICAS.....	12
3.5 NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA.....	14
3.6 NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA/PRATA.....	16
3.6.1 Método Grafting.....	16
3.6.2 Método Sol-Gel.....	17
3.7 NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS COM NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA/PRATA.....	19

3.8 DESENVOLVIMENTO CARGAS MISTAS.....	20
4 PARTE EXPERIMENTAL	21
4.1 MATERIAIS E REAGENTES.....	21
4.1.1 NPAGs Ligadas Covalentemente a Sílica.....	22
4.1.2 NPAGs Encapsuladas por Sílica no Processo Sol-gel.....	23
4.1.3 Polimerizações	24
4.2 POLIMERIZAÇÃO <i>IN SITU</i> NÃO SUPORTADA.....	25
4.3 POLIMERIZAÇÃO <i>IN SITU</i> COM CATALISADOR SUPORTADO.....	26
4.4 CARACTERIZAÇÕES.....	27
4.4.1 Espectrometria de emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES).....	28
4.4.2 Espalhamento de Raios X de Baixo Ângulo(SAXS).....	28
4.4.3 Análise Porosimétrica.....	28
4.4.3.1 NPAGs Ligadas Covalentemente a Sílica (SiAg).....	28
4.4.3.2 NPAGs Escapsuladas por Sílica pelo Método Sol-gel (SiAgE).....	29
4.4.4 Análise Termogravimétrica (TGA).....	29
4.4.5 Calorimetria Exploratória de Varredura (DSC).....	29
4.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	30
4.4.7 Difração de Raios X (DRX).....	30
4.4.8 Espectroscopia de Refletância Difuda (DRS).....	30
4.4.9 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier(FTIR).31	
4.4.10 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).....	31
4.4.11 Ângulo de Contato.....	31
4.4.12 Testes Antibacterianos de Contato.....	31
4.4.12.1 Método de Difusão de Disco	31
4.4.12.2 Método em Solução com Placas (Teste de contato).....	32
4.4.12.3 Método Parallel Streak.....	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	34
5.1 NANOPARTÍCULAS DE PRATA LIGADAS COVALENTE COM SÍLICA COLOIDAL (SiAg)	34
5.1.1 Caracterizações complementares das cargas SiAg	34
5.1.2 Processo de Suporte Da SiAg.....	40
5.1.3 Nanocompósitos Poliméricos PE/SiAg.....	42

5.2 NANOPARTÍCULAS DE PRATA ENCAPSULADAS POR SÍLICA PELO MÉTODO SOL-GEL (S).....	51
5.2.1 Caracterizações das cargas SiAgE.....	51
5.2.2 Caracterizações dos Nanocompósitos poliméricos PESiAgE.....	71
6 CONCLUSÃO.....	80
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
9 ANEXOS.....	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Nanopartícula de prata estabilizada com APTMS. $\text{Ag@Si(OCH}_3)_3$	5
Figura 2: Representação do processo de redução e estabilização de NPAGs proposto por Agnihotri.	6
Figura 3: (a) e (b) efeito da ação antimicrobiana de NPAGs em <i>E. coli</i> através da microscopia eletrônica de varredura (MEV); (c) e (d) através de microscopia eletrônica de transmissão (TEM).....	8
Figura 4: Mecanismo de ação antibacteriana para nanocompósitos poliméricos de matrizes termoplásticas com nanopartículas metálicas (1) adsorção de bactérias na superfície do polímero, assim o meio que circunda as bactérias difunde da água através da matriz polimérica; (2) a água com oxigênio dissolvido atinge a superfície das nanopartículas metálicas, iniciando os processos de dissolução ou corrosão e, com a liberação dos íons metálicos; (3) os íons metálicos atingem a superfície do nanocompósito danificando a membrana da bactéria; (4) Posteriormente, os íons metálicos podem se difundir para dentro das bactérias.	14
Figura 5: As reações químicas que ocorrem durante o processo sol-gel . (a) representando reações de hidrólise. (b) e (c) representando as reações de condensação através de dois mecanismos	18
Figura 6: Estrutura molecular dos reagentes utilizados para reduzir a Ag do AgNO_3	24
Figura 7: Esquema representando a síntese da NPAGs com sílica e suas respectivas polimerizações in situ.....	25
Figura 8: Polimerizações in situ não suportada.....	26
Figura 9: Polimerizações in situ suportada.	27
Figura 10: Placa de cultura de células comercial, com 12 poços de 2 mL.....	32
Figura 11: Estrutura multiescalar e estrutura de fractal de acordo com a Lei de Porod	36

Figura 12: Comparação das isotermas de adsorção-dessorção de N ₂ para as nanopartículas de SiAg sintetizadas. Inset) BJH Distribuição do tamanho de poros (D _{pBJH}).	37
Figura 13: Atividade antibacteriana de nanopartículas de SiAg HCOOH testadas com método de difusão em disco.....	39
Figura 14: Processo de suporte para a polimerização <i>in situ</i>	41
Figura 15: MEV de (a)(b) PE. (c)(d) PESiAg2 não suportado HCOOH. (e)(f) PESiAg2 não suportado NaOH.....	45
Figura 16: MEV das (a)(b) PESiAg8 não suportado HCOOH. (c)(d) PESiAg8 suportado HCOOH.....	46
Figura 17: Atividades antibacterianas dos nanocompósitos PE/SiAg e PE feitas com o teste de difusão em disco após 24h.....	47
Figura 18: Teste de toxicidade dos nanocompósitos. Gráfico mostrando o percentual (%) de inibição de crescimento das bactérias com relação a massa de filme do nanocompósito PESiAg8 NaOH.....	49
Figura 19: Imagens TEM das NPAs reduzidas pelos três métodos diferentes. (a) Ag APTES R1, (b) Ag APTES R2 e (c) Ag APTES R3.....	52
Figura 20: Difratoograma de raio X das amostras reduzidas com glicose (R2).	56
Figura 21: Espectro de FTIR para todos os sistemas SiAgE, R1 (a), R2 (b) e R3 (c)..	57
Figura 22: Espectro de DRS UV-VIS para todos os sistemas SiAgE, R1 (a), R2 (b) e R3 (c)..	58
Figura 23: Isotermas de adsorção-dessorção de N ₂ (a, c, e, g) e distribuição do diâmetro de poros (b, d, f, j) para todos sistemas SiAgE.....	62
Figura 24: Curvas de SAXS das amostras SiAgE 75 APTES R1 e Si R1, mostradas como exemplo de curvas que possuem 2 e 3 níveis em sua estrutura multiescalar.	65
Figura 25: Imagens de MEV das amostras (a) SiAgE 75 APTES R1; (b) SiAgE 75 APTES R2; (c) SiAgE 75 APTES R3.	68

Figura 26: Imagens do teste de difusão em disco para todos os sistemas SiAgE utilizando as bactérias <i>E coli</i> e <i>S. aureus</i>	70
Figura 27: Imagens de MEV do polietileno (sem carga) e dos nanocompósitos. (a) PE, (b) PESiAgE 75 APTES R1 and (c) PESiAgE 75 APTES R2	74
Figura 28: Teste antibacteriano de difusão em disco para o polietileno puro e os nanocompósitos PESiAgE utilizando <i>E. coli</i> . (a) Com o filme de PE (b) após retirar o filme do PE. (c) após retirar os filmes: 2 = PESi R1, 3 = PE/iAgE 55 R1 4 = PESiAgE 75 R1. (d) após retirar os filmes: 5 = PESi R2, 6 = PESiAgE 55 R2. (e) após retirar os filmes: 10 = PESi APTES R3, 11 = PESiAgE 55 APTES R3 e 12 = PESiAgE 75 APTES R3.	76
Figura 29: Atividade antibacteriana dos nanocompósitos PESiAgE pelo método Parallel Streak - AATCC 147. *(a) PESi75 R1 e PESiAgE 75 APTES R1 imagem feita por baixo da placa de petri utilizando <i>E. coli</i> ; **(b) PESiAgE 75 imagem por baixo (c) imagem por cima da placa de petri usando <i>E. coli</i> ; *(d) PESi APTES R3 e PESiAgE 75 APTES R3 imagem por baixo; (e) imagem por cima da placa de petri usando <i>S. aureus</i>	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Solventes e reagentes utilizados.....	22
Tabela 2: Análise de ICP OES para a determinação da concentração de Ag e resultados de SAXS para determinação de diâmetro das partículas e a Lei de Porod (<i>P</i>) nas nanopartículas de SiAg..	34
Tabela 3: Parâmetros isotérmicos BET: área superficial específica, volume de poro e diâmetro médio de poros de dessorção para SiAg.....	36
Tabela 4: Atividade antibacteriana a partir do método em solução com placa das nanopartículas de SiAg testadas com <i>Escherichia coli</i> , utilizando 20 mg de amostra nos poços de 2 mL.....	40
Tabela 5: Concentração de Zircônio após o processo de suporte do catalisador nas SiAg.	41
Tabela 6: Nanocompósitos de polietileno com SiAg, atividade catalítica e propriedades térmicas das polimerizações com 50 mg de carga.....	44
Tabela 7: Teste antibacteriano de toxicidade através do método de solução usando placas para amostra PESiAg8 NaOH frente a <i>Escherichia coli</i>	49
Tabela 8: Teste antibacteriano com <i>Escherichia coli</i> usando o método de contato usando placas com poços de 2 mL e 100 mg de massa de filme. O ângulo de contato.....	50
Tabela 9: Percentual em peso de Ag nas cargas SiAgE.....	53
Tabela 10: Resultados da análise de TGA de percentual (%) de peso perdido para amostras de SiAgE nas temperaturas de 100 e 800 °C.....	54
Tabela 11: Valores de area superficial e volume de poros obtidos pela técnica de Porosimetria de Nitrogênio (BET) para os sistemas SiAgE.....	60
Tabela 12: Análise de SAXS para a determinação dos diâmetros de partículas e o resultado da lei de Porod (<i>P</i>) para os sistemas SiAgE.....	66

Tabela 13: Atividade antibacteriana através do método de disusão em disco dos sistemas SiAgE testados com as bactérias <i>Escherichia coli</i> (Gram negativa) e <i>Staphylococcus aureus</i> (Gram positiva).....	69
Tabela 14: Nonocompósitos poliméricos com adição do sistema SiAgE. Atividade catalítica, percentual de Ag, percentual de carga e propriedades térmicas utilizando 100 g de carga.	72
Tabela 15: Resultados para o teste de ângulo de contato para os nanocompósitos e o polietileno puro.	77

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

Símbolos e abreviações	Descrição
APTES	(3-aminopropil)trietoxisilano
APTMS	(3-aminopropil)trimetoxisilano
Cp_2ZrCl_2	Dicloro bis(ciclopentadienil)zircônio IV)
MAO	Metilaluminoxano
NPAgs	Nanopartículas de prata
PEAD	polietileno de alta densidade
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PESiAg	Nanocompósitos poliméricos com carga de nanopartículas de prata ligadas covalentemente a sílica coloidal
PESiAgE	Nanocompósitos poliméricos com carga de nanopartículas de prata encapsuladas por sílica pelo método sol-gel
SiAg	Nanopartículas de prata ligadas covalentemente a sílica coloidal
SiAgE	Nanopartículas de prata encapsuladas por sílica pelo método sol-gel
T _c	Temperatura de cristalização
T _m	Temperatura de fusão
T _{máx}	Temperatura máxima de degradação
T _{onset}	Temperatura inicial de degradação
X _c	Cristalinidade

RESUMO

Dois diferentes tipos de nanopartículas de prata (NPAGs) e sílica foram sintetizadas para uso como carga antibacteriana em polietileno. As primeiras NPAGs foram ligadas covalentemente a sílica coloidal (SiAg) através de duas rotas (ácida e básica). As segundas NPAGs foram encapsuladas por sílica pelo método sol-gel (SiAgE). Para as duas cargas a síntese dos nanocompósitos foi realizada através da polimerização *in situ* de etileno utilizando o sistema catalítico Cp_2ZrCl_2/MAO (dicloro bis(ciclopentadienil)zircônio IV)/metilaluminoxano (MAO). As SiAg, foram caracterizadas por ICP OES, SAXS e BET determinando a concentração de prata, morfologia e tamanho. Os nanocompósitos (PESiAg) foram caracterizados por DSC, TGA e MEV. O teor de Ag dos mesmos também foi avaliado, assim como a sua atividade frente as bactérias, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*. Todas as amostras apresentaram ação antibacteriana. As SiAgE foram sintetizadas via três rotas de redução da prata: ácido cítrico (R1), glicose (R2) e glicerol (R3). As caracterizações foram através MEV, TGA, DRX, UV-VIS, FT-IR, BET, SAXS e atividade antibacteriana, verificando propriedades estruturais, texturais, morfológicas e antibacterianas. Tanto as cargas (SiAgE) quanto os nanocompósitos (PESiAgE) apresentaram propriedades antibacterianas frente *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Two different types of silver nanoparticles (NPAGs) and silica were synthesized for use as antibacterial filler in polyethylene. The first NPAGs were covalently bonded to colloidal silica (SiAg) through two routes (acid and basic). The second NPAGs were encapsulated by silica by the sol-gel method (SiAgE). The nanocomposites were developed by the in situ polymerization of ethylene using the catalytic system $\text{Cp}_2\text{ZrCl}_2/\text{MAO}$ (dichloride bis (cyclopentadienyl) zirconium IV)/Methylaluminoxane (MAO). The SiAg were characterized by ICP OES, SAXS and BET determining the concentration of silver, morphology and size. PESiAg the nanocomposites (PESiAg) were characterized by DSC, TGA and MEV. The concentration of Ag in the nanocomposites was also evaluated, as well as their bacterial activity against, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*. All samples presented antibacterial action. The SiAgE were synthesized via three silver reduction routes: citric acid (R1), glucose (R2) and glycerol (R3). The characterizations of the nanoparticles were through SEM, TGA, DRX, UV-VIS, FT-IR, BET, SAXS and antibacterial activity, verifying structural, textural, morphological and antibacterial properties. Both the fillers (SiAgE) and nanocomposites (PESiAgE) presented antibacterial properties against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

1 INTRODUÇÃO

Nanocompósitos poliméricos formados por uma matriz polimérica e uma nanocarga constituem um dos ramos mais importantes da nanotecnologia atual e da ciência dos materiais. O estudo da síntese dos mesmos é fundamental para a geração de novos materiais com alto desempenho e multifuncionalidades. Nas últimas décadas, muitas pesquisas foram realizadas com diferentes matrizes poliméricas (polietileno, polipropileno, poliestireno, acetato de polivinila, etc.) e diferentes nanocargas (grafeno, prata, ouro, argilas, sílica, etc.).¹⁻⁶

Em particular, as poliolefinas constituem uma matriz interessante. A sua indústria tem uma grande importância no Brasil e no mundo, pois estas são *commodities*, ou seja, materiais obtidos em grandes quantidades a baixo custo e que devido às suas excelentes propriedades como resistência mecânica, leveza e processabilidade, são amplamente utilizadas em diversos segmentos como, por exemplo, embalagens, construção, indústria automobilística, design e lazer, etc.⁷

Uma aplicação importante dos nanocompósitos poliméricos é em materiais antimicrobianos, não apenas em aplicações médicas, como cateteres, cânulas e próteses, mas também em embalagens de alimentos.⁸ Este tipo de nanocompósito pode ser obtido utilizando uma nanopartícula com propriedades antibacterianas e um dos destaques é a nanopartícula de prata (NPAs), devido à sua grande eficiência e baixa toxicidade, sendo assim permitida pelos órgãos reguladores desde que não haja lixiviação. Ela é capaz de agir fortemente contra um largo espectro de espécies bacterianas e fúngicas, incluindo as estirpes resistentes aos antibióticos.⁹

A prata pode ser usada tanto na forma de nanopartículas estabilizadas (Ag^0)¹⁰ ou de íons de prata (Ag^+).¹¹ Normalmente se usa um sal com prata para se obter nanopartículas, como por exemplo o nitrato de prata (AgNO_3). As nanopartículas são difíceis de dispersar em polímeros porque tendem a se aglomerar e o metal também tende a se oxidar. Uma estratégia para resolver esses problemas é o encapsulamento ou ligação direta do estabilizante a um suporte inerte, como, por exemplo a sílica. A preparação de NPAs e sílica pode ser conseguida pelo método de enxerto (grafiting)¹² ou por sol-gel.¹³

Existe uma série de métodos usados para a síntese de nanocompósitos com NPAs. Em geral eles são obtidos pela mistura direta das NPAs com o polímero (intercalação em solução ou fusão), mas, a distribuição das NPAs não é muito eficiente. A mistura direta das NPAs é simples e pode-se controlar facilmente o percentual de carga, mas este método pode induzir

agregação entre as nanopartículas.¹⁴ Outra forma de obtenção é a polimerização *in situ*, isto é, a polimerização do monômero na presença das NPAs. Esse método tende a melhorar as propriedades, devido à uma melhor distribuição das nanopartículas.^{15,16} Este fato é muito importante na síntese de nanocompósitos poliméricos, pois assim, garante um aumento na área superficial e de contato, afetando as propriedades de toda a matriz.³

A matriz polimérica de polietileno é a mais utilizada dentre as poliolefinas, pois é um material inerte, possui flexibilidade aceitável, transparência, boa processabilidade, estabilidade térmica, é reciclável e tem baixo custo.¹⁷ Devido a estas propriedades, o polietileno de alta densidade (PEAD) já é utilizado em aplicações médicas onde é necessário um material durável. Nesse sentido, é utilizado para embalagem de medicamentos e dispositivos, revestimento interno de cateteres ou como enxerto para aumento do contorno craniofacial em medicina.¹⁸

Para a polimerização *in situ* de etileno é necessário o uso de um catalisador e um catalisador para a reação do gás etileno. Os catalisadores mais utilizados na produção industrial de polietileno são os catalisadores Ziegler-Natta seguidos pelos metalocenos. Os complexos metalocênicos têm produzido polímeros com novas propriedades e novas aplicações, devido ao controle da massa molar e das distribuições dos co-monômeros.^{19,20} O suporte desses catalisadores metalocenos em cargas tem sido investigado nos últimos 30 anos. Muitas rotas para a imobilização têm sido propostas, levando a diferentes atividades catalíticas e propriedades do polímero.^{21,22} Geralmente, os polímeros produzidos com metalocenos suportados têm um peso molecular médio maior devido à uma redução na taxa de reações de terminação e uma morfologia controlada que tende a replicar o suporte.²³⁻²⁵ A imobilização de catalisadores de metaloceno sobre suportes é uma abordagem alternativa para a utilização dos catalisadores de metaloceno em plantas industriais.²⁶

Devido às inúmeras possibilidades nesta área de nanocompósitos com propriedades antimicrobianas, as pesquisas estão crescendo para se conseguir chegar a novos materiais que disponham de excelentes propriedades, e que possam ser utilizados em diversas áreas ajudando assim diretamente a sociedade brasileira e mundial.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Este projeto tem como objetivo sintetizar nanocompósitos de polietileno/sílica-Ag com atividade antibacteriana através da polimerização *in situ*. O objetivo final, neste estudo, é a obtenção de um material antimicrobiano com boa razão e dispersão entre a matriz polimérica e a carga com potencial para ser utilizado em diferentes aplicações.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar a diferença entre duas cargas de sílica-Ag. A primeira onde as NPAsg estão ligadas covalentemente a uma sílica coloidal e a segunda onde as NPAsg estão encapsuladas em sílica;
- Avaliar a eficiência de diferentes métodos de obtenção de nanopartículas de prata;
- Caracterizar as partículas obtidas em quanto ao seu tamanho, morfologia, teor de prata e atividade antimicrobiana;
- Comparar a polimerização *in situ* com catalisador suportado na carga e não suportado;
- Estudar as propriedades térmicas e antibacterianas de todos os nanocompósitos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NPAGs)

As nanopartículas de prata têm propriedades bem variadas que podem ser ajustadas conforme a sua aplicação. Essas propriedades podem ser, óticas, elétricas e térmicas, entre outras. Com isso, elas estão sendo incorporadas em diversos tipos de sensores fotovoltaicos, biológicos e químicos. Como exemplos desses sensores, pode-se apontar tintas condutoras e preenchimentos de construções, que utilizam NPAGs por sua alta condutividade elétrica, estabilidade e baixas temperaturas de sinterização.

As NPAGs também já são usadas em aplicações antibacterianas em vestuário, calçados, tintas, eletrodomésticos, cosméticos, plásticos e em revestimentos antimicrobianos. Esta tecnologia está avançando rápido e hoje em dia já se tem estudos de curativos e dispositivos biomédicos que liberam continuamente um baixo nível de íons de prata para fornecer proteção contra microorganismos.²⁷

3.1.1 Redução e estabilização das NPAGs

As propriedades das NPAGs dependem da sua forma e tamanho. Por isto, as primeiras etapas (redução e estabilização) de sua síntese são essenciais para se atingir o tipo de partícula que se deseja. As NPAGs podem ser usadas tanto na sua forma oxidada (Ag^+) como reduzida (Ag^0), mas em geral ela é mais eficiente na sua forma reduzida. A redução pode ser feita com diferentes reagentes como ácido ascórbico²⁸ ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), glicerol²⁹ ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$), glicose³⁰ ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), ácido cítrico³¹ ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), borohidreto de sódio³² (NaBH_4), entre outros. A estabilização da mesma forma pode ser realizada com diversos reagentes, como (3-aminopropil)triétoxissilano²⁹ ($\text{C}_9\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{Si}$) e citrato de sódio³² ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$).

Em 2003, Ivan Sondi obteve uma dispersão aquosa com alta concentração e com distribuição estreita de tamanhos das NPAGs.²⁸ Sua síntese consistiu na redução de nitrato de prata (AgNO_3) com ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) na presença do agente de estabilização Daxad 19 (sal de sódio, sulfonato de naftaleno e formaldeído). Sondi provou que para obtenção controlada de NPAGs é necessário estudar parâmetros como pH (potencial hidrogeniônico) e também é indispensável o uso de uma concentração controlada de um bom estabilizante. Em 2004, o mesmo autor testou suas NPAGs como agentes antimicrobianos com a *Escherichia*

coli (gram negativa).³³ A ação antibacteriana foi efetiva combatendo a parede celular das *E. coli*, onde foram encontradas NPAGs. Neste trabalho foi provado que a morfologia e tamanho das NPAGs interferem na ação antibacteriana.

Em 2006, dell'Erba sintetizou e caracterizou NPAGs ligadas covalentemente a sílica coloidal. Neste trabalho usou-se AgNO_3 como fonte de Ag e a redução foi feita com glicerol. O ponto chave desse estudo foi a estabilização das NPAGs com (3-aminopropil)trimetoxisilano (APTMS), onde consegue-se provar que a concentração do estabilizante é de extrema importância para o tamanho das NPAGs. Foram sintetizadas com 3 razões $\text{APTMS}/\text{Ag} = 2, 4$ e 8. Com isso conseguiu-se variar de 13 a 55 nm o diâmetro médio das nanopartículas. Quanto maior a razão menor foi o diâmetro. Na Figura 1 é mostrado um esquema da NPAGs estabilizada com APTMS.²⁹

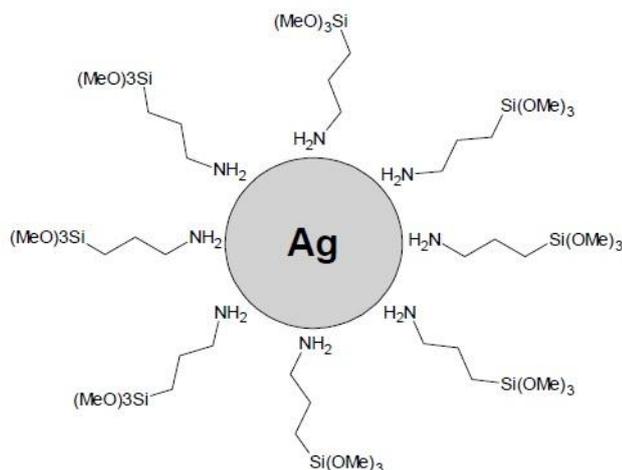


Figura 1. Nanopartícula de prata estabilizada com APTMS. $\text{Ag}@\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$.

Filippo em 2013 publicou um trabalho onde sintetizou NPAGs utilizando química verde. As NPAGs foram sintetizadas reduzindo o AgNO_3 com glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) e sucralose ($\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{O}_8$). Com essa química verde, conseguiu-se atingir tamanho médios de NPAGs de 4 a 10 nm, bem menores que as dos outros trabalhos publicados. Também conseguiu um bom rendimento na síntese das NPAGs e partículas com uma boa estabilidade térmica. O objetivo deste trabalho foi sintetizar NPAGs para sensores que detectam por colorimétrica visual a trietilamina ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$), mas, com esses diâmetros pode-se pensar que esta química verde possa ser usada para outras aplicações.³⁰

Outro reagente que pode ser utilizado na síntese de NPAGs tanto para reduzir, como para estabilizar é o ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$). Em 2010 Jiang estudou a síntese de nanoplaquetas de

prata e as reações que envolvem a formação dos produtos usando ácido cítrico como agente de redução. Neste trabalho comprovou-se que o íon citrato $[\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7]^{-3}$, que normalmente provem do ácido cítrico ou do citrato de sódio, reduz íons de prata e ouro. Na abordagem proposta do trabalho, constatou-se que a reação de redução unicamente com ácido cítrico à temperatura ambiente leva mais de uma semana para reduzir os íons de prata e também necessita de uma razão molar de 3:1 de ácido cítrico/Ag. Além disso, apresenta uma ampla distribuição de tamanho. Esses fatos parecem prejudicar uma grande produção, mas, dependendo da proposta pode ser estratégica a utilização.

Na Figura 2 pode ser observado um mecanismo de formação e estabilização das NPAs proposto por Agnihotri em 2013, aonde usou-se borohidreto de sódio (NaBH_4) como redutor e citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) como estabilizante.

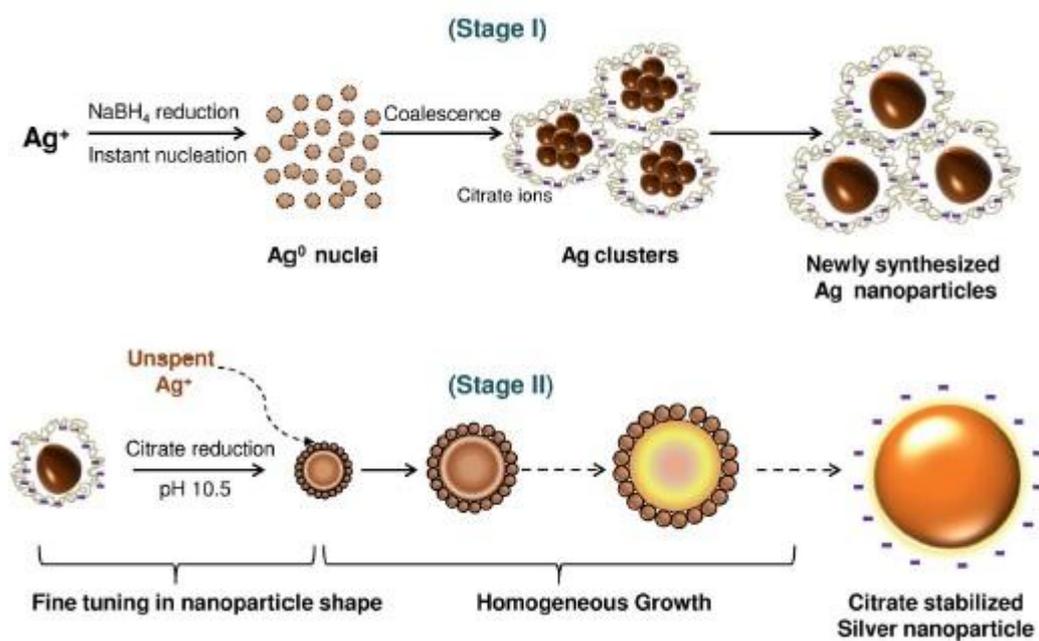


Figura 2. Representação do processo de redução e estabilização de NPAs proposto por Agnihotri.³²

3.1.2 Propriedades Antibacterianas

Já é conhecido que a prata e seus compostos têm fortes efeitos inibitórios e antimicrobianos, todos eles mostram amplo espectro de atividades antimicrobianas para bactérias, fungos e vírus desde a antiguidade.³⁴⁻³⁶

O mecanismo da função antibacteriana das nanopartículas de prata está associado à interação entre a prata e o composto do grupo tiol (composto organossulfurado que contém na sua estrutura um grupo –SH, enxofre e hidrogênio ligado covalentemente a um carbono orgânico) em células de fungos e bactérias.³⁷

Em comparação com outros metais, a prata (Ag^+) exibe maior toxicidade para microrganismos, enquanto exibe menor toxicidade para as células de mamíferos.³⁸ Os efeitos tóxicos da prata sobre as bactérias têm sido investigados por mais de 60 anos.³⁹ Em comparação com as partículas de prata normais, as nanopartículas de prata têm propriedades antibacterianas e antifúngicas favoráveis devido à sua área superficial extremamente grande que permite um melhor contato com microrganismos de bactérias e fungos. Além disso, as NPAGs não só se ligam às membranas celulares, mas também as penetram.³⁴

No caso de *Escherichia coli*, todo o metabolismo é afetado como por exemplo a absorção de fosfato (PO_4^{-3}). Também a liberação de grupos como: manitol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$), succinato ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4^{-2}$), prolina ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$) e glutamina ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$) são inibidos pela presença de prata. Portanto, as nanopartículas de prata podem ser usadas como inibidor efetivo do crescimento em vários microrganismos, e são aplicáveis a diferentes sistemas de controle antibacterianos^{40,41}

Quando uma célula bacteriana é penetrada por NPAGs, há a formação de uma região de baixo peso molecular dentro das bactérias. Assim, as organelas se juntam para proteger o núcleo (DNA) das NPAGs. Conseqüentemente, as NPAGs atacam preferencialmente a cadeia respiratória (mitocôndrias) e a divisão celular (núcleo) finalmente levando à morte celular.^{34,42}

O modelo de ação das NPAGs foi descrito e comprovado por Wen-Ru Li em 2010, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e é mostrado na Figura 3, reportada de seu artigo. Em primeiro lugar as NPAGs permeiam a membrana externa provocando uma ruptura o que resulta no vazamento de materiais celulares. Em segundo lugar, as NPAGs entram na membrana interna e inativam as desidrogenase (enzimas que catalisam reações de óxido-redução) da cadeia respiratória, inibindo assim a respiração e o crescimento das células. Simultaneamente, as NPAGs podem afetar algumas proteínas e lipídios de fosfato e induzir o colapso da membrana, resultando em decomposição celular.³⁴

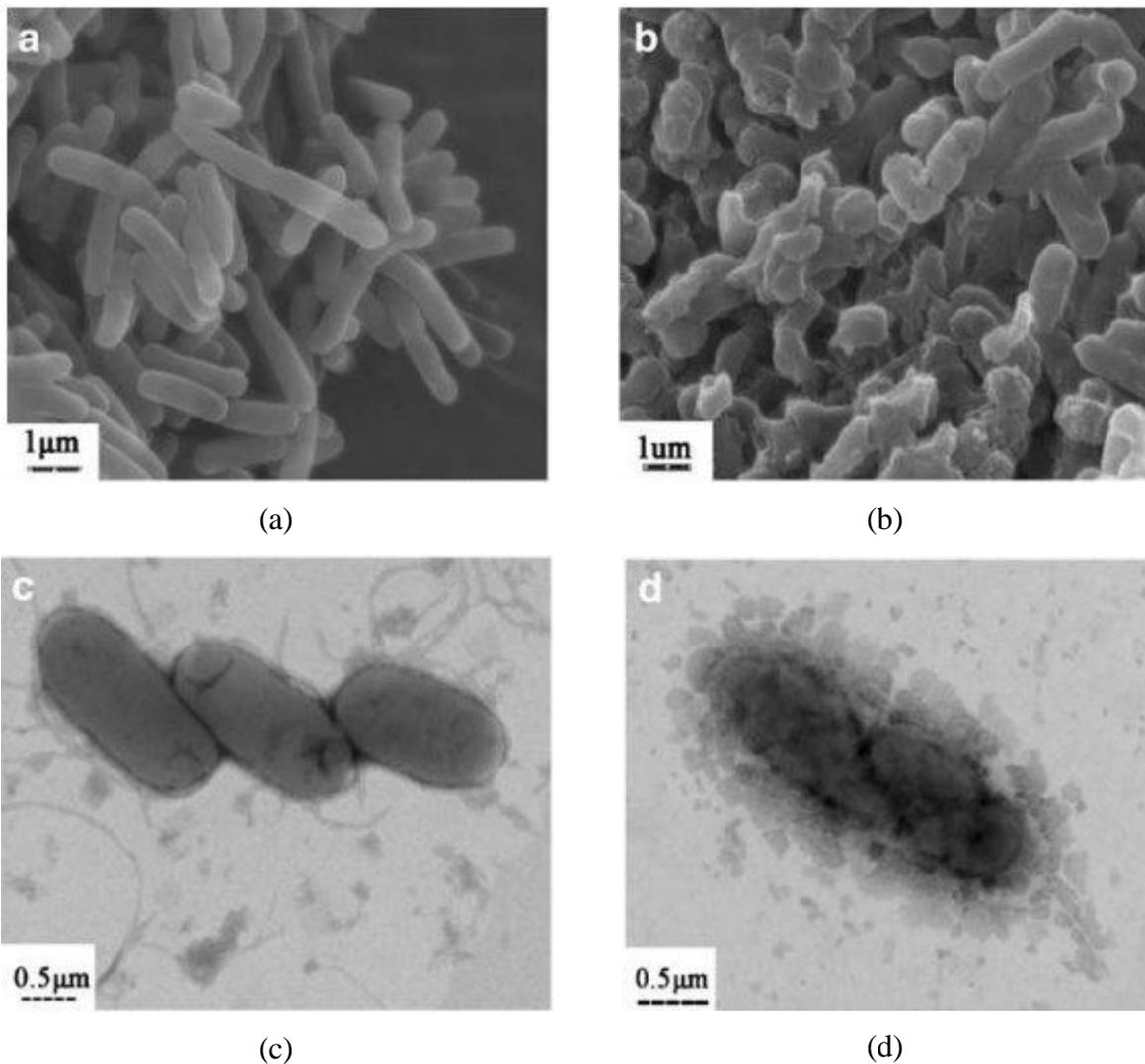


Figura 3. Efeito da ação antimicrobiana de NPAGs em *E. coli*: (a) e (b) através da microscopia eletrônica de varredura (MEV); (c) e (d) através da microscopia eletrônica de transmissão (TEM).

3.1.3 Toxicidade das NPAGs em células humanas

Nos últimos anos têm crescido muito a manipulação de materiais nanométricos, pois, esta nova tecnologia é utilizada em diversos materiais para melhorar suas performances. Um bom exemplo são as nanopartículas de prata (NPAGs) que devido às suas propriedades antissépticas, já são usadas em quase todas as áreas da vida.

A crescente popularidade dos nanomateriais expandiu muito na ciência dos materiais, mas, também acendeu um alerta sobre a possível toxicidade dos mesmos. Assim, já se tem estudos sistemáticos dos seus efeitos sobre o corpo humano, pois, se sabe que nanopartículas de tamanhos menores que 100 nm, podem penetrar no corpo humano.^{43,44} As NPAGs podem

penetrar no corpo humano através de inalação, injeção, ingestão de alimento ou através da pele.⁴⁵ Alguns autores como Sonavone em 2008⁴⁶ Conner em 2003⁴⁷ estudaram o efeito do tamanho de partícula após introdução endovenosa. Foi demonstrado que nanopartículas menores que 30 nm podem penetrar nas células por endocitose, e menores que 12 nm podem passar pela barreira hematoencefálica.

Preocupado com possíveis efeitos tóxicos em humanos, Tang em 2009 fez um estudo de distribuição, deslocamento e acumulação de nanopartículas de prata em ratos. Ele apontou que quando as NPAGs entram no corpo, são reconhecidas pelas células do sistema imunológico dos ratos/humano, então são deslocadas pelo sangue e são acumuladas nos principais órgãos, em particular rim, fígado, baço ou cérebro. Ele usa este modelo demonstrado em ratos para tentar mostrar que nos humanos também acontece.⁴⁸

Em 2017 Barbasz, estudou o impacto sobre as células do sistema imunológico humano de NPAGs usando três tipos diferentes de sais com prata (Nitrato de prata “AgNO₃”, Acetato de prata “CH₃COOAg” e Perclorato de prata “AgClO₄”). As células humanas escolhidas para o estudo foram linfoma histiocítico (U-937) e leucêmicas promielocítica (HL-60). O objetivo do estudo foi examinar se os precursores usado para a síntese de nanopartículas afeta sua bio-influência e se há impacto sobre as células.⁴⁹ Barbasz verificou a toxicidade dos sais utilizados e determinou que eles são mais tóxicos que as NPAGs proveniente deles. Uma dose desses sais de 5 mg.L⁻¹ já diminui a viabilidade celular em 60%. O sal precursor mais tóxico foi o AgClO₄ e para todos as NPAGs os subprodutos da reação interferiram muito. O autor aponta que informações sobre o precursor da síntese devem ser anexadas às nanopartículas comercialmente disponíveis e que um processo de lavagem e separação das NPAGs desses subprodutos é de extrema importância.

Em 2013 Fúnez estudou a toxicidade de NPAGs *in vitro* em células tumorais e células normais humanas. Quatro diferentes linhas celulares humanas foram estudadas (hepatoma, leucemia, fibroblastos dérmicos e pulmonares), para compreender o impacto desses nanomateriais nas funções biológicas celulares. Foram usadas NPAGs comerciais estabilizadas com o íon citrato [C₆H₅O₇]⁻³ de diâmetros médios de 30-157 nm em solução aquosa. Foram testadas diferentes concentrações de NPAGs em diferentes tempos. Os resultados mostraram que as células tumorais sofreram mais na presença das NPAGs do que as células normais. Por outro lado, todas as células sofreram em sua função mitocondrial (respiração celular) com concentrações de NPAGs superiores a 6,72 µg.mL⁻¹. Também foi observado que as NPAGs aglomeraram após a incubação no meio de cultura das células. Assim, o diâmetro médio variou de 191 a 216 nm. Neste mesmo trabalho foi utilizado um

antioxidante para as NPAGs o *N*-acetilcisteína (NAC) com fórmula química $C_5H_9NO_3S$ e foi visto que a toxicidade baixou. Assim, a NAC protege as células humanas contra citotoxicidade das NPAGs, sugerindo que o estresse oxidativo é em parte responsável pelo efeito citotóxico das NPAGs.⁵⁰

3.2 POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE (PEAD)

Um dos polímeros mais produzidos no mundo é o polietileno (PE). Isto se deve ao seu baixo custo, capacidade de reciclagem, fácil processamento e versatilidade. O PE é da família das poliolefinas, que são polímeros que têm como monômero um alceno simples (fórmula geral C_nH_{2n}). Existem os polietilenos de alta densidade (PEAD) e os polietilenos de baixa densidade (PEBD). O PEAD destaca-se pela alta massa molar e baixo teor de ramificação. O baixo teor de ramificações faz com que o PEAD tenha maior densidade, fazendo com que o alinhamento, a orientação e o empacotamento das cadeias sejam mais eficientes. Isso proporciona maior cristalinidade, portanto aumenta a temperatura de fusão do polímero. Sua temperatura de fusão cristalina é igual a aproximadamente 132°C e sua densidade está entre $0,95$ e $0,97 \text{ g.cm}^{-3}$. A massa molar numérica média fica na faixa de 50.000 a $250.000 \text{ g.mol}^{-1}$.⁵¹

A síntese de PEAD através da polimerização do monômero, pode ser obtida a partir de catalisadores Ziegler-Natta, que produz polímeros com uma larga polidispersão e catalisadores metalocênicos, que fornecem estreita polidispersão. Os polímeros produzidos por catalisadores metalocênicos tem excelentes propriedades mecânicas e ópticas. Por outro lado, eles têm problemas com a sua processabilidade. Isso se deve a estreita distribuição de massa molar ($M_w/M_n \sim 2$).⁵²

As propriedades do PEAD dependem de sua massa molar que influência principalmente a morfologia da amostra, a cinética de cristalização e cristalinidade final. O PEAD de baixa massa molar é frágil e quebra sob baixas deformações. Com respeito as ramificações, o aumento do seu número reduz a cristalinidade, o que interfere nas propriedades mecânicas (reduzindo). Portanto, a orientação das cadeias poliméricas, as propriedades mecânicas, o número de ramificações, são bastante afetadas pela massa molar. Materiais fabricados com PEAD altamente orientado são aproximadamente dez vezes mais resistentes do que os fabricados a partir do polímero não orientado, pois a orientação aumenta o empacotamento das cadeias e conseqüentemente aumenta a rigidez do polímero.⁵²

3.3 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS

Nanocompósitos poliméricos são materiais híbridos formados geralmente por uma matriz polimérica orgânica e por uma carga inorgânica dispersa que tem pelos menos uma dimensão na faixa nanométrica.^{16,53}

A dispersão da carga é um passo crucial para a produção de nanocompósitos poliméricos, pois, quando bem dispersa, garante uma máxima área superficial reforçada, o que afeta as cadeias poliméricas vizinhas e, conseqüentemente, as propriedades de toda a matriz. Os métodos mais usados para preparação de nanocompósitos são chamados de polimerização intercalante *in situ* (*In situ intercalative polymerization*), intercalação em solução (*Solution intercalation*) e intercalação no fundido (*Melt intercalation*).¹

3.3.1 Polimerização *In Situ*

No método de polimerização intercalante *in situ* a nanocarga é primeiro misturada com o monômero puro (ou monômeros múltiplos), ou uma solução de monômeros, então um iniciador apropriado é difundido e a polimerização é iniciada, quer por calor ou radiação. Este meio contém a presença do sistema catalítico e da carga dispersa. Ao final da polimerização, o nanocompósito é precipitado em um solvente adequado, para posterior lavagem e secagem.⁵⁴

A cadeia polimérica se forma entre a carga, e dessa maneira promove naturalmente a distribuição, tentando evitar a aglomeração das mesmas. Outro ponto positivo é que a formação da cadeia polimérica na presença da carga confere fortes interações entre carga e fase polimérica. Normalmente o sistema catalítico está presente no sistema em solução (homogêneo), mas, pode-se também mudar o sistema e deixá-lo heterogêneo fazendo reações de suporte do catalisador na carga. Assim, o polímero cresce a partir dela.^{16,55}

3.3.2 Polimerização Intercalante em Solução

O método de intercalação em solução baseia-se num sistema de solvente em que o polímero ou pré-polímero junto com a nanocarga é solubilizado ou inchado, então, o polímero é adsorvido sobre a superfície da carga quando o solvente é evaporado formando assim o nanocompósito. As cadeias poliméricas começam a se misturar com a carga fazendo com que as cadeias poliméricas encapsulem a carga. Quando ocorre a precipitação e o nanocompósito pode ser extraído, seco e processado.

Uma parte crítica deste processo é a remoção do solvente utilizado. Uma alternativa é removê-lo por evaporação. No entanto, quando se emprega a evaporação, pode ocorrer uma agregação da carga no compósito, o que é prejudicial às propriedades do mesmo. Quando o solvente é removido, a carga tende a se acomodar entre as cadeias poliméricas, formando assim o nanocompósito.^{54,56} No entanto, deve-se ter cautela com esse procedimento porque normalmente solventes orgânicos comuns podem ter interação ou solubilizar ou dissociar a carga também, assim, não conseguindo retirá-los depois.⁵⁷

3.3.2 Polimerização Intercalante por Fusão

No método de intercalação no fundido a nanocarga é misturada mecanicamente em temperaturas elevadas com a matriz de polímero no estado fundido. Não é necessário o uso de solventes. Um dos métodos convencionais é, por exemplo, a extrusão. As cadeias poliméricas fundidas são intercaladas ou esfoliadas para formar o nanocompósito. Este método é bastante empregado com termoplásticos. A vantagem é de ser um método considerado mais econômico por não usar solvente. A desvantagem desse método é não propiciar o mesmo nível de dispersão da carga, comparado com o método de intercalação em solução ou o método de polimerização *in situ*. Este grau de dispersão reduzido pode resultar em propriedades mais pobres, como as propriedades mecânicas, antibacterianas, entre outras. A carga não tendo uma distribuição boa, o nanocompósito fica com diferenças em sua estrutura.^{54,56,57}

3.4 MECANISMO DE AÇÃO ANTIBACTERIANA EM NANOCOMPÓSITOS POLIMERICOS COM NANOPARTÍCULAS MÉTÁLICAS

A ação antibacteriana das nanopartículas metálicas já foi apresentada na seção 3.1.3. Porém, nesta parte mostra-se estudos sobre o mecanismo de ação antibacteriana dessas nanopartículas presentes em matrizes poliméricas densas e apolares como os termoplásticos.

Palza em 2015, em um trabalho de revisão, apresentou um mecanismo de ação antibacteriana para os nanocompósitos.⁴¹ Este autor afirma que como a matriz polimérica é inerte, a ação antimicrobiana é similar à das cargas e irá depender unicamente da maior ou menor mobilidade destas no *bulk*.⁵⁸ Assim, são propostas duas rotas possíveis de ação, que dependem das espécies consideradas ativas. A primeira rota considera a própria nanopartícula

metálica como espécie ativa e a segunda os íons metálicos liberados pelas nanopartículas.⁵⁹ Nos últimos anos, um número crescente de relatórios indica que a liberação de íons é a força motriz por trás das propriedades antimicrobianas de nanopartículas antibacterianas e por consequência dos nanocompósitos, remetendo-se ao segundo caso.

Palza também aponta que a maioria das análises em relação às nanopartículas de metais antimicrobianos focam na liberação de íons metálicos em vez da nanopartícula absorvida pelas bactérias.⁶⁰ Isto é confirmado pelos resultados obtidos em estudos utilizando nanocompósitos poliméricos com nanopartículas metálicas, onde, o efeito antimicrobiano destes materiais está relacionado com íons metálicos libertados em vez de com a lixiviação da nanopartícula.^{61,62}

Como mencionado acima, a liberação de íons é o principal mecanismo por trás da atividade antimicrobianas em polímeros densos como os termoplásticos com nanopartículas metálicas incorporadas. Um estudo feito por espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) mostrou que essas nanopartículas não estão presentes na superfície desses nanocompósitos⁶¹ e sim no *bulk* do material.⁶³ Posteriormente os nanocompósitos foram colocados em contato com a água e foi possível observar íons metálicos na superfície, ou seja, a difusão foi somente dos íons. Mesmas matrizes altamente não polares, como polietileno ou polipropileno, permitem a difusão de moléculas de água. A interface e defeitos dos polímeros podem aumentar ainda mais a difusão de água através de buracos em escala de micro, permitindo uma rápida difusão do tipo *Knudsen*.⁶⁴ Portanto, o único mecanismo adequado para a liberação de íons metálicos é a corrosão das nanopartículas presentes no *bulk* do polímero, devido à difusão de moléculas de água provenientes do meio bacteriano para a superfície das nanopartículas.⁶⁵ Na Figura 4 o mecanismo de ação antibacteriana proposto no trabalho de Palza é mostrado.

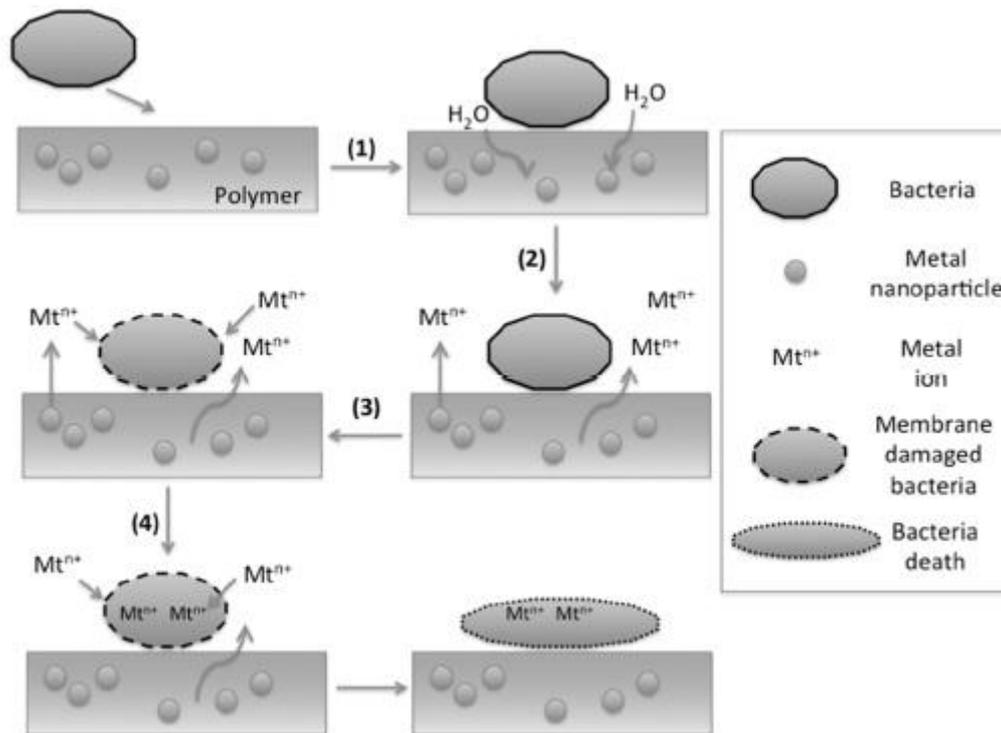


Figura 4. Mecanismo de ação antibacteriana para nanocompósitos poliméricos de matrizes termoplásticas com nanopartículas metálicas (1) adsorção de bactérias na superfície do polímero, assim o meio que circunda as bactérias difunde da água através da matriz polimérica; (2) a água com oxigênio dissolvido atinge a superfície das nanopartículas metálicas, iniciando os processos de dissolução ou corrosão e, com a liberação dos íons metálicos; (3) os íons metálicos atingem a superfície do nanocompósito danificando a membrana da bactéria; (4) Posteriormente, os íons metálicos podem se difundir para dentro das bactérias.⁴¹

3.5 NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Para que a eficiência destes nanocompósitos poliméricos com NPAs seja boa, existem alguns parâmetros bem relevantes. A distribuição das nanopartículas é importante, assim como vários outros parâmetros cruciais, incluindo: tamanho de partícula, grau de distribuição de partículas, teor de prata e interação da superfície de prata com a matriz polimérica.⁸

Diversos microcompósitos têm sido estudados nos últimos anos para a obtenção de materiais com eficácia antimicrobiana e, mais recentemente, nanocompósitos com prata. Comparando com os microcompósitos, os nanocompósitos possuem melhores propriedades, tanto nas iniciais da matriz polimérica (térmicas, mecânicas), como na adição de alguma

como por exemplo a propriedade antimicrobiana.⁶⁶ Estas melhorias são conseguidas com baixa concentração de carga (1-10 p.p⁻¹%).⁶⁷

Partículas de prata foram incorporadas em diferentes polímeros como poliuretano⁶⁸, poliéster⁶⁹, poliamida⁷⁰, polipropileno⁷¹ e poliacrilato⁷² pelo método de fusão. Também a polimerização *in situ* de polietileno já foi testada diretamente com NPAGs e sintetizaram ótimos nanocompósitos para aplicações antimicrobianas. Um exemplo é Zapata em 2011, que estudou nanocompósitos de polietileno com nanopartículas de prata, sintetizados através da polimerização *in situ* para obtenção de propriedades antimicrobianas.¹⁰ Neste trabalho foi feita a síntese das NPAGs reduzindo o nitrato de prata (AgNO₃) e estabilizando as nanopartículas com ácido oleico, posteriormente foram levadas ao reator para a polimerização *in situ*. O percentual de carga usado variou de 1 a 5% em massa. A atividade catalítica das reações foram altas, com valores de 3400 para o polietileno puro e uma faixa de 2260 a 2490 para os nanocompósitos. Como esperado, os nanocompósitos obtiveram uma boa atividade antimicrobiana perante a bactéria *E. Coli* com uma baixa concentração das NPAGs. Porém, não se obteve uma uniformidade nos tamanhos das nanopartículas nem na distribuição das mesmas na matriz polimérica, levando assim a uma diminuição da cristalinidade.

Usando uma técnica de intercalação por solução Anh em 2016 no seu trabalho sintetizando nanocompósitos, utilizou polietileno comercial para adicionar NPAGs e obter propriedades antibacterianas frente a *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Salmonella typhimurium*. Ele sintetizou as NPAGs e posteriormente colocou-as em uma solução com tolueno e o polietileno comercial, misturando e aquecendo todos os materiais para o polímero solubilizar e se misturar com a carga. Então a mistura líquida foi moldada em bandejas redondas de alumínio. Esses nanocompósitos possuíam o percentual em peso de NPAGs de 5 x 10⁻⁵, 5 x 10⁻⁴ e 5 x 10⁻³%. Foram feitos filmes e averiguado as suas propriedades. As propriedades térmicas e mecânicas não mudaram em relação ao polímero puro. As propriedades antibacterianas foram testadas com uma solução contendo as bactérias (concentração fixa) em um erlenmeyer e adicionados então os filmes. A eficiência foi testada pela taxa de crescimento da concentração das bactérias. E chegou-se ao resultado que a taxa de crescimento das bactérias com os nanocompósitos foi afetada após 1,5h, 3h e 6h, comparado com o polímero puro. Mostrando assim que há uma propriedade antibacteriana nos filmes, impedindo a proliferação normal das bactérias.⁷³

3.6 NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA/PRATA

Com o objetivo de controlar a estabilização das NPAGs e a distribuição de tamanho, entre outros fatores, muitos estudos estão sendo voltados para a síntese das NPAGs. Uma das possibilidades é produzir uma ligação covalente das NPAGs a um suporte adequado (*grafting*) ou encapsular essas nanopartículas (sol-gel). Um desses suportes pode ser a sílica. A sílica gel é um polímero poroso inorgânico que tem sido usado extensivamente como um material de suporte inerte devido à sua estabilidade química, mecânica e térmica.^{74,75} Este material apresenta uma interessante área de superfície e porosidade controlável, além disso, contém um grande número de grupos silanol (SiOH) na superfície, o que possibilita reações de grupos funcionais orgânicos.⁷⁶

3.6.1 Método *Grafting*

O método de enxerto ou *grafting* consiste na reação dos grupos silanóis presentes na superfície da sílica com os grupos reativos do composto que será ligado. Um bom exemplo são grupos de compostos orgânicos como cloretos, alcóxidos, hidretos, entre outros. Um aspecto importante do processo é conhecer a interface entre as nanopartículas e o suporte.⁷⁷ Neste método de imobilização, variáveis como o efeito estérico desempenhado pelo grupo a ser ligado, bem como a densidade dos grupos silanóis sobre a superfície da sílica influenciam a natureza e a concentração das espécies de superfície geradas. Todo este processo de *grafting* é bastante reprodutível.⁷⁸

Dell'Erba²⁹ sintetizou NPAGs utilizando glicerol como agente redutor e como estabilizante 3-aminopropiltrimetoxissilano (APTMS). Diferentes quantidades deste estabilizante foram usadas e observou-se diferença no diâmetro médio das NPAGs obtidas, quanto maior foi a adição de estabilizante, menor o diâmetro. A nanopartícula foi sintetizada ligando as NPAGs covalentemente à superfície de uma sílica coloidal por hidrólise e condensação na superfície através do seu estabilizante (APTMS). As reações na superfície da sílica foram feitas através de uma rota básica utilizando NaOH. Os grupos envolvidos na reação foram Si-O-C terminais do estabilizador se ligando aos grupos SiOH da superficiais de sílica. Assim produzindo a espécie Si-O-Si confirmada neste trabalho. Esta sílica coloidal revestida com NPAGs (SiAg) mostrou propriedades antibacterianas contra *Escherichia coli*.

Em outro trabalho envolvendo o método de *grafting* Silveira em 2010 suportou um catalisador metalocênico em diferentes estruturas de sílica para a utilização desse sistema na

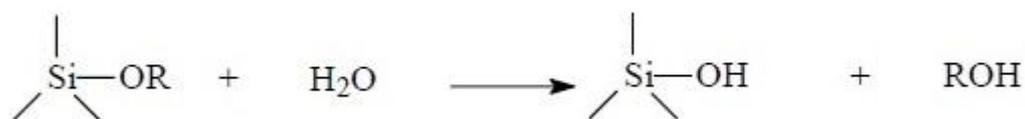
polimerização de etileno. As reações na superfície das sílicas foram realizadas diretamente nos catalisadores $(n\text{-BuCp})_2\text{ZrCl}_2$ Cp_2ZrCl_2 , também com um cocatalisador Metilaluminoxano (MAO). Os materiais foram misturados a temperatura ambiente durante 30 min. As reações envolvidas quando se usou diretamente os catalisadores foram dos grupos SiOH da sílica com o Zircônio dos catalisadoras. Quando se utilizou MAO, as reações na superfície foram entre os grupos SiOH da sílica com o Alumínio do MAO e posteriormente uma reação iônica entre o MAO e os catalisadores. Esse método funcionou para a polimerização de etileno obtendo boas atividades catalíticas. A maior atividade foi obtida quando se utilizou o MAO.²¹

3.6.2 Método Sol-Gel

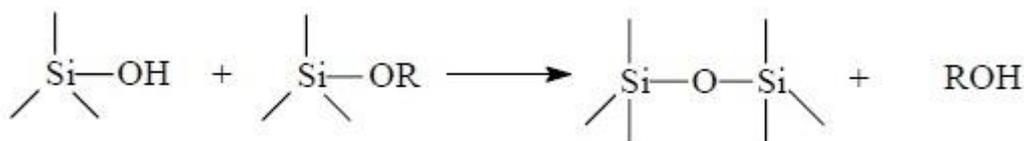
A palavra sol-gel provem de sol, que é usado para designar uma suspensão estável de partículas sólidas ou polímeros de tamanho coloidal em um líquido. A parte gel consiste em uma contínua rede sólida tridimensional formada por síis em um líquido. O método sol-gel pode ser definido como o crescimento e agregação de partículas coloidais para formar um gel. Atualmente, essa definição vem sendo expandida para incluir todos os processos em fase líquida de preparação de materiais cerâmicos. A gelificação (formação de géis) ocorre através da formação de ligações covalentes e é um processo irreversível.⁷⁹

A obtenção de sílica pelo método sol-gel pode ser obtida por vários tipos de precursores. Os mais usados são as soluções aquosas de silicatos de sódio e alcoxisilanos. Assim, a obtenção de sílica é composta de diversas etapas que serão subsequentemente discutidas: formação do sol, gelificação, envelhecimento e secagem.⁸⁰

O sol é formado através de sucessivas etapas de reações de hidrólise e condensação de uma solução contendo o alcoxisilano possui fórmula genérica $\text{Si}(\text{OR})_4$, onde R é um grupo orgânico. Dentre os alcoxisilanos, o tetrametoxisilano e tetraetoxisilano são os mais utilizados. Eles são usualmente conhecidos pelas siglas TMS e TEOS, respectivamente.^{81,82} As reações químicas durante o processo sol-gel podem ser formalmente descritas por três equações e são mostradas na Figura 5. As reações de hidrólise (Figura 5 a) são requeridas para gerar grupos silanóis a partir de grupos alcóxidos. A condensação pode acontecer através de dois mecanismos: via produção de álcool (Figura 5b) ou água (Figura 5c).^{79,81}



(a)



(b)



(c)

Figura 5. As reações químicas que ocorrem durante o processo sol-gel . (a) representando reações de hidrólise. (b) e (c) representando as reações de condensação através de dois mecanismos.⁸¹

Após o processo sol, vem o a gelificação. Processo na qual ocorre a formação da rede tridimensional contínua formada pela aglomeração das partículas oligoméricas presentes no sol. O tempo de gelificação do sol pode ser definido como o ponto onde ocorre o aumento brusco da viscosidade do sistema e o gel elástico formado cobre todo o espaço que era inicialmente ocupado pela solução de partículas do sol.⁸² Em seu livro Sacks e Sheu em 1986 desenvolveram um dos métodos mais precisos para a medida do tempo de gelificação. Esse método é baseado na resposta viscoelástica como uma função da taxa de cisalhamento.⁸³

O envelhecimento é o fenômeno que aumenta a dureza do gel, pois, as reações químicas não terminam na gelificação. Continuam a acontecer rearranjos estruturais, por certo tempo, dentro do interior dos poros do gel molhado. O envelhecimento é atribuído a diversos fatores, tais como: a condensação de partículas oligoméricas no interior dos poros, condensação de grupos Si-OH ou S-OR da rede do gel com conseqüente retração da mesma e expulsão do líquido dos poros entre outros.⁸¹

A secagem do gel é realizada por evaporação do solvente presente no interior dos poros. Quando ela acontece o gel retrai devido à perda do líquido por evaporação, e a interface líquido-vapor permanece na superfície externa do gel. Quando esta fase passa temos a

interface líquido-vapor remetendo-se somente para o interior dos poros do gel. Na parte final, o filme líquido nos poros é rompido e, eventualmente, o líquido que está em cavidades isoladas pode sair por difusão gasosa.⁸¹

Utilizando o processo sol-gel para o encapsulamento de NPAGs em sílica Kobayashi em 2005⁸⁴ sintetizou nanopartículas de sílica com prata (SiAg) pelo método de Stöber,⁸⁵ reduzindo AgClO_4 com NaBH_4 e estabilizando as NPAGs com citrato de sódio $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$. Posteriormente foi adicionado tetraetoxissilano (TEOS) em etanol à solução coloidal de NPAGs. Foi necessário dimethylamine (DMA) para iniciar o processo de encapsulamento. Neste estudo observou-se que é possível controlar a espessura das NPAGs com a concentração de TEOS. O tamanho médio das silicas variaram de 28 para 76 nm mudando a concentração de TEOS de 1 a 15mM.

A utilização deste processo sol-gel pode ser empregada para se sintetizar vários tipos de materiais antimicrobianos. Como exemplo, Jeon em 2003 preparou filmes finos de Ag-SiO_2 .⁸⁶ Inicialmente a solução utilizada foi $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ -(TEOS): AgNO_3 : H_2O : $\text{C}_2\text{H}_5\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ -(2-etoxietanol) na razão molar de 1:0,24:3,75:2,2. Na primeira etapa de síntese o TEOS e o 2-etoxietanol foram misturados na temperatura ambiente e HNO_3 foi adicionado como catalisador para controlar o pH e iniciar a hidrólise. Após 4 h foi adicionado AgNO_3 e deixado reagir por 2h, assim, houve a formação do sol da síntese Ag-SiO_2 . Como substrato de revestimento, utilizaram-se vidro opticamente transparentes. Sobre este vidro foi feito um processo de revestimento na taxa de $16,7 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$. Então as amostras foram secas ao ar a 100°C durante 30 min.. O autor explica que para obter filmes finos uniformes, transparentes e sem fissuras as amostras foram tratadas termicamente ao ar na faixa de temperatura de 200°C a 600°C por 30 min. Após tratamento térmico, foram obtidos filmes de revestimento transparentes amarelos, que obtiveram excelentes propriedades antibacterianas perante *E. Coli* e *S. aureus*.

3.7 NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS COM NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA/PRATA

Nanocompósitos poliméricos com sílica e prata são conhecidos por melhorar ou adicionar mais de um tipo de propriedade à matriz polimérica, como por exemplo, propriedades mecânicas e antimicrobianas. Eles são diferentes dependendo da rota de síntese das nanopartículas e da matriz polimérica escolhida.

Suktha⁸⁷ sintetizou nanopartículas de sílica pelo método de Stöber e misturou com as nanopartículas de prata que foram reduzidas com (+)glicose. Assim, ele conseguiu uma espessura média de sílica de 17 nm e uma espessura média para sílica e prata (NP SiO₂@Ag) de 21 nm. O nanocompósito com matriz polimérica de polipropileno foi obtido pelo método de intercalação em solução. Ele apresentou alta atividade antibacteriana ($\pm 99\%$) com baixa concentração de Ag (0,05 p.p⁻¹%).

Em outro trabalho envolvendo nanocompósitos, Egger⁸⁸ sintetizou sílica-prata e comparou suas propriedades antimicrobianas com AgNO₃ convencional e com uma carga de zeólita com prata (38% Ag). Esse material foi sintetizado através do processo de pirólise por pulverização de chama industrial. Ele envolve a combustão de um solvente inflamável contendo compostos dissolvidos homogeneamente como fonte de componentes para a síntese do material. Egger também sintetizou um nanocompósito polimérico com matriz de poliestireno, através do processo de moldagem por injeção de termoplásticos. Em comparação com os materiais convencionais (AgNO₃ e zeólita/Ag) o nanocompósito sílica-prata não foi tão eficiente perante a atividade antimicrobiana. Por outro lado, o nanocompósito polimérico com poliestireno após os testes obteve atividade antimicrobiana (bactérias *gram* positiva e *gram* negativa) comparada com o poliestireno puro, pois, não deixou que houve-se a proliferação das bactérias.

3.8 DESENVOLVIMENTO DE CARGAS MISTAS

Um novo enfoque para a formação de nanocompósitos poliméricos é a síntese de novas nanopartículas como as cargas mistas que combinem suas propriedades como as de reforço e antibacterianas, por exemplo.

Nesta pesquisa são combinadas nanopartículas de prata (NPAs sintetizadas por diferentes rotas) e sílica (comercial ou proveniente do processo sol-gel com TEOS). Na primeira parte as NPAs são ligadas covalentemente a uma sílica comercial e na segunda parte as NPAs são encapsuladas em sílica. As diferenças nessas cargas mistas ainda não foram testadas diretamente na polimerização *in situ* de etileno. Assim, está pesquisa utiliza essas cargas mistas para melhorar as propriedades da matriz de polietileno e adicionar propriedades antibacterianas durante a polimerização o que tende a melhorar a dispersão das cargas.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Os solventes e as soluções para a síntese das NPAs e polimerização foram manuseados sob atmosfera inerte de argônio. As reações foram executadas seguindo a técnica padrão de Schlenk. Os reagentes foram utilizados como recebidos, exceto o tolueno, que foi destilado sobre argônio de acordo com os métodos descritos na literatura.⁸⁹ A Tabela 1 relaciona os solventes e reagentes utilizados e suas características.

Parte da pesquisa foi realizada na Universidade Autônoma de Barcelona sob orientação do Professor Xavier Font. Estas atividades foram financiadas pelo CNPq através de uma bolsa de doutorado sanduíche no exterior (PDSE).

Tabela 1. Solventes e reagentes utilizados.

Produto	Procedência	Grau de pureza
(3-aminopropil) trietoxisilano (APTES)	Sigma-Aldrich	98%
Ácido Cítrico Anidro	Synth	P.A.
Ácido clorídrico	Merck	P.A.
Ácido nítrico	Nuclear	P.A.
Ácido sulfúrico	Merck	P.A.
Argônio	White Martins	Grau analítico
Benzofenona	Aldrich	-
Clorato de potássio	Vetec	P.A.
D-(+)- Glicose Anidra	Neon	P.A.
Dicloro bis(ciclopentadienil)zircônio (IV)	Sigma-Aldrich	-
Etanol	Nuclear	P.A.
Etileno	White Martins	Grau polímero
Glicerol	Vetec	P.A.
Metilaluminoxano (MAO)	Witco	Concentração 5 % p/p Al em solução de tolueno
Sódio metálico	Merck	-
Tetraetoxisilano (TEOS)	Aldrich	98%
Tolueno	Nuclear	P.A.

4.1.1 NPAs Ligadas Covalentemente a Sílica

A síntese das nanopartículas de prata ligadas covalentemente com sílica (SiAg) pela via básica foi reportada por dell'Erba.²⁹ O procedimento está descrito na literatura, mas por

comparação com as outras sínteses realizadas, descreve-se resumidamente. A síntese pela via ácida não está relatada no artigo anterior, mas está descrita abaixo.

Primeiramente, nitrato de prata (AgNO_3) foi reduzido com glicerol anidro. As NPAGs foram estabilizadas com 3-aminopropiltrimetoxissilano (APTMS). Utilizaram-se três razões molares: $\text{APTMS/Ag} = 2, 4$ e 8 . As nanopartículas de prata (NPAGs) resultantes foram chamadas de Ag2, Ag4 e Ag8, respectivamente. A ligação covalente das NPAGs à sílica coloidal (Aerosil OX 50, Degussa, área específica de $50 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ e cerca de $6 \times 10^{-6} \text{ mol OH} \cdot \text{m}^2$) foi feita por duas vias: básica (NaOH) e ácida (HCOOH) e estas partículas foram chamadas SiAg2, SiAg4 e SiAg8 dependendo da nanopartícula de prata utilizada. Estas SiAg foram sintetizadas pelo grupo de pesquisa do Dr. Ignacio dell'Erba na universidade de Mar Del Plata e foram em parte caracterizadas e utilizadas como carga em nanocompósitos poliméricos.

4.1.2 NPAGs Encapsuladas por Sílica no Processo Sol-gel

Nanopartículas de prata (NPAGs) foram obtidas pela redução do nitrato de prata (AgNO_3). As NPAGs foram sintetizadas através de três diferentes reações de redução (R1, R2 e R3). A quantidade de AgNO_3 utilizada foi de 55 mg ($3,2 \times 10^{-4} \text{ mol}$) e 75 mg ($4,4 \times 10^{-4} \text{ mol}$). A R1 foi feita com ácido cítrico ($\text{C}(\text{COOH})(\text{OH})(\text{CH}_2\text{COOH})_2$) em solução com água destilada ($0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) por 30 min .^{31,90} A quantidade de ácido cítrico foram: 30 e 40 mg para 55 e 75 mg de AgNO_3 , respectivamente. A prata reduzida foi utilizada diretamente ou estabilizadas com APTES. Essas nanopartículas foram chamadas AgE R1 e AgE APTES R1.

A R2 foi feita com glicose em solução com 10 mL de água destilada.³⁰ As quantidades em peso de 55 e 75 mg de AgNO_3 , 30 e 40 mg de glicose foram utilizados, As partículas reduzidas foram utilizadas diretamente ou estabilizadas com APTES. Essas nanopartículas foram chamadas AgE R2 e AgE APTES R2.

A R3 foi feita com glicerol anidro ($\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2\text{OH})_2$) e as mesmas quantidades foram usadas para comparar com o trabalho de dell'Erba,²⁹ para 55 e 75 mg de AgNO_3 , $1,1$ e $1,5 \text{ g}$ de glicerol foram utilizados, respectivamente, todos com agitação a 50°C . Essas nanopartículas foram chamadas AgE APTES R3.

As reduções R1 e R2 foram feitas com e sem a estabilização das nanopartículas com (3-aminopropil) trietoxissilano (APTES) na relação molar de $\text{APTES/Ag} = 4$. A R3 foi feita apenas com estabilização das nanopartículas com APTES, para efeito de comparação com as amostras SiAg utilizadas em colaboração com o Dr. Ignacio dell'Erba.

Para o encapsulamento de sílica por sol-gel, as nanopartículas foram misturadas com 10 mL de tetraetoxisilano (TEOS) pela rota ácida, utilizando 0,5 mL de ácido nítrico (HNO_3). Após a gelificação, o material foi lavado com etanol, seco em estufa a 50°C por 24 h e depois macerado em cápsula de porcelana.⁹¹ Este sistema que tem nanopartículas de prata encapsuladas em sílica foi chamado SiAgE. Os estrutura molecular dos reagentes usados nas reduções do AgNO_3 são mostradas na Figura 6.

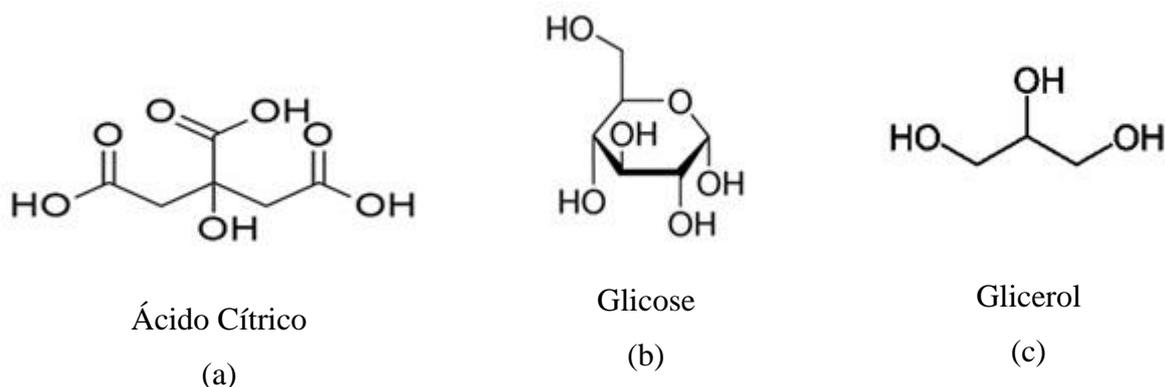


Figura 6. Estrutura molecular dos reagentes utilizados para reduzir a Ag do AgNO_3 .

4.1.3 Polimerizações

As reações de polimerização foram realizadas num reator de 100 mL (Parr Instrument Company, Illinois, EUA). Os solventes e soluções para as reações de polimerização foram manuseados sob uma atmosfera inerte de argônio, utilizando a técnica de Schlenk padrão.

Na Figura 7 é mostrado um esquema remetente a síntese das NPAGs com sílica e as polimerizações feitas com elas.

As sílicas SiAg e SiAgE, foram deixadas durante 24h a 110°C em um forno Thermolyne (F21130) com auxílio de uma bomba turbomolecular ($<10^{-4}$ mbar) (Edwards – E2M1.5 acoplada a bomba turbomolecular). O resfriamento foi feito sob vácuo dinâmico e guardados sob atmosfera inerte.

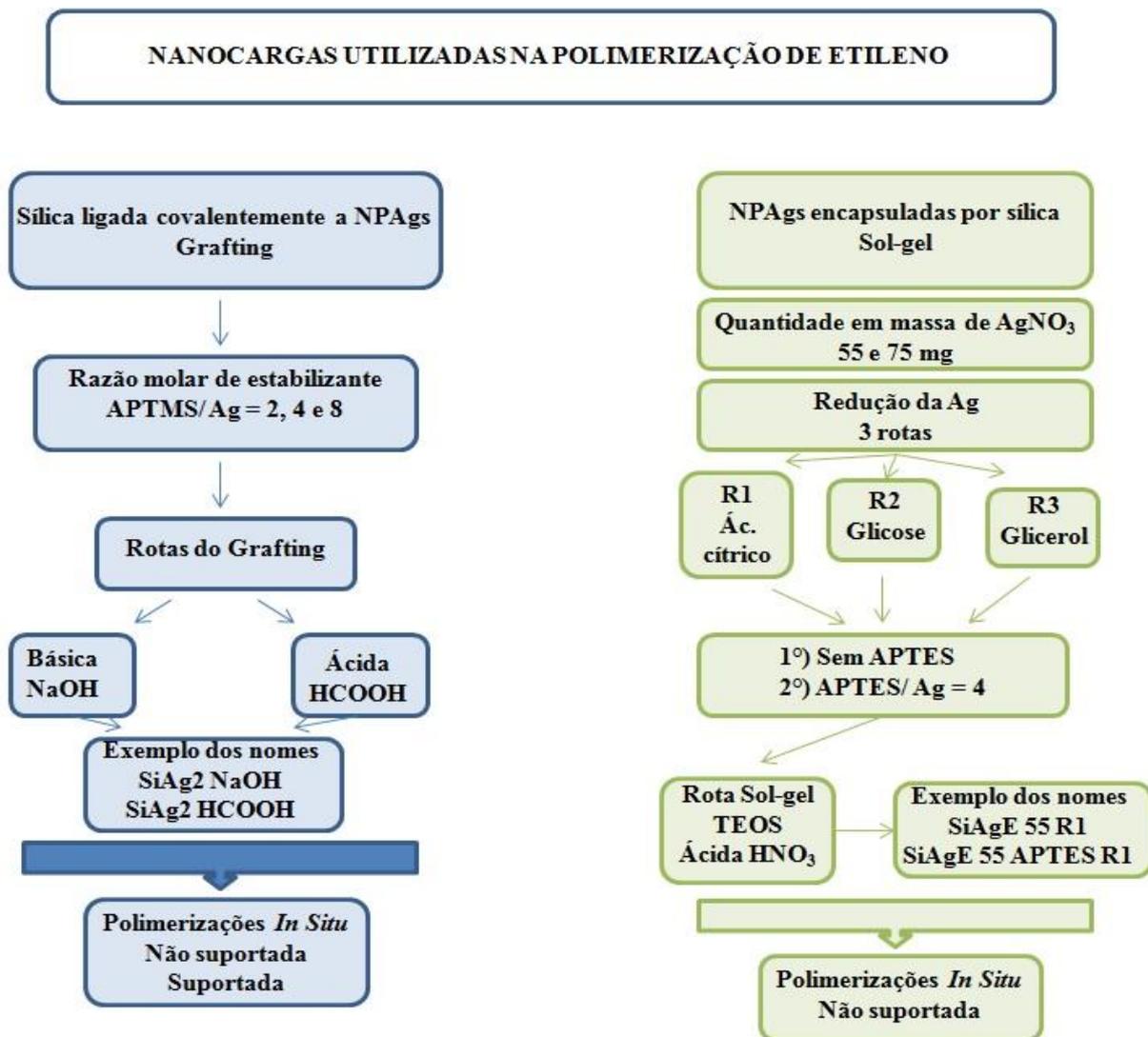


Figura 7. Esquema representando a síntese da NPAGs com sílica e suas respectivas polimerizações *in situ*.

4.2 POLIMERIZAÇÃO *IN SITU* NÃO SUPORTADA

As reações de polimerização foram realizadas em um reator PARR (100 mL), tolueno foi usado como solvente e metilaluminoxano (MAO) (Al/Zr=1000) como cocatalisador e eliminador de impurezas. O catalisador metalocênico usado foi o dicloro bis(ciclopentadienil)zircônioIV) (Cp_2ZrCl_2). A concentração de catalisador adicionada foi de $3,0 \times 10^{-6}$ mol quando utilizados 50 mg de SiAg e $2,0 \times 10^{-5}$ mol quando utilizados 100 mg de SiAg. Quando usadas as cargas SiAgE a concentração de catalisador adicionada foi de $3,4 \times 10^{-6}$ mol e a quantidade em massa da carga foi de 100 mg de SiAgE. Todas as cargas foram suspensas em 10 ml de tolueno e tratadas com 0,1 mL de MAO para remover possíveis

impurezas. antes de colocar no reator. A ordem de adição dos reagentes no reator foi a seguinte: tolueno, MAO, suspensão da carga, solução de catalisador em tolueno e etileno.

As reações foram realizadas a 50 °C utilizando uma pressão de etileno de 3,0 bar durante 30 min. A imagem representando a polimerização *in situ* não suportada é mostrada na Figura 8.

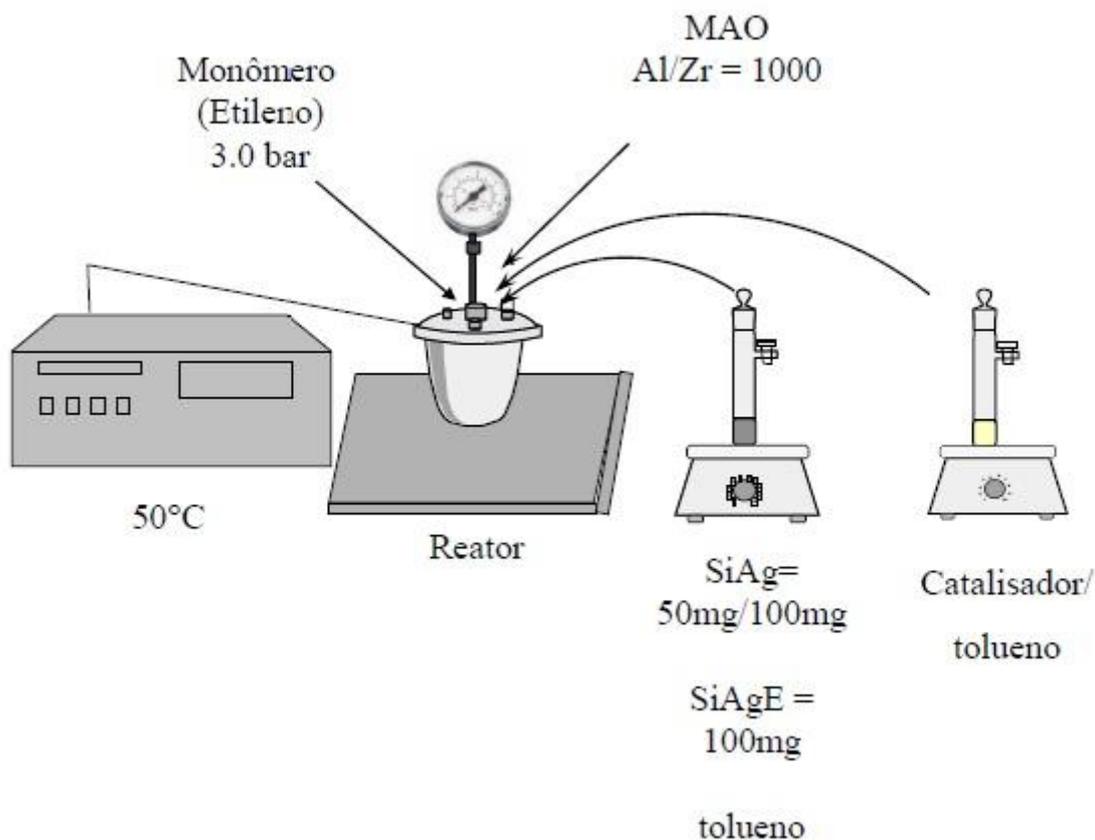


Figura 8. Polimerizações *in situ* não suportada.

4.3 POLIMERIZAÇÃO *IN SITU* COM CATALISADOR SUPORTADO

As polimerizações suportadas só foram feitas com a carga SiAg. Para suporte do catalisador, SiAg foi colocado num Schlenk com tolueno utilizando atmosfera inerte. Foi utilizado 50 mg de SiAg. Em seguida, foi adicionado MAO na razão Al/Zr=1000 ao SiAg por 15 min. Em seguida, adicionou-se Cp_2ZrCl_2 numa quantidade de 3×10^{-6} mol (50 mg de SiAg) ou 2×10^{-5} mol (100 mg de SiAg) e a suspensão foi agitada durante 2 h a 50 °C. Após este período foi deixado o sistema decantar e retirou-se o sobrenadante. O suporte foi lavado com tolueno e repetiu-se o processo de retirada do sobrenadante por três vezes. Foi adicionado

tolueno no reator e mais 0,1 mL de MAO no reator para remover possíveis impurezas. Em seguida, utilizou-se o SiAg/MAO/Cp₂ZrCl₂ na polimerização. As reações foram realizadas a 50 °C utilizando uma pressão de etileno de 3,0 bar durante 30 min. A imagem representando a polimerização *in situ* não suportada é mostrada na Figura 9.

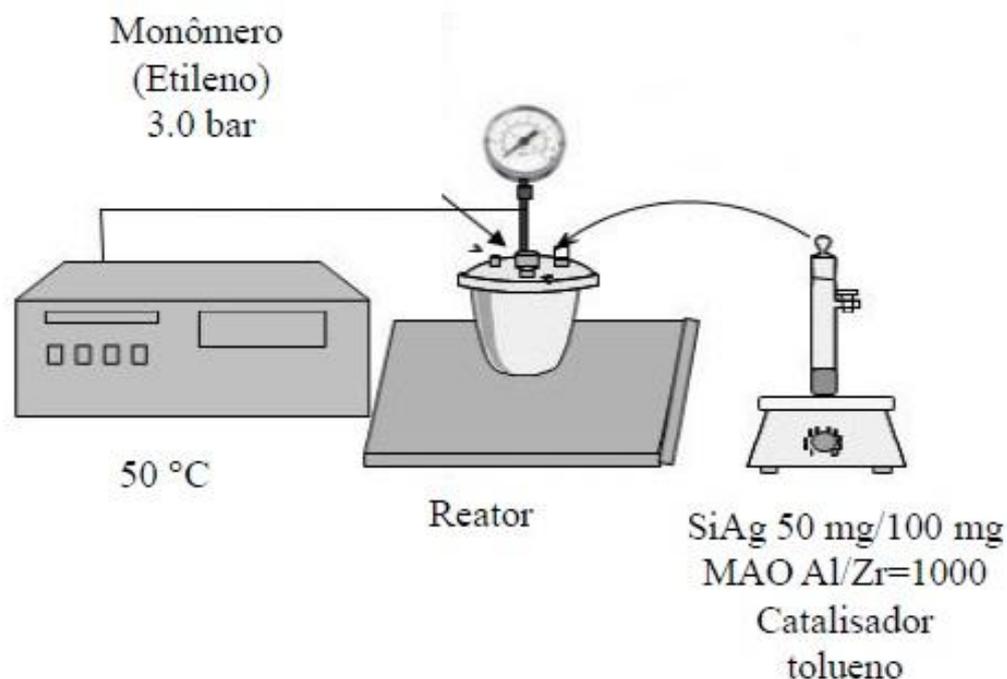


Figura 9. Polimerizações *in situ* suportada.

4.4 CARACTERIZAÇÕES

A maioria das análises de caracterização e propriedades foram realizadas em equipamentos disponíveis na UFRGS. Instituto de Química (IQ), Instituto de Física (IF), Centro de microscopia e microanálise (CMM), Laboratório Multiusuário de Análise Térmica (LAMAT), Centro de Nanociência e Nanotecnologia (CNANO). Aquelas realizadas em outras instituições têm o local descrito no texto.

4.4.1 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)

A concentração de prata (Ag) nas nanopartículas e a concentração de Zircônio (Zr) no suporte foram determinadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES - Perkin Elmer, Optima 7300). Essas análises foram realizadas em parceria com a Professora Dirce Pozebon da UFRGS.

4.4.2 Espalhamento de RaiosX de Baixo Ângulo (SAXS)

Medidas de espalhamento de raios X de baixo ângulo (SAXS) foram realizadas no comprimento de onda de 1,55 Å com uma distância da fonte para detector de 1595,0 mm, no Laboratório de Luz Sincrotron Brasileiro (LNLS, Campinas, Brasil), utilizando a linha D11A-SAXS1. As amostras foram preparadas diretamente nos suportes cilíndricos. Os perfis de espalhamento foram ajustados usando a rotina de avaliação de Irena,⁸⁵ implementado também pelo software Igor Pro (WaveMetrics, Portland, OR, EUA).^{82,92} Um ajuste unificado de vários níveis foi utilizado para descrever um ou dois níveis de organização estrutural a partir dos dados de dispersão.^{93,94} O resultado do diâmetro de partícula foi calculado de acordo com a equação 1.

$$Eq\ 1. \quad Dp = 2Rg \cdot \left(\frac{5}{3}\right)^{0.5}$$

Os resultados referentes a Lei de Porod (P) também foram retirados do programa Igor pro e remetem a estrutura fractal das amostras.

4.4.3 Análise Porosimétrica

4.4.3.1 NPAGs Ligadas Covalentemente a Sílica (SiAg)

A área específica, o tamanho de poro e o volume de poros foram determinados por análise de Porosimetria de Nitrogênio, foram obtidas isotermas de adsorção-dessorção a -196 °C. As amostras (100-200 mg) foram mantidas a 160 °C durante 18h sob vácuo antes de cada medição (Micromeritics Vac Prep 061). Este equipamento disponibilizado na central analítica

da UFRGS e gerenciado pela professora Michele Oberson de Souza. As isotermas de adsorção foram medidas com um sistema Micromeritics TriStar II 3020 com pressão parcial na faixa de $0,01 < P/P_0 < 0,25$. A área de superfície específica (S_{BET}) foi calculada pelo método de Brunauer-Emmett-Teller (BET),⁹⁵ enquanto o diâmetro de poro (D_{pBJH}) e o volume de poro (V_{pBJH}) foi calculado a partir da curva de dessorção pelo algoritmo Barret-Joyner-Halenda (BJH).⁹⁶

4.4.3.2 NPAGs Escapsuladas por Sílica pelo Método Sol-gel (SiAgE)

Para as amostras SiAgE, as isotermas de adsorção-dessorção de N_2 na temperatura do ponto de ebulição do N_2 líquido foram realizadas utilizando-se equipamento de Micromeritics Tristar II Kr 3020. Esta análise foi realizada em parceria com o professor Edilson Valmir Benvenuti. As amostras foram previamente aquecidas a 120°C sob vácuo, por 12 h. A área superficial específica foi determinada pela técnica multiponto BET (Brunauer, Emmett e Teller), o volume de poros e a distribuição de tamanho dos mesoporos foram obtidos pelo BJH (Barret, Joyner e Halenda) e a distribuição do tamanho dos microporos pelo método DFT. (*Density Functional Theory*).⁹⁷

4.4.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada num SDT Q600 thermal analyzer Q20 (TA Instruments) a uma taxa de aquecimento de $20^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ nas temperaturas de 25 a 800°C . As cargas e os nanocompósitos foram analisados na forma de pó no Laboratório Multiusuário de Análise Térmica (LAMAT).

4.4.5 Calorimetria Exploratória de Varredura (DSC)

A temperatura de fusão e a cristalinidade dos nanocompósitos foram medidas em um calorímetro diferencial de varredura TA Instruments Q20 com uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ e uma faixa de temperatura de 20 a 160°C . O ciclo de aquecimento foi realizado duas vezes para eliminar a história térmica do material, mas apenas os resultados do segundo aquecimento foram considerados. As cristalinidades dos polímeros foram calculadas a partir da seguinte equação 2.

$$Eq\ 2. Xc = \frac{\Delta Hf}{\Delta Hf^\circ} \times 100$$

em que Xc representa o teor de cristalinidade, ΔHf é o calor de fusão da amostra (área da curva endotérmica) e ΔHf° é o calor de fusão do polietileno 100% cristalino ($64,5 \text{ cal.g}^{-1}$ ou $293,9 \text{ J.g}^{-1}$).⁹⁸ Os nanocompósitos foram analisados na forma de pó no Laboratório Multiusuário de Análise Térmica (LAMAT).

4.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada com um modelo Carl Zeiss (modelo EVO MA10) operando a 7 e 15 kV e em microscópio de emissão de campo (FESEM, Inspect F50, FEI Company). Ambos com *stubs* de alumínio e metalização de ouro. As cargas e os nanocompósitos adicionados na forma de pó.

4.4.7 Difração de Raios X (DRX)

As medidas de difração de raios X foram realizadas em um difratômetro Rigaku (DMAX 2200) equipado com um tubo de Cu e um monocromador secundário. O goniômetro usado foi Siemens D500 e o detector foi o cintilador (NaI e Tl). As amostras foram analisadas à temperatura ambiente.

4.4.8 Espectroscopia de UV-Vis Equipado com Reflectância Difusa (DRS)

As amostras para espectroscopia de reflectância difusa (DRS) foram analisados usando espectros UV-Vis foram obtidos em um espectrofotômetro Varian Cary 100 operando em uma faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm. As amostras (em pó) foram analisadas diretamente em um conjunto de células de quartzo de 10 mm dentro da esfera acessória Varian Lab DRA-CA-30 com uma espessura média de 5 mm.

4.4.9 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras foram analisadas na temperatura ambiente em um espectrofotômetro Varian FTIR (640-IR), acumulando 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} . As amostras foram preparadas como pastilhas de aproximadamente 2 mm de espessura e 5 mm de diâmetro. A diluição de cerca de 1% foi realizada com KBr.

4.4.10 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foram obtidas utilizando um equipamento Tecnai G2 T20 (FEI Company) operando a 20 kV. Todas as amostras foram preparadas adicionando acetona e deixando-as no ultrassom. Uma gota de solução de acetona em um *grid* de cobre coberto com filme de carbono amorfo ultrafino. Com as imagens TEM, o diâmetro das partículas foi medido aproximadamente usando o programa *ImageJ*.

4.4.11 Ângulo de Contato

O teste do ângulo de contato com água foi realizado pelo método de gota séssil, onde uma gota de 2 μL de água deionizada à temperatura ambiente foi depositada utilizando uma microseringa sobre a superfície da matriz PE pura e seus nanocompósitos,. As imagens foram capturadas usando o sistema “*Drop Shape Analysis System*”, Kruss, DSA. Cada medição foi repetida pelo menos cinco vezes em posições diferentes. Uma câmera de vídeo digital foi usada para capturar as imagens que foram analisadas pelo *software* Surftens 3.0 para medidas de ângulo de contato.

4.4.12 Testes Antibacterianos de Contato

4.4.12.1 Método de Difusão de Disco

As atividades antibacterianas dos nanocompósitos e das cargas foram determinadas utilizando as cepas das bactérias *Escherichia Coli* (ATCC 8739, gram negativa), *Salmonella spp.* (ATCC 13076, gram negativa) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 1901, gram positiva), respectivamente, sendo todas patogênicas. As bactérias foram cultivadas em meio Agar-BHI a

37 °C por 24 horas. Preparou-se um tapete de cultura bacteriana espalhando-se 100 mL de caldo de cultura (10^7 UFC.mL⁻¹) de cada micro-organismo nas placas de agar utilizando a técnica de *swab*. Com esta técnica, os resultados esperados são a formação de halos de inibição a partir das cavidades ou sob os nanocompósitos incubados. A atividade antibacteriana das cargas foi testada fazendo-se poços para adicionar as matriz (cavidades de 9 mm de diâmetro no meio emplacado, separadas 20 mm umas das outras). Todas essas análises foram realizadas no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) sob supervisão do Professor Adriano Brandelli.

4.4.12.2 Método em Solução com Placas (Teste de contato)

Este teste envolve o contato entre o meio de cultura líquido, as SiAg e os filmes dos nanocompósitos (PE/SiAg). O meio de cultura utilizado foi o Luria-Bertani (LB) (10 g de triptona, 5 g de extrato de levedura, 10 g de NaCl em 1 L de água destilada).⁹⁹ O pH foi ajustado para 7 com NaOH concentrado. O meio com todos os materiais utilizados foram autoclavados. Para o teste utilizando 2 mL de LB, a incubação foi realizada numa placa de cultura de células comercial (SPL Life Sciences Co., Ltd). A concentração das bactérias foi medida por densidade óptica a um comprimento de onda de 600 nm. Adicionou-se 20 mg de SiAg e 100 mg dos filmes dos nanocompósitos. Na Figura 10 é mostrada uma foto de uma placa utilizada neste teste. Todas essas análises foram realizadas no Instituto de Engenharia da Universidade Autônoma de Barcelona sob supervisão do Professor Xavier Font.



Figura 10. Placa de cultura de células comercial, com 12 poços de 2 mL.

4.4.12.3 Método Parallel Streak

Este terceiro teste antimicrobiano foi o método Parallel Streak (método de teste AATCC 147-2004). Neste teste, as amostras de filmes foram cortadas com uma matriz retangular (30 x 15 mm) e colocadas transversalmente ao longo de três estrias de inóculo. A cultura bacteriana foi inoculada com concentração de 5×10^8 UFC mL⁻¹ por 24 h a 37 °C. As placas incubadas foram examinadas observando a interrupção do crescimento bacteriano ao longo das faixas de inóculo abaixo da amostra, além de sua borda.¹⁰⁰ Todas essas análises foram realizadas no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) sob supervisão do Professor Adriano Brandelli.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 NANOPARTÍCULAS DE PRATA LIGADAS COVALENTE COM SÍLICA COLOIDAL (SiAg)

5.1.1 Caracterizações complementares das cargas SiAg

Nesta primeira parte serão mostradas caracterizações complementares da SiAg, pois, os resultados já foram publicados por dell'Erba.²⁹ As nanopartículas de prata (NPAs) foram sintetizadas com diferentes razões de estabilizante/prata. As razões foram de APTMS/Ag = 2, 4 e 8 que resultaram em diferentes tamanhos de NPAs entre 10-50 nm na ordem Ag2> Ag4> Ag8. Após, foi feita a ligação covalente com a sílica coloidal através das duas rotas (NaOH e HCOOH) comprovadas por DRX e FTIR. Neste trabalho utilizou-se Espectrometria de Emissão Óptica de Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) para investigar a concentração de prata nas amostras (SiAg) e analisar a capacidade das rotas ácidas e básicas para incorporar Ag/APTMS na sílica. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

As SiAg também foram caracterizadas por SAXS, esta análise é realizada para determinar a estrutura multiescalar e o fractal das nanopartículas. Os resultados são mostrados na Tabela 2 e determinam o diâmetro de partícula e da lei de Porod (*P*). Os perfis de intensidade de dispersão de raios X foram utilizados para analisar as diferenças nas densidades eletrônicas das nanopartículas, o modelo de crescimento de partículas e o estado de organização dos fractais das partículas por níveis hierárquicos.¹⁰¹ Raio de giro (*Rg*) e as dimensões fractal foram obtidos através da abordagem unificada nas regiões da lei de Porod.^{102,103}

Tabela 2. Análise de ICP OES para a determinação da concentração de Ag e resultados de SAXS para determinação de diâmetro das partículas e a Lei de Porod (*P*) nas nanopartículas de SiAg.

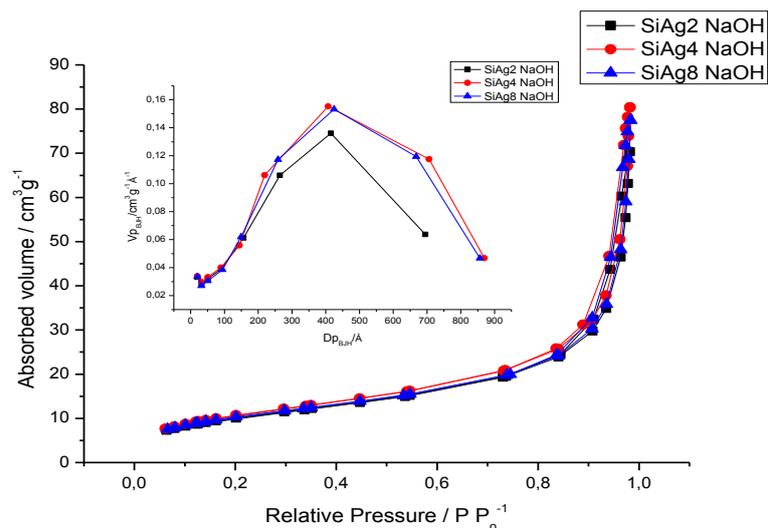
NP	Rota	%p.p ⁻¹ Ag	Rg2 ^a	Dp2 ^b	<i>P</i>
SiAg8	NaOH	0,860±0,1	7,2	18,5	3,10
SiAg8	HCOOH	1,804±0,3	11,8	30,5	2,95
SiAg4	NaOH	0,621±0,1	7,8	20,1	3,22
SiAg4	HCOOH	2,449±0,1	17,9	46,2	2,20
SiAg2	NaOH	0,510±0,1	12,7	32,8	3,12
SiAg2	HCOOH	2,420±0,1	14,3	36,9	2,40

^a raio de giro da partícula secundária; ^b diâmetro da partícula secundária.

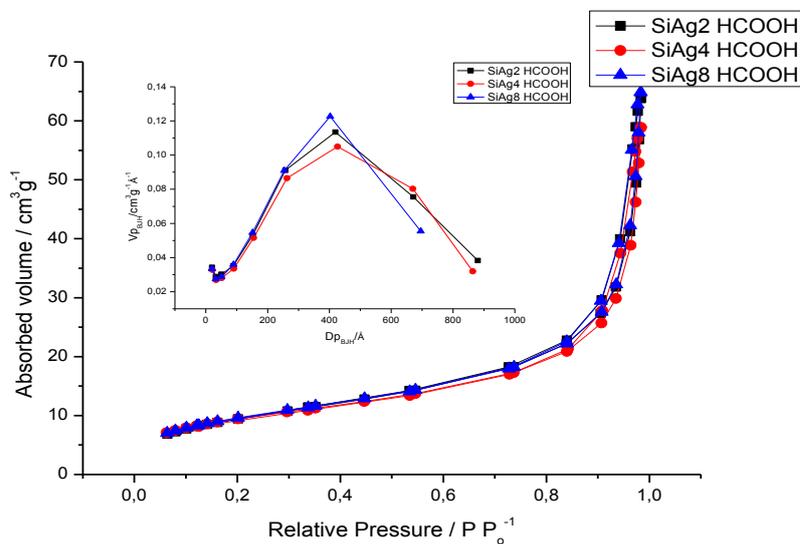
A partir dos dados de ICP OES pode-se observar que a rota ácida incorpora mais Ag/APTES, numa proporção de $\pm 4-5$ vezes mais. A catálise ácida entre o grupo metoxi do APTMS e os grupos silanol na superfície da sílica é mais rápida que a básica. Este fato pode ser explicado pelos mecanismos das duas rotas. Em geral, a síntese de sílica é realizada sob uma condição básica, que é semelhante ao método Stöber tradicional para a preparação de partículas de sílica. Para fazer a superfície da sílica ficar carregada negativamente, são normalmente utilizados surfactantes catiônicos. Em condições básicas, uma parte do grupo silanol (Si-OH) é desprotonada para formar silanolato (Si-O⁻). Assim, as taxas de hidrólise e de condensação das fontes de sílica (por exemplo, sílica comercial ou TEOS) estão altamente associadas com vários fatores, tais como: pH, características das sílica, aditivos e temperatura. O efeito do pH é crítico, pois afeta a nucleação e o crescimento.¹⁰⁴ Lu¹⁰⁵ em seu trabalho demonstraram que os tamanhos de partícula de sílica foram controlados numa ampla gama, de 30 a 280 nm, simplesmente ajustando o valor de pH das soluções precursoras. Quando o pH foi diminuído de 11,5 para 10,9, houve uma diminuição gradativa dos tamanhos das partículas. Por outro lado, Qiao¹⁰⁶ verificou que os tamanhos das partículas tendem a aumentar de 30 para 85 nm, quando os valores de pH diminuíram de 10 para 6,28. Estes dois trabalhos indicam que o tamanho mínimo de partícula pode ser obtido a cerca de pH 9-10, indicando que a velocidade de condensação afeta mais os tamanhos das partículas finais do que a taxa de hidrólise ou o tipo de precursor da sílica. Confirmando os dados anteriores, Chiang¹⁰⁷ demonstrou que o pH tem maior influência nos tamanhos das partículas do que a fonte de sílica ou tempo de reação. Estas discussões estão de acordo com os resultados de concentração de Ag e tamanho das NPAs deste trabalho, pois é possível observar diferenças entre as concentrações e os tamanhos das NPs dependendo da rota utilizada (ácida maior e básica menor).

Os resultados de SAXS para o raio de giro (R_g) e os diâmetros de partícula (D_p) são complementares à discussão da influência do pH sobre o tamanho de partícula. A rota ácida proporcionou maior tamanho de partícula do que a rota básica. De acordo com os resultados, podemos relatar que o tipo de síntese de sílica afeta a organização da estrutura das nanopartículas, mostrando variações no perfil das intensidades de dispersão das partículas em SAXS.

Os resultados da lei de Porod (P) também mostraram diferenças entre as rotas. Um valor para ρ entre $1 < \rho < 2$ indica uma estrutura fractal de massa, entre $2 < \rho < 3$ indica uma superfície fractal e $\rho \leq 4$ uma partícula esférica. Para todas as partículas obtidas pela rota básica



(a)



(b)

Figura 12. Comparação das isothermas de adsorção-dessorção de N_2 para as nanopartículas de SiAg sintetizadas. Inset) BJH Distribuição do tamanho de poros ($D_{p,BJH}$).

Os resultados de área superficial específica para todos os SiAg são considerados baixos, mas isso é esperado, devido à natureza da sílica utilizada (Aerosil OX 50 - com especificação técnica de $50 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) na síntese. Esta sílica passou pelo processo químico básico sem a adição das NPAs e também foi analisada por BET. Seu resultado de área específica foi $37,1 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Esta redução de área superficial comprova que o processo químico modificou a superfície da sílica Aerosil que passou por ele, mas sem a adição de NPAs.

A rota ácida, obteve partículas com área superficial inferior à básica. Este fato também comprovado por SAXS, mostrando uma partícula mais ramificada. Conseqüentemente, o

volume e o diâmetro dos poros também são menores na rota ácida. A única diferença entre as amostras foi o diâmetro médio de poro do teste em branco que foi significativamente mais elevado. Nas partículas de SiAg os poros estão sendo ocupados por nanopartículas de Ag. Por outro lado, o volume dos poros não altera significativamente, pois o processo de ligação das NPAs acontece através do grupos silanóis nas camadas mais externas da superfície.

Dependendo do processo de introdução da nanopartícula metálica na área superficial de sílica (*grafting* ou sol-gel), o volume de poros e os diâmetros podem mudar ou não. Um exemplo é dado por Bernardes¹⁰⁹ que sintetizaram sílica com alguns óxidos metálicos pelo método sol-gel não hidrolítico e a área superficial da sílica pura aumentou de 39 m².g⁻¹ para uma faixa de 188-415 m².g⁻¹ das sílicas com os óxidos. Os resultados deste trabalho com SiAg são diferentes de Bernardes, pois as NPAs são ligadas covalentemente à sílica, os valores de área superficial não variam significativamente (35-40 m².g⁻¹). No entanto, o diâmetro médio do poro mudou, diminuindo após a ligação das NPAs com a sílica de 127 Å para 102-116 Å. Nas SiAg foi utilizado o processo de *grafting* em que a reação é feita na superfície através dos grupos silanóis e o estabilizante APTMS das NPAs e não no interior da sílica.

No estudo de dell'Erba²⁹ a SiAg somente foi obtida pela rota básica e mostrou boa atividade antibacteriana para *Escherichia Coli*. Por esse motivo, neste trabalho foi estudada a atividade antibacteriana de nanopartículas de SiAg obtidas com HCOOH por um método de difusão em disco. A imagem do teste antibacteriano é mostrada na Figura 13.

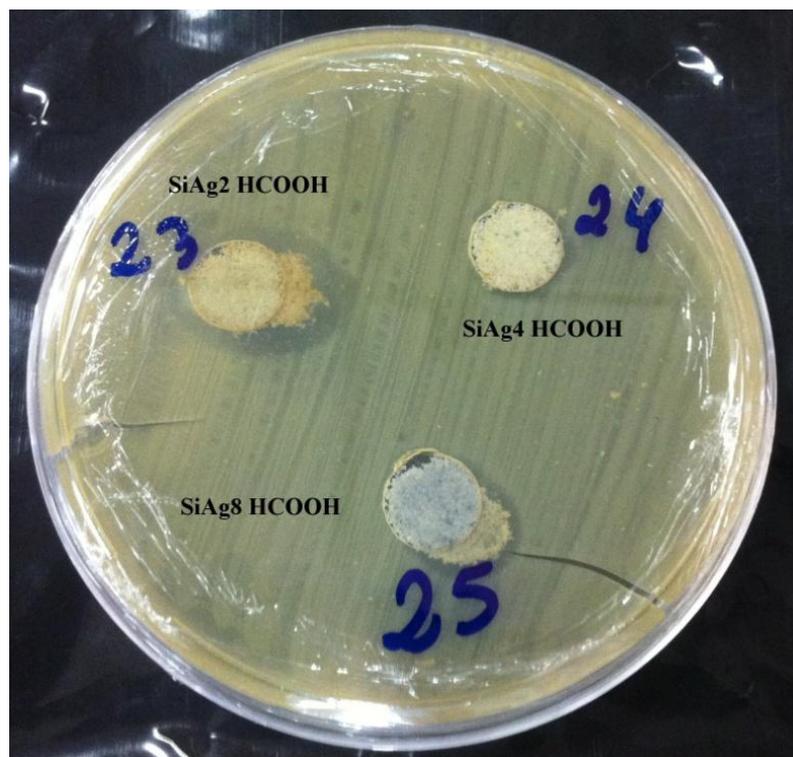


Figura 13. Atividade antibacteriana de nanopartículas de SiAg HCOOH testadas com método de difusão em disco.

A eficiência do teste de difusão é analisada pelo tamanho do halo de inibição das amostras. A zona de inibição para a SiAg2 HCOOH foi de 18 mm, para a SiAg4 HCOOH foi de 13 mm e para a SiAg8 HCOOH foi de 15 mm. Todos os SiAg tiveram ação antibacteriana para o *Escherichia Coli*. A amostra que mais obteve inibição foi a SiAg2 HCOOH, isto pode ser explicado pelo fato de ela ter uma boa concentração de prata provada por ICP OES (2,42% p.p⁻¹). A amostra SiAg4 HCOOH que apresentou o halo menor e também possui uma alta concentração de Ag (2,44 % p.p⁻¹), porém possui uma menor área superficial que a SiAg2 HCOOH. Assim, as SiAg HCOOH mostraram atividade antibacteriana, bem como as SiAg NaOH testadas por dell'Erba através de outro método.²⁹ Como os testes utilizam diferentes metodologias não é possível comparar os resultados, mas, podemos afirmar que ambas as SiAg proveniente das rotas NaOH e HCOOH tem atividade antibacteriana.

Também foi realizado o teste antibacteriano com o método em solução com placas para as SiAg, as placas possuem 12 poços de 2mL. Foi calculado a interferência na proliferação de bactérias em contato com as SiAg comparadas com um controle. Os resultados são mostrados na Tabela 4. A concentração de bactérias é calculada através da absorção no comprimento de onda (λ) de 600 nm. Quanto maior a absorção maior é a concentração.

Tabela 4. Atividade antibacteriana a partir do método em solução com placa das nanopartículas de SiAg testadas com *Escherichia coli*, utilizando 20 mg de amostra nos poços de 2 mL.

Rota	Amostras	Resultados de Absorção $\Lambda= 600\text{nm}$	% de crescimento
NaOH	Controle	1,54	100
	SiAg2	0,500	32,6
	SiAg4	0,745	48,5
	SiAg8	0,766	49,9
HCOOH	Controle	1,06	100
	SiAg2	0,620	58,5
	SiAg4	0,930	87,7
	SiAg8	0,970	91,5

Através dos resultados obtidos da Tabela 4 é possível afirmar que há diferença entre os resultados das rotas ácida e básica (NaOH e HCOOH), pois o percentual de inibição do crescimento foram diferentes. A rota básica mostrou-se mais eficiente, inibindo o crescimento bacteriano em mais de 50%. Na rota ácida, esse valor ficaram na faixa de inibição de 41,5-8,5% . Isso pode ser explicado pela natureza das SiAg, já mostrado por BET e SAXS. As SiAg básicas (NaOH) são menores, mais esféricas e com uma área superficial maior. Assim, apesar de possuírem uma menor concentração de prata, sua eficiência em inibir o crescimento de *E. coli* é maior.

5.1.2 Processo de Suporte da SiAg

Nesta parte do trabalho será mostrado o método de suporte do catalisador nas SiAg para que sirvam de carga para formar um nanocompósito. O catalisador e o co-catalisador são deixados em contato com a carga durante um tempo de 2h com temperatura de 50 °C para que ocorram as reações necessárias. O MAO faz uma ligação covalente com um ou mais grupos da sílica, e posteriormente se ligam ionicamente com o catalisador metalocênico. Isto é feito

para que a polimerização comece a partir da carga. Para este processo de suporte, fez-se necessário a secagem do sistema através de vácuo para, então, realizar a análise de Zr por ICP OES. Na Figura 14 é mostrado o processo de suporte e uma imagem ilustrativa das ligações envolvidas.

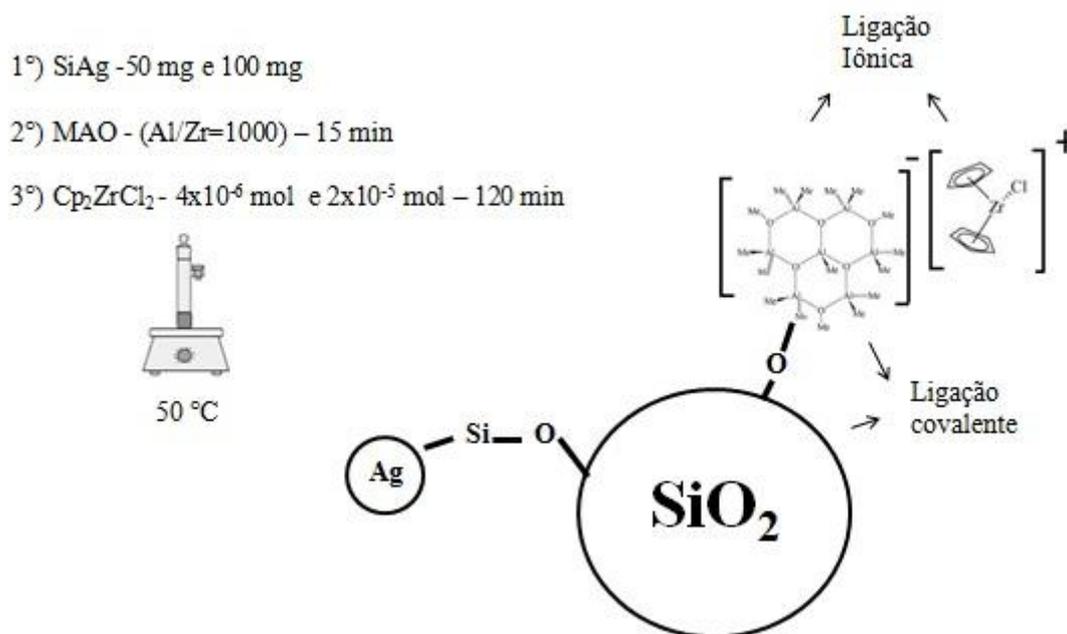


Figura 14. Processo de suporte para a polimerização *in situ*.

A quantidade de Zr nos catalisadores suportados foi calculada por ICP OES e os resultados são apresentados na Tabela 5. Considerando que inicialmente 2,42% em peso de Zr foram colocados sobre o suporte de SiAg, a quantidade de Zr imobilizada no SiAg foi baixa.

Tabela 5. Concentração de Zircônio após o processo de suporte do catalisador nas SiAg.

Suporte	% p.p ⁻¹ Zr
SiAg2 NaOH/MAO/Cp ₂ ZrCl ₂	0,0901 ± 0,0168
SiAg4 NaOH/ MAO/Cp ₂ ZrCl ₂	0,1209 ± 0,0185
SiAg8 NaOH/ MAO/Cp ₂ ZrCl ₂	0,0964 ± 0,0274
SiAg2 HCOOH/ MAO/Cp ₂ ZrCl ₂	0,0702 ± 0,0076
SiAg4 HCOOH/ MAO/Cp ₂ ZrCl ₂	0,0961 ± 0,0102
SiAg8 HCOOH/ MAO/Cp ₂ ZrCl ₂	0,0869 ± 0,0087

Os catalisadores metallocênicos são sensíveis à umidade e ao ar; para que eles não desativem é necessário que o sistema seja isento de água, ar e de grande concentração de grupos OH na superfície da sílica, entre outros. Assim, primeiro se faz uma preparação,

chamada de ativação da sílica. Isto é feito com o auxílio de uma bomba turbo de vácuo com altas temperaturas ($\pm 400^\circ\text{C}$). As sílicas possuem grupos silanóis (Si-OH) na superfície, que podem adsorver moléculas de água. O aumento da temperatura leva à dessorção de água e dehidroxilação da superfície. Até 400°C , os grupos siloxanos (O-Si-O) são reativos, no entanto, acima desta temperatura, há um rearranjo na superfície e ela se torna resistente à rehidratação, ou seja, se torna hidrofóbica.^{110,111}

Neste trabalho, não foi possível fazer este processo usando altas temperaturas devido à presença do grupo orgânico (APTMS) que pode decompor. Assim, a SiAg foi colocada na bomba turbo, sob vácuo, a uma temperatura de 110°C . Como o processo de suporte foi feito com o auxílio de um cocatalisador na razão Al/Zr = 1000, o MAO conseguiu proteger o catalisador da superfície da sílica. Assim, o catalisador (0,0702-0,1209 %p.p⁻¹) que conseguiu suportar ficou bem ativo. Isto pode ser comprovado, pois, os rendimentos das polimerizações suportadas foram altos, como mostrados na Tabela 6.

5.1.3 Nanocompósitos Poliméricos PE/SiAg

Os nanocompósitos poliméricos foram sintetizados através das polimerizações *in situ* (catalisador em solução) e *in situ* suportadas (reação de ancoragem do catalisador na carga). A Tabela 6 mostra os resultados da polimerização de etileno por ambos os métodos. O resultado da polimerização homogênea de etileno (sem carga) também é mostrado. Todas as reações de polimerização proporcionaram bons rendimentos e atividades catalíticas. Como estes são semelhantes aos obtidos com a polimerização de etileno, pode concluir-se que as cargas (SiAg) tratadas com MAO não desativam o catalisador. Os rendimentos das reações suportadas foram inferiores ao método não suportado (*in situ*), mas, as atividades catalíticas foram significativamente mais elevadas. Isto mostra que, embora houvesse uma baixa quantidade de Zr imobilizado nas sílicas (processo de suporte), o presente era muito ativo. Em relação à utilização como carga de sílicas obtidas pelas rotas ácidas e básicas, obtiveram-se resultados semelhantes quanto ao rendimento e à atividade catalítica.

A percentagem de SiAg nos nanocompósitos foi calculada pelo rendimento (% teórico) e também pelo resíduo TGA (% TGA). Uma vez que foi utilizada sempre a mesma quantidade de carga e os rendimentos foram semelhantes, os teores de carga também foram próximos em todas as sílicas, cerca de 0,8% p.p⁻¹ pelo primeiro método (% teórico) e 1-2% p.p⁻¹ pelo resíduo de TGA. As concentrações de Ag nos nanocompósitos calculadas a partir da análise ICP OES mostraram uma variação nas concentrações entre 0,004 e 0,024% p.p⁻¹.

Phansiri¹⁷ indicou que com baixas concentrações de Ag é possível obter uma ação antimicrobiana. Seus resultados com bactérias mostraram que o aumento do teor de carga (aumento de Ag) de 0,001 a 0,05% p.p⁻¹ aumenta a atividade inibitória. Em seu trabalho as contagens de células viáveis tanto de *E. coli* como de *S. aureus* foram reduzidas até 99,99% com 0,05% p.p⁻¹ de Ag no nanocompósito.

De um modo geral, as temperaturas iniciais de degradação (T_{onset}) dos nanocompósitos PESiAg foram superiores ao polietileno puro. Mostrando uma estabilidade térmica maior nessas temperaturas quando utilizado nanocargas.

As temperaturas de fusão (T_m) e de cristalização (T_c) dos nanocompósitos comparadas entre si, não mostraram nenhuma tendência. Contudo, a T_m e a T_c de todos os nanocompósitos foram 1-4°C mais elevadas do que a do PE puro, mostrando que a carga estabilizou a matriz do nanocompósito e melhorou essas propriedades. As cristalinidades (X_c) permaneceram semelhantes com uma leve diminuição para alguns nanocompósitos em comparação com o polímero homogêneo. O valor de percentual de 95 % para o polietileno puro é considerado alto e mostra que o sistema com MAO/Cp₂ZrCl₂ conseguiu propiciar a formação das regiões cristalinas. E esse favorecimento não fica igual quando se utilizou as SiAg.

Tabela 6. Nanocompósitos de polietileno com SiAg, atividade catalítica e propriedades térmicas das polimerizações com 50 mg de carga.

Amostra	Rota	Polimerização	Polímero (g)	Atividade catalítica (KgPE/[Zr] h bar)	SiAg % Teórico	SiAg %TGA	Ag %	T _{onset} ^a (°C)	T _{max} ^b (°C)	T _c ^c	T _m ^d	X _c ^e (%)
PE	-	-	7,60	1689	-	-	-	265	496	116	133	95
PESiAg2		não suportado	7,70	1711	0,8	1,2	0.004	268	495	117	134	83
		suportado	6,51	8771	0,8	1,0	0.004	284	492	117	135	91
PESiAg4	NaOH	não suportado	7,46	1658	0,7	2,4	0.005	276	487	117	135	84
		suportado	6,65	6691	0,8	0,9	0.005	279	490	116	136	77
PESiAg8		não suportado	6,57	1460	0,8	1,9	0.024	280	492	117	133	84
		suportado	5,03	6347	1,0	1,1	0.030	281	500	117	136	75
PESiAg2		não suportado	7,22	1604	0,7	2,3	0.017	269	485	117	135	95
		suportado	6,53	11315	0,8	1,3	0.019	273	484	117	134	92
PESiAg4	HCOOH	não suportado	7,34	1631	0,7	1,9	0.017	277	502	116	133	96
		suportado	6,47	8189	0,8	1,1	0.019	288	497	116	137	89
PESiAg8		não suportado	6,36	1413	0,8	1,0	0.007	290	492	118	134	88
		suportado	6,98	9770	0,7	1,4	0.006	283	499	116	137	91

^aTemperatura inicial de degradação; ^b Temperatura máxima de degradação; ^cTemperatura de cristalização; ^dTemperatura de fusão; ^e percentual de cristalinidade.

A morfologia dos nanocompósitos foi estudada por MEV. Para todos eles foram obtidas diferentes morfologias. Tanto comparando a rota de síntese de SiAg (ácido e básico) ou a diferença de polimerização *in situ* com catalisador não suportado e suportado. Na Figura 15 é mostrada a diferença na morfologia entre o polímero homogêneo e os nanocompósitos PESiAg2 sintetizados por polimerização *in situ* com o catalisador não suportado pelas rotas ácida (HCOOH) e básica (NaOH). As amostras são polietileno puro (a)(b), PESiAg2 não suportado HCOOH (c)(d) e PESiAg2 não suportado NaOH (e)(f) com as mesmas ampliações.

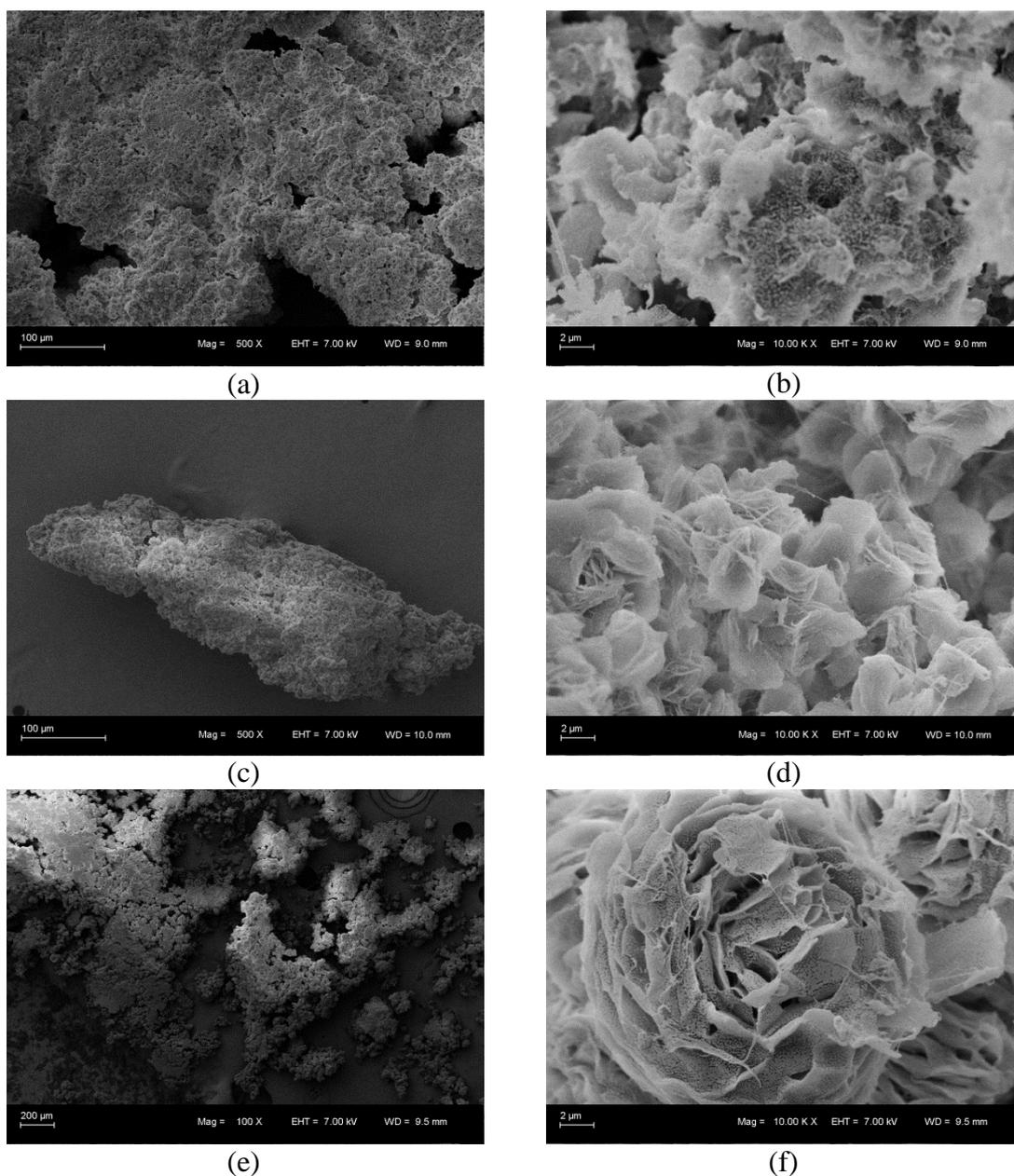


Figura 15. MEV de (a)(b) PE. (c)(d) PESiAg2 não suportado HCOOH. (e)(f) PESiAg2 não suportado NaOH.

Pelo fato de existir diferenças entre as morfologias das SiAg das rotas ácidas e básicas, também é possível observar diferenças nos seus respectivos nanocompósitos. A rota ácida apresenta uma estrutura mais amorfa do que a rota básica.

Na Figura 16 é mostrada a diferença entre o catalisador não suportado (a)(b) e suportado (c)(d) na polimerização com a carga SiAg8 HCOOH.

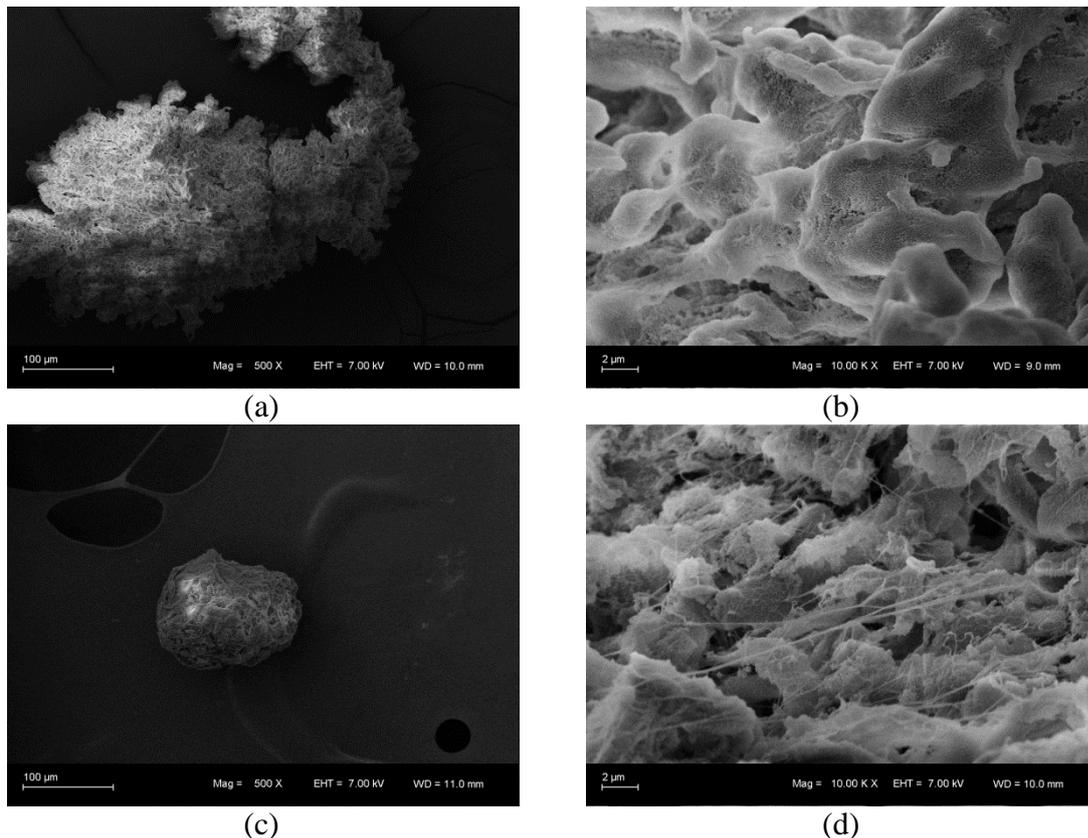


Figure 16. MEV das (a)(b) PESiAg8 não suportado HCOOH. (c)(d) PESiAg8 suportado HCOOH.

Espera-se que quando o catalisador é suportado, as cadeias de polímero cresçam a partir da carga replicando a morfologia das nanopartículas.⁵ A partir das imagens de MEV pode-se notar uma morfologia diferenciada entre os dois tipos de polimerização, tendo o suportado uma morfologia mais definida.

Todos os nanocompósitos foram testados com três bactérias, *Escherichia Coli* (gram negativa), *Staphylococcus aureus* (Gram positivo) e *Salmonella spp.* (Gram negativo). Na Figura 17 é possível observar o teste antibacteriano de difusão em disco para os nanocompósitos. Este teste teve a duração de 24h e as imagens mostradas são com a presença

do filme e após retirar o filme. Figura 17 (a)(b) *Staphylococcus aureus*, Figura 17 (c)(d). *Salmonella spp* e Figura17 (e)(f) *Staphylococcus aureus*.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 17. Atividades antibacterianas dos nanocompósitos PE/SiAg e PE feitas com o teste de difusão em disco após 24h.*(a)(b) são 5=PE/SiAg2NaOH suportado. 11=PE/SiAg2HCOOH suportado e 13=PE/SiAg8HCOOH não suportado.**(c)(d) são 16=PE/SiAg8NaOH suportado. 17=PE/SiAg8HCOOH não suportado e 18=PE/SiAg8HCOOH suportado.***(e)(f) é o polietileno puro.

Como é possível observar todos os filmes de 20 mm tiveram atividade antibacteriana na superfície dos filmes. Após 24h, aonde o filme estava em contato com o ágar, não houve a proliferação das bactérias. Isso é observado nas imagens que os filmes foram retirados. Contudo, não foi observado uma zona de inibição (região que não há o crescimento de bactérias) ao redor. Esta falta de uma zona de inibição demonstra que não há lixiviação das cargas para o ágar. Ao contrário dos nanocompósitos, quando foi feito o teste de difusão em disco para o polietileno puro, houve crescimento das colônias de bactérias abaixo do filme, observados na Figura 17 (f).

Este teste pode provar que o contato com o nanocompósito inibe a proliferação de bactérias gram positivas e gram negativas. Estes resultados são de grande importância, uma vez que os nanocompósitos, mesmo tendo uma baixa concentração de Ag tiveram ação antibacteriana de contato. Com isso, os nanocompósitos com nanocarga de SiAg (ligação covalente), têm potencial para serem usados em diferentes áreas.

Para garantir que a inibição provocada pelos filmes não é devido à maior hidrofobicidade dos nanocompósitos que aos filmes de PE puro, foi realizada a análise de ângulos de contato de todas as amostras não suportadas. Os resultados são mostrados na Tabela 8 mostrando que a hidrofobicidade dos nanocompósitos não é significativamente diferente à do PE puro, atribuindo-se a inibição sob os filmes à presença das nanopartículas SiAg.

Neste mesmo teste de difusão em disco foram testados diferentes diâmetros de filme (10 mm e 5 mm), e não houve alteração dos resultados, mantendo a inibição da proliferação das bactérias. Também não foi possível observar diferenças entre os nanocompósitos obtidos a partir da polimerização não suportada e suportada ou entre diferentes nanopartículas.

Para obtenção de resultados mais quantitativos dos nanocompósitos foi realizado o segundo teste antibacteriano, assim usou-se o método de solução em placas com 12 poços de 2 mL. No primeiro momento escolheu-se a amostra PESiAg8 HCOOH não suportada para medir a toxicidade do nanocompósito contra bactérias *E coli*. Assim, variou-se a quantidade de massa adicionada nos poços da placa e observou-se a sua influência perante o crescimento da concentração de bactérias. Os efeitos da quantidade de nanocompósitos diferentes na inibição bacteriana foram estudados. Os resultados são mostrados na Tabela 7 e na Figura 18. Os resultados mostraram que, com o aumento da massa do filme, a taxa de inibição bacteriana aumentou. Chegando a não variar muito com a diferença de 100 e 120 mg de filme, mostrando assim, que o ajuste para este método de toxicidade do filme perante os poços de 2

mL é relativo a essas massas de filme. Não é possível passar de 120 mg devido ao espaço físico dos poços nas placas.

Tabela 7. Teste antibacteriano de toxicidade através do método de solução usando placas para amostra PESiAg8 HCOOH não suportada frente a *Escherichia coli*.

	Resultados de Absorbância $\lambda=600\text{nm}$	% de crescimento	% de inibição
Controle	0.780	100	0
20 mg	0.734	94	6
40 mg	0.548	70	30
80 mg	0.477	61	39
100 mg	0.436	56	44
120 mg	0.404	52	48

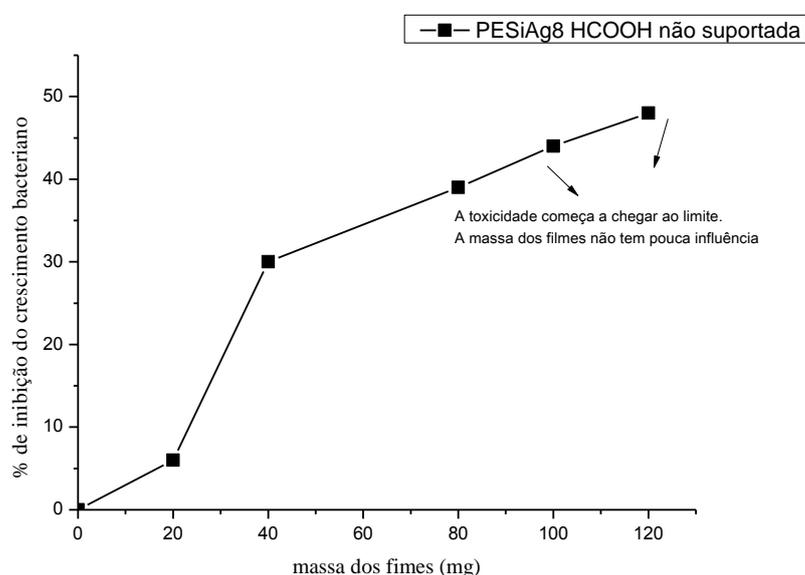


Figura 18. Teste de toxicidade dos nanocompósitos. Gráfico mostrando o percentual (%) de inibição de crescimento das bactérias com relação a massa de filme do nanocompósito PESiAg8 HCOOH não suportada.

Os resultados do teste antibacteriano para os nanocompósitos pelo método de solução usando placas (quantitativo) são mostrados na Tabela 8. Este método foi realizado para todos os nanocompósitos usando 100 mg de filme em poços de 2 mL de meio de cultura líquido LB.

Tabela 8. Teste antibacteriano com *Escherichia coli* usando o método de contato usando placas com poços de 2 mL e 100 mg de massa de filme. O ângulo de contato.

Amostras	Polimerização	Resultados de Absorbância $\lambda=600\text{nm}$	% de crescimento	WCA* (°)
CONTROLE		7,29	100	
PE HOMO		7,11	98	90±1
PESiAg2 HCOOH		3,95	54	78±7
PESiAg4 HCOOH	Não suportada	4,37	60	91±5
PESiAg8 HCOOH		4,14	57	97±2
PESiAg2 NaOH		4,48	61	86±6
PESiAg4 NaOH	Não suportada	4,71	65	75±10
PESiAg8 NaOH		4,96	68	96±2
PESiAg8 NaOH		5,01	69	
PESiAg8 HCOOH	Suportada	4,99	68	

*WCA: Ângulo de contato.

A partir dos resultados mostrados na Tabela 8 é possível discutir de forma mais quantitativa a ação antibacteriana. Os nanocompósitos nos quais foram usadas como carga as SiAg obtidas por rota ácida (HCOOH) tiveram uma maior eficiência, ou seja, o percentual de crescimento bacteriano foi menor, o que significa que a inibição foi maior. Atribuí-se isso a maior concentração de NPAs nestas cargas (%Ag = 0,006-0,019, ver Tabela 6). Nos nanocompósitos com SiAg obtidos por rota básica (NaOH), as porcentagens de crescimento

foram na faixa de 61-68% das bactérias e o percentual de inibição ficou entre 39-32%. Esses resultados são inferiores às do SiAg HCOOH que obteve 54-60% de crescimento bacteriano (inibição de 46-40%). Entre os nanocompósitos obtidos a partir do SiAg pela rota ácida, a menor razão (APTMS/Ag = 2) apresentou a maior inibição do crescimento com um valor de 54%.

Isso pode ser explicado pela disponibilidade de nanopartículas na superfície do filme. O teste de difusão em disco mostrou que a inibição do crescimento bacteriano nos nanocompósitos acontece via contato superficial (já que não houve lixiviação de SiAg). As partículas ativas de SiAg foram aquelas na superfície das películas que entram em contato com as bactérias. Isso também explica por que a proporção de massa de filme para meio de cultura precisa ser alta (100 mg para 2 mL de LB, ver Tabela 7). Comparando as rotas ácida e básica, na rota ácida, as nanopartículas apresentam maior quantidade de Ag e são maiores, favorecendo a interação da superfície com as bactérias. Comparando os tipos de reação (não suportados e suportados), o percentual de crescimento aumentou nas polimerizações suportadas, portanto a inibição foi menor. Isto demonstra que suportar o catalisador fazendo com que o polímero cresça a partir da carga deixa um menor número de SiAg na superfície dos nanocompósitos. E este fato é de extrema importância para a ação antibacteriana desses filmes de nanocompósitos.

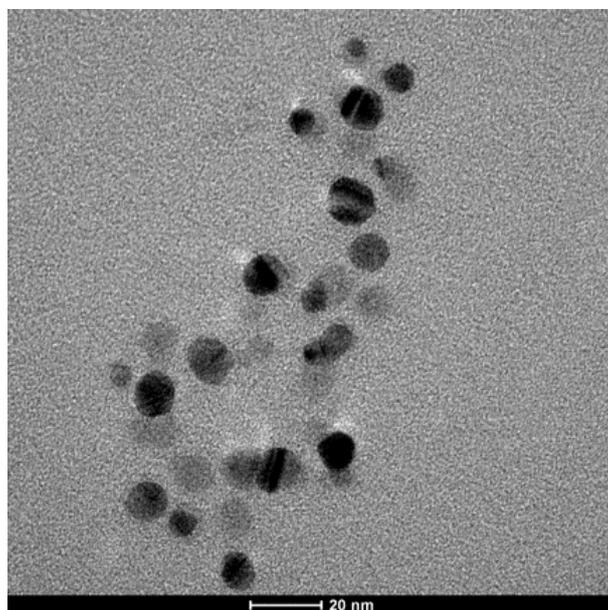
5.2 NANOPARTÍCULAS DE PRATA ENCAPSULADAS POR SÍLICA PELO MÉTODO SOL-GEL (SiAgE)

5.2.1 Caracterizações das cargas SiAgE

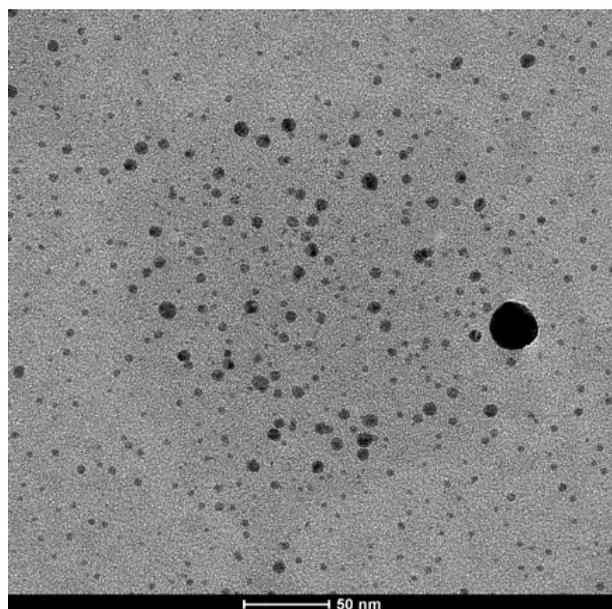
Na segunda parte deste trabalho serão mostradas caracterizações da SiAgE. Elas foram sintetizadas a partir de três tipos diferentes de redução do AgNO₃ (R1: ácido cítrico, R2: glicose e R3: glicerol). Essas nanopartículas foram encapsuladas de duas maneiras diferentes, a primeira diretamente (R1 e R2) e a segunda sendo estabilizadas com APTES (APTES R1, APTES R2 e APTES R3).

Primeiramente se avaliou o processo de redução e estabilização das NPAGs. Com o intuito de identificar o tamanho das nanopartículas foram feitas imagens de MET. Nesta caracterização só foram estudadas NPAGs estabilizadas por APTES, pois quando as NPAGs foram usadas diretamente se aglomeraram com muita facilidade e o resultado obtido tende a

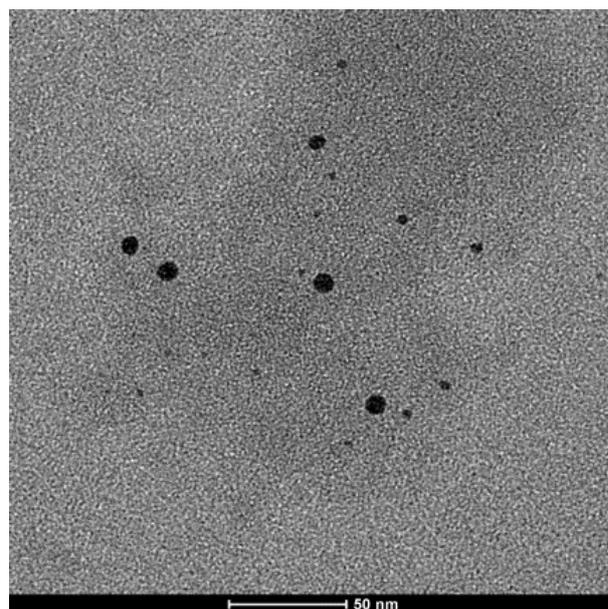
não ser o verdadeiro. As imagens de TEM das NPAs estabilizadas com APTES são mostradas na Figura 19.



(a)



(b)



(c)

Figura 19. Imagens TEM das NPAs reduzidas pelos três métodos diferentes. (a) Ag APTES R1, (b) Ag APTES R2 e (c) Ag APTES R3.

Os três processos de redução proporcionaram nanopartículas de Ag APTES com diâmetros entre 7 e 30 nm. Este fato é promissor perante seu uso como agentes antimicrobianos, pois quanto menor o diâmetro das partículas, maior a sua potencialidade

para esta aplicação.¹⁴ As Ag APTES R1 e o Ag APTES R3 apresentaram valores na faixa de 8-15 e 7-10 nm, respectivamente, mostrando uma uniformidade no diâmetro das partículas. Por outro lado, as nanopartículas Ag APTES R2 não apresentaram uniformidade de diâmetros com valores na faixa de 7-30 nm. Apesar de não serem uniformes, ainda possuem diâmetros bons para seu uso como agente antimicrobiano que vão de 1 a 90 nm.

Os percentuais em peso de prata nas nanopartículas de SiAgE, sintetizadas pelos três métodos, foi calculada de maneira direta, em função da quantidade de prata colocada e a quantidade de SiAgE obtida. Foram sintetizadas SiAgE adicionando diferentes pesos de AgNO₃ 55 mg e 75 mg. Os percentuais em peso são mostrados na Tabela 9. O percentual em peso de NPAs encapsuladas por sílica pelo método sol-gel ficou na faixa de 1,0-1,4% do peso total da carga nas reduções R1 e R2. A síntese R3 apresentou maior percentual de NPAs (1,4 e 1,9% em peso) comparada com as demais. Isto mostra que o processo de encapsulamento foi prejudicado pelo glicerol, talvez devido à sua viscosidade ser grande. Assim a conversão de TEOS em um polímero de sílica não foi tão eficiente como na presença dos outros redutores e o percentual de Ag no peso final da carga ficou maior.

Tabela 9. Percentual em peso de Ag nas cargas SiAgE.

Amostras	SiAgE (g)	AgNO₃ adicionado (mg)	Ag adicionado (mg)	Ag %
Si R1	3,47	0,0	0,0	0,0
Si APTES R1	3,48	0,0	0,0	0,0
SiAgE 55 R1	3,50	55	35	1,0
SiAgE 75 R1	3,52	75	48	1,4
SiAgE 55 APTES R1	3,52	55	35	1,0
SiAgE 75 APTES R1	3,52	75	48	1,4
Si R2	3,50	0,0	0,0	0,0
Si APTES R2	3,50	0,0	0,0	0,0
SiAgE 55 R2	3,54	55	35	1,0
SiAgE 75 R2	3,58	75	48	1,3
SiAgE 55 APTES R2	3,56	55	35	1,0
SiAgE 75 APTES R2	3,59	75	48	1,3
Si APTES R3	2,48	0,0	0,0	0,0
SiAgE 55 APTES R3	2,49	55	35	1,4
SiAgE 75 APTES R3	2,55	75	48	1,9

*A nomenclatura utilizada é a seguinte: Si Rx: Rx = Agente redutor x (x = 1, ác. cítrico; x = 2, glicose e x = 3, glicerol). ** SiAgE YY Rx: o x é o agente redutor (1, 2 ou 3); o YY são as mg de AgNO₃ adicionadas que podem ser 55 mg ou 75mg.

Na Tabela 9 pode-se observar que, mesmo utilizando a mesma quantidade de TEOS (10 mL) em todos os processos de encapsulamento, os valores de conversão foram diferentes (ver SiAgE em gramas). As SiAgE foram estudadas também por TGA para avaliar sua estabilidade térmica e o percentual de resíduos remanescentes do processo de decomposição. O resíduo na temperatura de 800 °C é constituído apenas de sílica e prata. Para este teste foram escolhidas sílicas onde não foram adicionadas NPAs e as SiAgE nas que foram adicionados 75 mg de AgNO₃. Os resultados desta análise são mostrados na Tabela 10. As curvas termogravimétricas mostradas no capítulo Anexo, apresentaram para todas as sílicas o mesmo perfil, com duas perdas de peso.

Tabela 10. Resultados da análise de TGA de percentual (%) de peso perdido para amostras de sílica com agente redutor e para as SiAgE SiAgE nas temperaturas de 100 e 800 °C.

Amostras	% de peso perdido (100°C)	% de peso perdido (800°C)
Si R1	21,0	27,2
Si APTES R1	15,0	25,3
SiAgE 75 R1	22,7	27,7
SiAgE 75 APTES R1	14,0	21,9
Si R2	8,3	17,5
Si APTES R2	14,9	25,6
SiAgE 75 R2	10,6	19,3
SiAgE 75 APTES R2	6,7	19,7
Si APTES R3	14,3	63,1
SiAgE 75 APTES R3	13,1	62,1

A primeira etapa de perda de peso é aos 100 °C e refere-se à eliminação de água e resíduos voláteis que se encontram no meio da sílica, produto das reações de redução e de sol-gel. Apesar das sílicas passarem por um processo de lavagem e secagem a 50 °C durante 24h, essas moléculas permanecem no sistema. As amostras que tiveram o maior valor de perda de peso na temperatura de 100 °C foram as da redução R1 com um intervalo percentual de 14,0 - 22,7 %. É possível que o ácido cítrico, contendo três grupos de ácido carboxílico, retenha mais água do que os outros agentes redutores que possuem apenas grupos hidroxila.

Houve também diferença entre as amostras com prata que possuem APTES (SiAgE 75 APTES R1 e SiAgE 75 APTES R2) e aquelas sem APTES (SiAgE 75 R1 e SiAgE 75 R2). A adição de APTES proporciona maior estabilidade á matriz, por isto, as SiAgE apresentam diminuição da perda de peso.

Em relação à perda de peso a 800 °C, os maiores valores são da redução R3 (Si APTES R3 e SiAgE 75 APTES R3). O R3 usa glicerol e, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 10, os valores de perda são 63,1% para sílica sem prata e 62,1% para sílica com prata (75 mg AgNO₃). A 800 °C todos os compostos orgânicos usados na síntese foram eliminados e apenas sílica e prata permanecem. O grande valor de perda de peso de 63% mostra que apenas 37% em peso dessas amostras são constituídas por sílica e prata, sugerindo que as reações de hidrólise e condensação do processo sol-gel não foram favorecidas, então nem todo o TEOS reagiu (isto também pode ser visto pelo baixo rendimento da reação mostrada na Tabela 9). Conseqüentemente, temos o sistema de sílica cristalina com glicerol e TEOS no seu interior, e eles não saem com a lavagem final e secagem a 50 °C por 24 h. Por outro lado, as outras SiAgE obtidos com ácido cítrico e glicose são constituídos de cerca de 80% de sílica e prata, indicando que o processo sol-gel foi favorecido.

As medidas de difração de raios X foram realizadas para todas as amostras SiAgE, afim de verificar o padrão cristalino característico do sistema de prata e sílica. Todas as amostras deram gráficos semelhantes e sobrepostos, que mostraram um pico em aproximadamente $2\theta = 23^\circ$ característico da sílica amorfa.¹¹² Uma única amostra apresentou picos característicos da adição de NPAGs identificados como prata com plano cristalino cúbico de face centrada (fcc) e são $2\theta = 38.2^\circ, 44.3^\circ$ e 64.7° , correspondentes aos planos 111, 200 e 220.^{29,113} Essa amostra foi SiAgE 75 APTES R2, e a aparição desses picos bem característicos pode apontar que possivelmente houve uma aglomeração das NPAGs (aumentou o valor médio das partículas) ou uma contaminação. Os difratogramas das amostras reduzidas com glicose (R2) são mostrados na Figura 20. A não aparição desses picos nas outras amostras não significa que não contenham NPAGs.

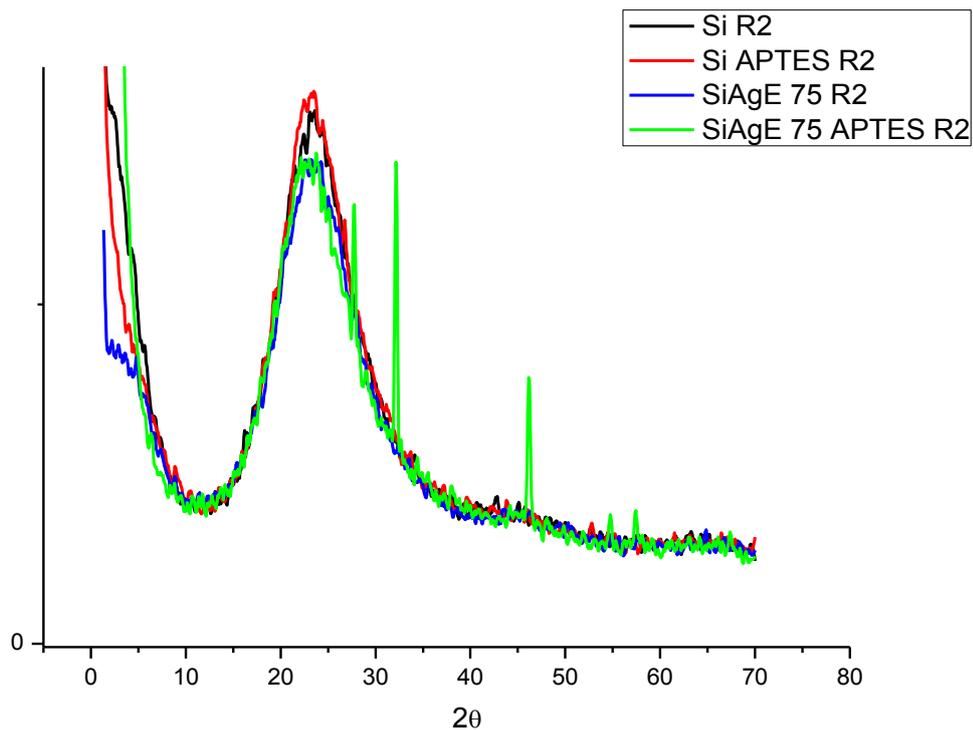
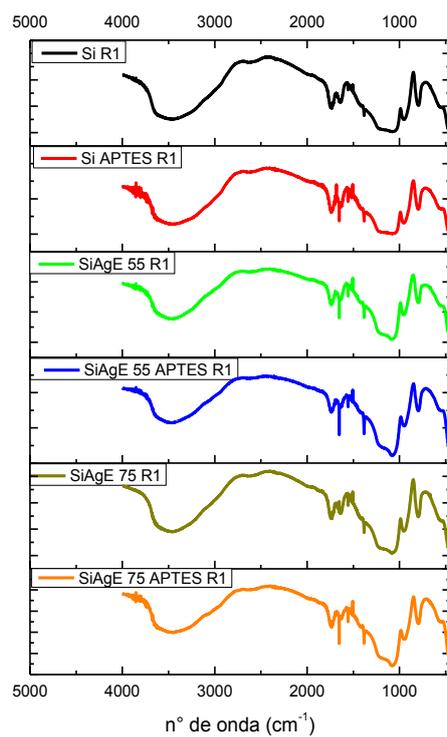
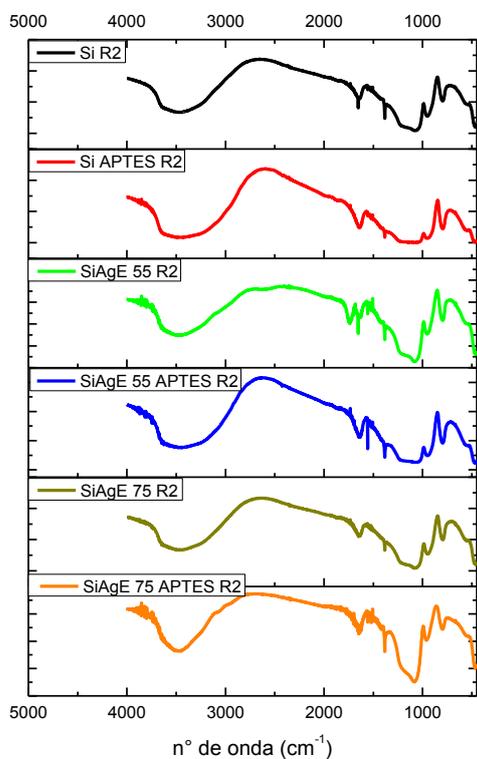


Figura 20. Difratoograma de raio X das amostras reduzidas com glicose (R2).

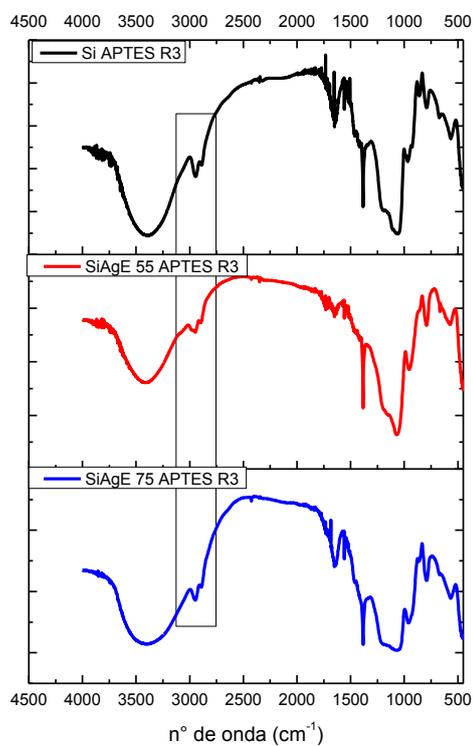
Como pela técnica de difração de raios X somente uma amostra de SiAgE apresentou picos de prata, outras técnicas foram realizadas. Assim, para identificar se as NPAs aparecem e interagem com a matriz de sílica, foram utilizadas as técnicas de FTIR e DRS UV-VIS. Os espectros de FTIR são mostrados na Figura 21 e os espectros de DRS UV-VIS na Figura 22.



(a)

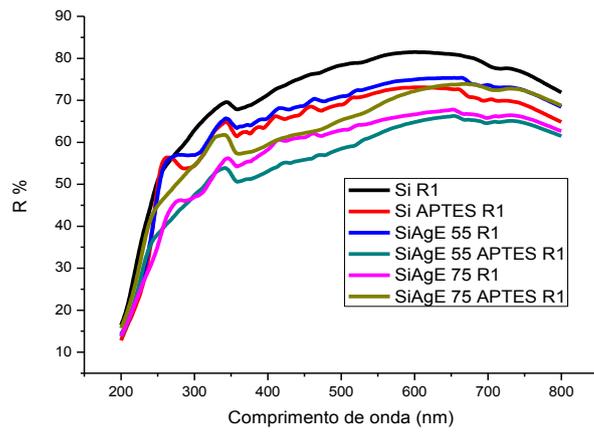


(b)

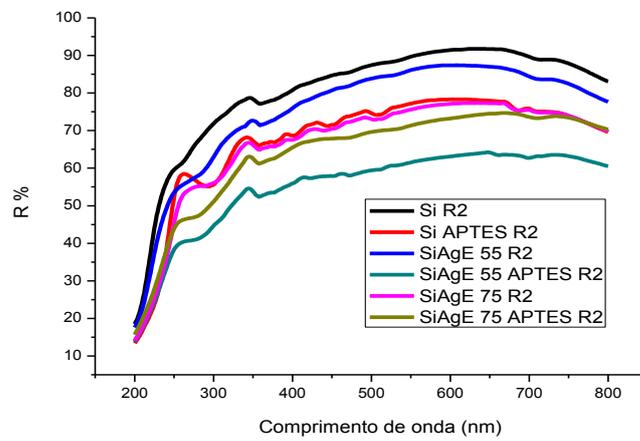


(c)

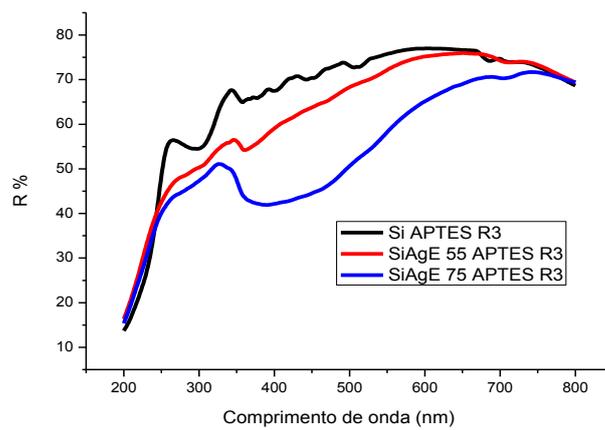
Figura 21. Espectro de FTIR para todos os sistemas SiAgE, R1 (a), R2 (b) e R3 (c).



(a)



(b)



(c)

Figura 22. Espectro de DRS UV-Vis para todos os sistemas SiAgE, R1 (a), R2 (b) e R3 (c).

Na Figura 21 é possível observar que todos os espectros de FTIR possuem a mesma forma, caracterizando um material de sílica amorfa no qual as bandas de Si-O-Si aparecem a 1195 cm^{-1} (estiramento assimétrico), 793 cm^{-1} (*bending*) e 464 cm^{-1} (*rocking*).¹¹⁴ As bandas típicas de sílica aparecem em todos os espectros, e é possível observar que elas não diminuem de intensidade quando as NPAs são adicionadas, como por exemplo, a banda característica do grupo OH na faixa de $2800 - 3800\text{ cm}^{-1}$. Também não foi possível observar as bandas de ligação entre os grupos APTES-Ag em 3356 e 3298 cm^{-1} relacionadas a $-\text{NH}$, conforme relatado em outro estudo.¹¹³ Isto pode acontecer devido a sua baixa concentração no sistema e sobreposição de outras bandas.

A única diferença nos espectros é destacada na Figura 21 (c) onde podem ser observada duas bandas na região de $2800-3000\text{ cm}^{-1}$, que não estão presentes nas amostras reduzidas com ácido cítrico e glicose. A diferença em relação às amostras de R3 (glicerol) pode estar relacionada ao processo de síntese. Estes dois picos que aparecem em 2939 e 2868 cm^{-1} podem ser atribuídos ao estiramento C-H de CH_2 e C-H alifáticos do glicerol. Isso mostra que o glicerol e subprodutos da reação de redução R3 estão dentro dos poros das SiAgE em grandes quantidades. O glicerol e subprodutos não são eliminados por lavagem com etanol e secagem das SiAgE. Este fato reforça os resultados da análise de TGA, que mostrou que as amostras de R3 apresentam a maior perda de peso.

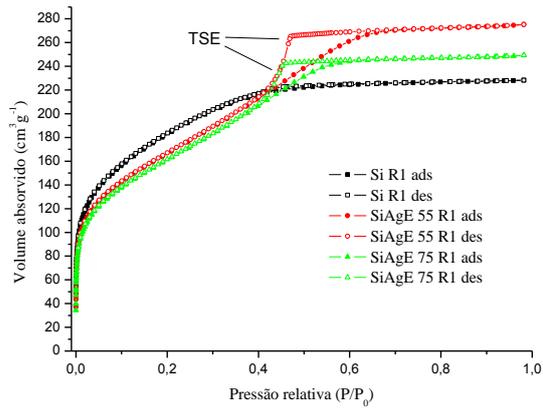
De acordo com a Figura 22 os espectros de DRS UV-VIS dos sistemas SiAgE foram muito semelhantes, característicos da sílica amorfa. A diferença é a diminuição na refletância dos espectros dos sistemas que contem NPAs, comparados com os sistemas que só possuem sílica. Também nos espectros onde se usou glicerol (R3) Figura 23(c) há uma absorbância maior, que pode ser dos resíduos presentes no sistema, descaracterizando um pouco o espectro de sílica amorfa.

A área superficial e o volume de poros foram verificados pela porosimetria de nitrogênio e os valores estão apresentados na Tabela 11. Os resultados do SiAgE foram separados de acordo com o processo de redução (R1, R2 e R3) e com ou sem adição de APTES para melhor visualização. Também relativo à técnica de porosimetria de nitrogênio são mostradas as isotermas de adsorção-dessorção de N_2 e o gráfico de distribuição de tamanho de poros para as nanopartículas de SiAgE na Figura 23.

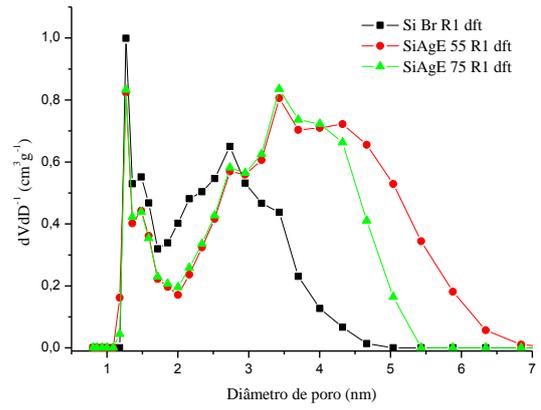
Tabela 11. Valores de área superficial e volume de poros obtidos pela técnica de Porosimetria de Nitrogênio para todas as sílicas.

Amostras	BET área superficial m²g⁻¹	Volume de poro cm³g⁻¹	ADI GR^a
Si R1	651 ± 6	0,177 ± 0,001	
SiAgE 55 R1	591 ± 6	0,321 ± 0,001	(a) (b)
SiAgE 75 R1	571 ± 6	0,276 ± 0,001	
Si APTES R1	650 ± 6	0,142 ± 0,001	
SiAgE 55 APTES R1	475 ± 5	0,112 ± 0,001	(c) (d)
SiAgE 75 APTES R1	391 ± 4	0,104 ± 0,001	
Si R2	592 ± 6	0,099 ± 0,001	
SiAgE 55 R2	594 ± 6	0,117 ± 0,001	(e) (f)
SiAgE 75 R2	466 ± 5	0,115 ± 0,001	
Si APTES R2	498 ± 5	0,099 ± 0,001	
SiAgE 55 APTES R2	538 ± 6	0,165 ± 0,001	(g) (h)
SiAgE 75 APTES R2	676 ± 6	0,518 ± 0,001	
Si APTES R3	59 ± 3	0,007 ± 0,001	
SiAgE 55 APTES R3	1,0 ± 0.2	< 0,0005	(i) (j)
SiAgE 75 APTES R3	24 ± 2	0,007 ± 0,001	

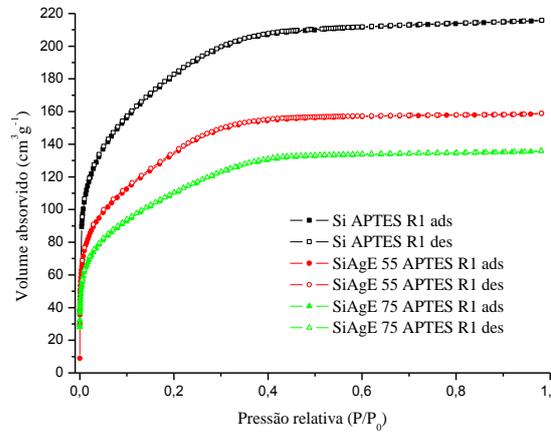
^agráfico respectivo para isotermas de adsorção-dessorção e distribuição de tamanho de poro apresentadas na Figura 23.



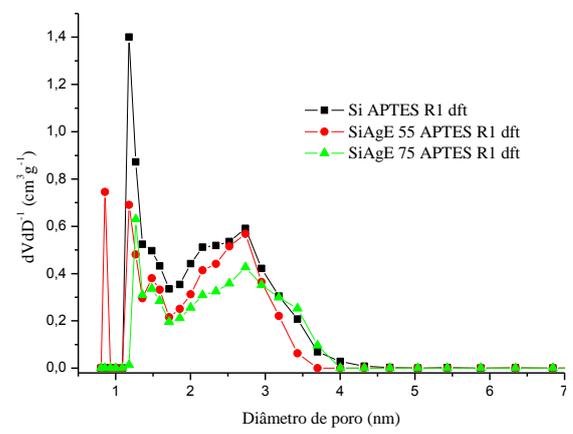
(a)



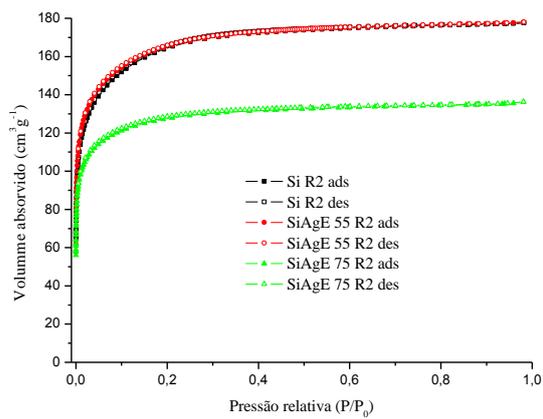
(b)



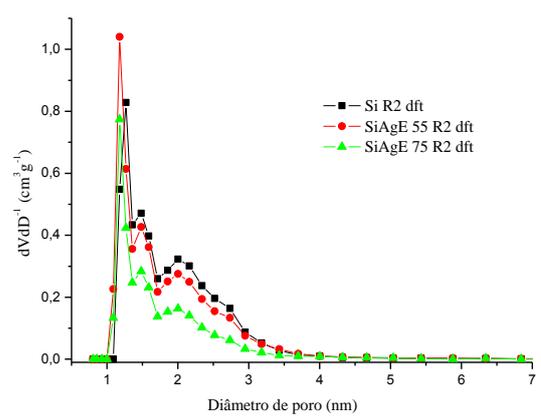
(c)



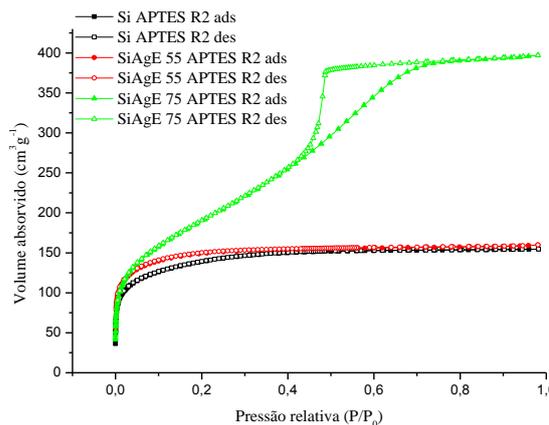
(d)



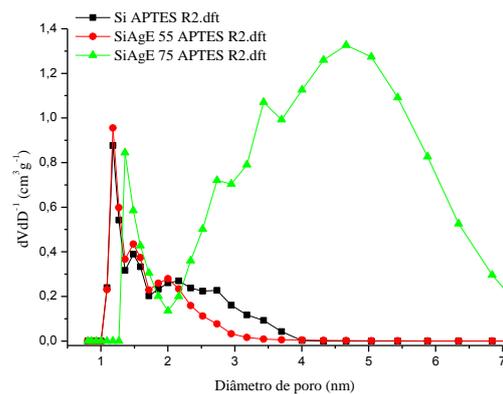
(e)



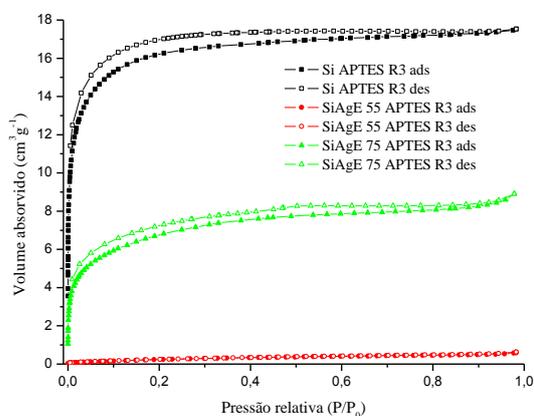
(f)



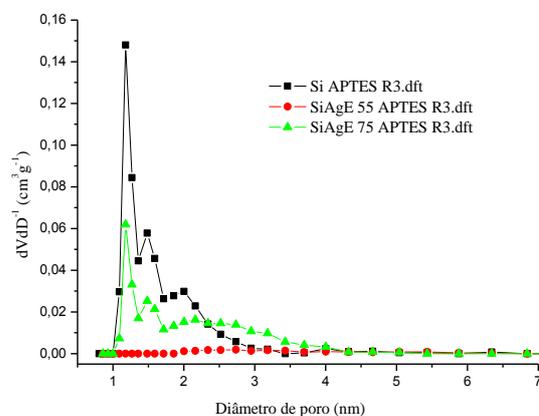
(g)



(h)



(i)



(j)

Figura 23. Isotermas de adsorção-dessorção de N_2 (a, c, e, g) e distribuição do diâmetro de poros (b, d, f, j) para todos sistemas SiAgE.

Na Tabela 11 e na Figura 23 se encontram os resultados das análises de porosimetria de nitrogênio das amostras de SiAgE. O modelo DFT foi usado para a construção dos gráficos, pois como os diâmetros de poros e a sua distribuição estão no tamanho nanométrico ($\pm 1 - 2$ nm), diferentemente das NPAs ligadas covalentemente à sílica coloidal que o modelo foi o BJH, aonde os diâmetros são maiores.^{97,115}

De acordo com os resultados somente três isotermas de adsorção-dessorção apresentaram histerese. As amostras foram, SiAgE 55 R1, SiAgE 75 R1 (Figura 23(a)) e SiAgE 75 APTES R2 (Figura 23(g)). Todas as outras amostras mostraram comportamento de adsorção isotérmica similar. De modo geral apresentaram uma forma côncava ao eixo P/P_0

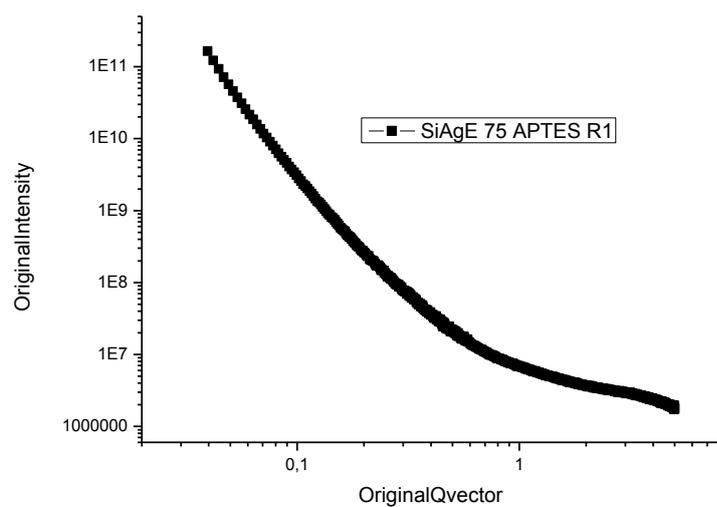
característica das isotermas do tipo I (B), típicas de materiais com ampla faixa de distribuição de tamanho de poros incluindo microporos e possivelmente mesoporos ($< \sim 2.5\text{nm}$). Para as outras três amostras, o comportamento de adsorção isotérmica mostrou uma forma característica ao eixo P/P_0 do tipo IV (A), nesta isoterma, a condensação capilar é acompanhada por histerese. Isso ocorre quando a largura do poro excede uma certa largura crítica, que depende do sistema de adsorção e da temperatura para ter a desorção.¹¹⁶

Primeiramente serão discutidos os valores do sistema R1 (redução com ác. Cítrico na Tabela 11). Os resultados mostram que a adição de NPAGs e APTES diminui a área superficial das cargas R1. Uma provável explicação é que quando as NPAGs são adicionadas, pode haver uma desordem no crescimento da matriz de sílica que está sendo construída pelo processo sol-gel e, portanto, uma diminuição da área de superficial. Esta desordem é maior quando o APTES está presente porque seus grupos $-\text{NH}_2$ podem interagir com as moléculas do TEOS e também depois quando o polímero de sílica já cresceu (SiO_2). A área superficial em m^2g^{-1} está na seguinte ordem: Si R1 > SiAgE R1 > SiAgE APTES R1. Analisando-se o volume de poros, observa-se que nas amostras Si R1 o volume de poros aumenta com a adição das NPAGs e diminui com a adição do APTES (Si APTES R1). Isto acontece, pois a introdução do NPAGs aumenta a necessidade de espaço dentro da sílica para acomodá-las (volume de poros), outro fato que as NPAGs não têm muita interação com a matriz de sílica, então o encapsulamento é principalmente físico. No entanto, com a adição de APTES esses espaços diminuem. Todos estes fatos também são observados na distribuição dos diâmetros dos poros, onde ambos são nanoporos, embora nas Si R1 e SiAgE R1 a distribuição de poros tenha um intervalo de 1 a 7 nm (Figura 23 (b)) e nas Si APTES R1 e SiAgE APTES R1 a faixa está entre 1 e 4 nm (Figura 23 (d)).

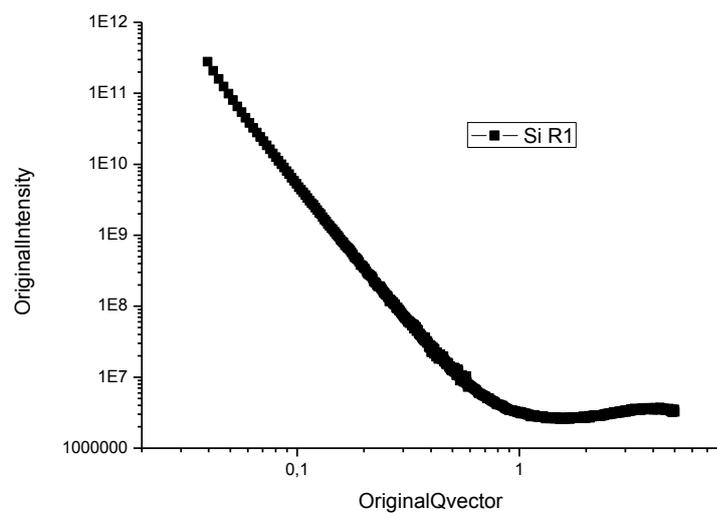
Para o sistema R2 (redução com glicose), os valores da área superficial foram semelhantes para as amostras Si R2 e SiAgE 55 R2, com uma pequena diminuição para a amostra SiAgE 75 R2 que é menor que nas amostras R1. Por outro lado, no R2 com APTES o processo é inverso que no caso de R1 pois aumenta a área de superfície junto com o volume de poros. Este fato demonstrou que o processo sol-gel é diferente entre R1 e R2 quando o APTES é adicionado. A análise do TEM mostrou que o APTES R2 foi a amostra com maior diâmetro médio das partículas. O aumento do volume de poros para essas amostras pode estar relacionado à redução com glicose, em que os grupos $-\text{NH}_2$ de APTES estariam reagindo com o sistema antes do processo sol-gel, assim, bloqueando a interação com a matriz de sílica. Ocorrendo dessa forma um encapsulamento físico, aumentando o volume de poros, pois é necessário mais espaço dentro da matriz para as APTES R2.

A redução com glicerol (R3) é a mais diferente de todos os sistemas, como já foi visto pelas outras técnicas. A redução de prata com glicerol e subsequente o processo sol-gel ácido não favorece a formação da matriz de sílica. O sistema R3 foi realizado apenas com APTES porque a síntese sem APTES não formou a matriz de sílica. A prata reduzida com glicerol só foi lavada com água e etanol, mas não com tetrahidrofurano (THF) como descrito na literatura.²⁹ O procedimento escolhido foi este para manter um caminho direto com uma síntese “verde”. O mesmo aconteceu quando outros reagentes foram escolhidos para fazer a redução da prata. A caracterização destes materiais R3 mostrou que os subprodutos da reação permaneceram dentro da matriz após a lavagem. Os valores para suas áreas superficial e volumes de poros foram muito baixos. A conversão do TEOS em polímero de sílica foi baixa e sua matriz e poros estão entupidos. Este fato também foi observado pelas técnicas de TGA e FTIR.

As nanopartículas também foram estudadas por espalhamento de raios X de baixo ângulo (SAXS) para determinar a estrutura multiescalar, a estrutura de fractal das nanopartículas, assim obtendo diâmetro de partícula e o resultado proveniente da lei Porod dos sistemas SiAgE. Os resultados são mostrados na Tabela 12. A maioria das curvas mostraram dois níveis de organização, resultando assim, em um valor da lei de Porod **P2** (segundo nível). Para algumas amostras, as curvas foram ajustadas por três níveis, resultando em um valor Porod lei **P3** (terceiro nível). Essa diferença pode ser vista a partir da forma das curvas mostradas como exemplo na Figura 24.



2 níveis
 ρ_2 (ρ do segundo nível)
 (a)



3 níveis
 ρ_3 (ρ do terceiro nível)
 (b)

Figura 24. Curvas de SAXS das amostras SiAgE 75 APTES R1 e Si R1, mostradas como exemplo de curvas que possuem 2 e 3 níveis em sua estrutura multiescalar.

Tabela 12. Análise de SAXS para a determinação dos diâmetros de partículas e o resultado da lei de Porod (*P*) para os sistemas SiAgE.

Amostras	Rg1^a (nm)	Rg2^b (nm)	Rp^c (nm)	Dp^c (nm)	P2	P3
Si R1	1,614	4,002	5,164	10,33	2,397	3,675
Si APTES R1	6,350	-	8,207	16,41	3,089	-
SiAgE 55 R1	4,677	-	6,040	12,08	2,604	-
SiAgE 75 R1	7,818	-	10,09	20,19	2,581	-
SiAgE 55 APTES R1	4,309	-	5,560	11,12	3,255	-
SiAgE 75 APTES R1	4,278	-	5,520	11,04	3,293	-
Si R2	0,9320	3,590	4,634	9,268	2,152	3,380
Si APTES R2	0,4113	1,471	1,899	3,798	2,396	3,917
SiAgE 55 R2	4,318	-	5,573	11,15	3,464	-
SiAgE 75 R2	3,681	-	4,755	9,510	3,228	-
SiAgE 55 APTES R2	0,4745	2,492	3,217	6,434	1,992	3,929
SiAgE 75 APTES R2	0,4803	1,847	2,384	4,769	1,020	2,882
Si APTES R3	0,8752	4,118	5,316	10,63	2,346	3,529
SiAgE 55 APTES R3	4,501	-	5,811	11,62	3,833	-
SiAgE 75 APTES R3	7,149	-	9,232	18,47	2,722	-

^araio de giro da partícula primária, ^braio de giro da partícula secundária, ^craio da partícula, ^ddiâmetro da partícula.

Observando os resultados da Tabela 12, nota-se que as sílicas sem adição de NPAGs apresentaram 3 níveis, mostrando uma matriz mais complexa, com raios de giro da partícula primária e secundária.

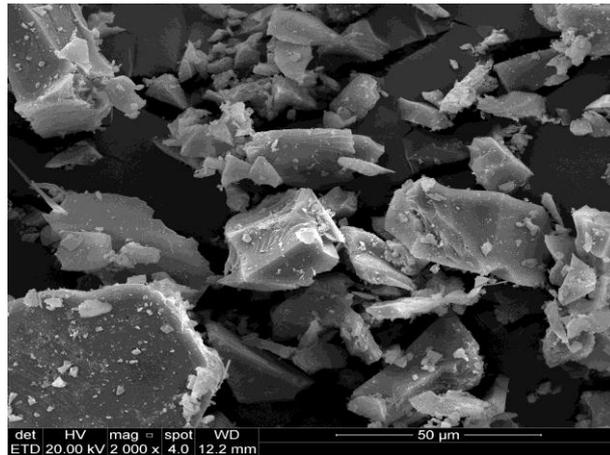
Para os sistemas R1 e R3, o diâmetro das partículas finais aumentaram com a adição das NPAGs. É importante lembrar que essas NPAGs são aquelas que possuem diâmetros menores e uma faixa uniforme em seus tamanhos. Essas NPAGs estabilizam a matriz de sílica em crescimento no processo sol-gel, resultando em maiores tamanhos de SiAgE R1 e R3. No entanto, há uma variação nos valores de diâmetro de partículas para o sistema R2. Estas nanopartículas apresentaram os maiores valores de diâmetro e uma menor uniformidade de tamanhos, variando de 7 a 30 nm. Com esta variação não há uma uniformidade da matriz igual a R1 e R3.

Os modelos de estruturas fractais mantiveram o mesmo padrão, as amostras sem adição de NPAGs apresentaram um modelo fractal de acordo com a lei de Porod (P), com valores superiores a 3, indicando partículas esféricas. Os resultados da lei de Porod também mostraram diferenças entre as rotas. Um valor para ρ de $1 < \rho < 2$ indica uma estrutura fractal de massa, $2 < \rho < 3$ indica um fractal de superfície e $\rho \leq 4$ uma partícula esférica (ver Figura 12).^{102,117} Todos os sistemas (R1, R2 e R3) para sílica com adição de prata (SiAgE) apresentaram valores diferentes para os modelos fractais.

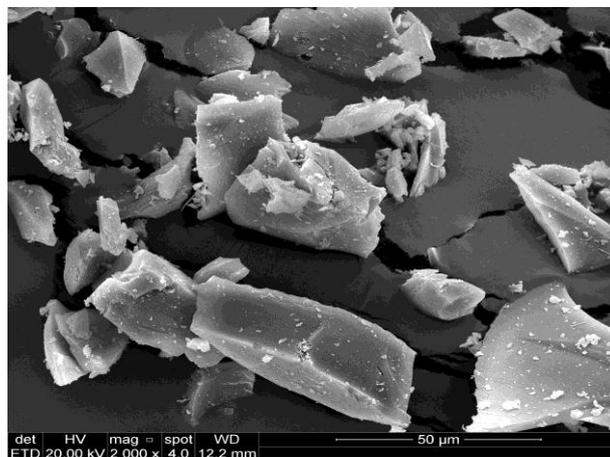
Nas amostras R1 as partículas SiAgE 55 R1 e SiAgE 75 R1 (sem adição de APTES) tiveram seus valores de ρ iguais a 2,604 e 2,581, respectivamente, o que indica fractal de superfície para as duas amostras, ou seja, elas são mais ramificadas. As amostras SiAgE 55 APTES R1 e SiAgE 75 APTES R1 possuem valores de ρ maiores que 3, o que mostra que a adição de APTES nas NPAGs está de acordo com a estrutura de uma matriz esférica e de menor diâmetro.

No sistema R2 o processo é diferente, os valores obtidos têm o ρ maior que 3 significando que as partículas são esféricas. Apenas a amostra SiAgE 75 APTES R2 apresentou o valor de $\rho = 2,882$ indicando um fractal de superfície. Isso demonstra que a partícula é mais ramificada e que a maior quantidade de NPAGs (75 mg AgNO₃) perturbou o processo sol-gel. O mesmo ocorre com o sistema R3, com maior quantidade de prata (SiAgE 75 APTES R3); houve um distúrbio nas reações do processo sol-gel resultando em um $\rho = 2,722$ referentes a partículas mais ramificadas, ou seja, mais amorfas com uma menor área superficial.

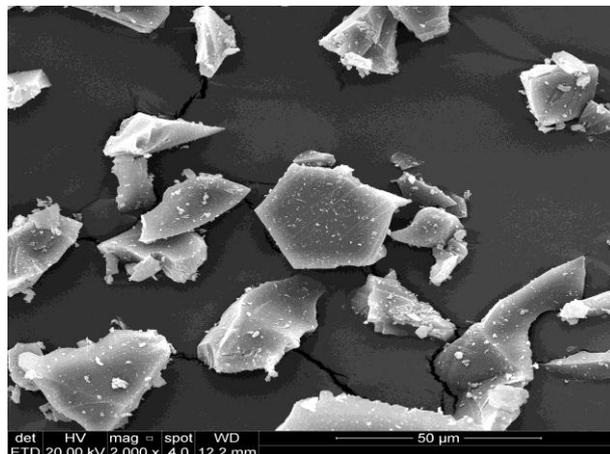
A morfologia dos sistemas SiAgE foi estudada por MEV. A Figura 25 mostra as imagens MEV das amostras, (a) SiAgE 75 APTES R1, (b) SiAgE 75 APTES R2 e (c) SiAgE 75 APTES R3. É possível observar que não há diferenças significativas entre as partículas, elas são todas amorfas, com fragmentos de tamanhos bem diferentes.



(a)



(b)



(c)

Figura 25. Imagens de MEV das amostras (a) SiAgE 75 APTES R1; (b) SiAgE 75 APTES R2; (c) SiAgE 75 APTES R3.

Foi realizado o teste antibacteriano de difusão em disco para todos os sistemas SiAgE. Este teste mede, em milímetros, a zona de inibição que está relacionada com o efeito

antibacteriano do material. Os resultados do teste de difusão estão resumidos na Tabela 13 e as imagens dos testes antibacterianos são mostradas na Figura 26.

Tabela 13. Atividade antibacteriana através do método de difusão em disco dos sistemas SiAgE testados com as bactérias *Escherichia coli* (Gram negativa) e *Staphylococcus aureus* (Gram positiva).

Amostras	Zona de inibição (mm) – <i>Escherichia coli</i>	Zona de inibição (mm) – <i>Staphylococcus aureus</i>
Si R1	0	0
Si APTES R1	10	13
SiAgE 55 R1	12	19
SiAgE 55 APTES R1	15	21
SiAgE 75 R1	15	20
SiAgE 75 APTES R1	17	24
Si R2	0	0
Si APTES R2	9	10
SiAgE 55 R2	12	13
SiAgE APTES 55 R2	13	14
SiAgE 75 R2	14	14
SiAgE 75 APTES R2	18	25
Si APTES R3	9	11
SiAgE 55 APTES R3	15	18
SiAgE 75 APTES R3	18	21



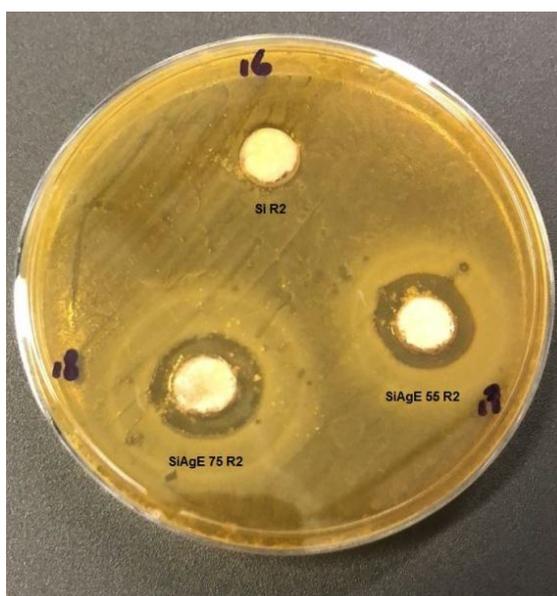
E. coli

(a)



S. aureus

(b)



E. coli

(c)



S. aureus

(d)

Figura 26. Imagens do teste de difusão em disco para todos os sistemas SiAgE utilizando as bactérias *E. coli* e *S. aureus*.

As sílicas Si R1 e Si R2 não apresentaram halo de inibição como esperado, pois, não possuem as NPAs em sua estrutura. No entanto, as sílicas Si APTES R1, Si APTES R2 e Si APTES R3, contendo a mais o APTES (sem a presença das NPAs) apresentaram halo de inibição, o que não era esperado. Este fato sugere que as moléculas de APTES remanescentes

dentro da matriz de sílica não foram eliminadas por lavagem e secagem e mostram-se ativas contra as bactérias testadas, ou seja, tem toxicidade. As nanopartículas contendo NPAGs sem APTES (SiAgE 55 R1, SiAgE 75 R1, SiAgE 55 R2 e SiAgE 75 R2) também apresentaram atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *S. aureus*, mostrando halos de inibição superiores às nanopartículas sem prata e somente APTES, assim a toxicidade das NPAGs é maior. Os valores dos halos em milímetros foram maiores com o aumento da quantidade de NPAGs (Tabela 13).

Toda a sílica contendo APTES apresentou melhores resultados de inibição, indicando que os sistemas de NPAGs encapsulados por sílica são mais ativos quando o APTES é utilizado. Portanto, além de estabilizar as NPAGs diminuindo seu diâmetro, o APTES também contribuiu para a ação antibacteriana. Os melhores resultados obtidos com os testes de difusão em disco de um modo geral para as duas bactérias foram utilizando ácido cítrico como agente redutor (sistema R1). Todas as nanopartículas foram mais eficientes contra *S. aureus* (Gram positiva) que com *E. coli* (Gram negativa).

5.2.2 Nanocompósitos poliméricos PESiAgE

Todas as cargas (sílicas com e sem a presença das NPAGs) foram utilizadas na polimerização *in situ* de etileno para sintetizar nanocompósitos poliméricos com atividade antibacteriana (nanocompósitos PESiAgE). Antes da polimerização, todas as sílicas foram submetidas a um pré-tratamento que consistiu em um aquecimento a 50 °C por 24 h e uma adição de 0,1 mL do cocatalisador(MAO) em tolueno para impedir a desativação do catalisador metalocênico pelos grupos funcionais de oxigênio presentes na sílica. Então, esta suspensão foi adicionada diretamente ao reator com os outros reagentes.

Os resultados da polimerização do etileno com as SiAgE são mostrados na Tabela 14.

Tabela 14. Nonocompósitos poliméricos com adição do sistema SiAgE. Atividade catalítica, percentual de Ag, percentual de carga e propriedades térmicas utilizando 100 g de carga.

Amostras	Rendimento (g)	Atividade catalítica (KgPE/[Zr] h bar)	Ag ^a % p.p ⁻¹	SiAgE ^b % p.p ⁻¹	SiAgE TGA %	T _{onset} ^c °C	T _{max} ^d °C	T _c ^e °C	T _m ^f °C	X _c ^g %
PE	8,68	1691	0	0	0	266	478	116	130	51
PESi R1	6,81	1327	0	1,5	1,5	259	469	118	132	56
PESi APTES R1	7,34	1430	0	1,4	1,4	262	474	116	132	56
PESiAgE 55 R1	6,76	1317	0,015	1,5	-	-	-	118	131	51
PESiAgE 55 APTES R1	8,98	1749	0,016	1,1	-	-	-	-	-	-
PESiAgE 75 R1	8,18	1593	0,012	1,2	3,1	265	465	120	130	57
PESiAgE 75 APTES R1	7,55	1471	0,019	1,3	1,7	263	465	119	132	48
PESi R2	6,91	1346	0	1,4	3,8	263	471	118	131	47
PESi APTES R2	7,95	1549	0	1,3	1,1	262	472	117	131	51
PESiAgE 55 R2	6,83	1330	0,015	1,5	-	-	-	119	131	52
PESiAgE 55 APTES R2	7,35	1432	0,018	1,4	-	-	-	-	-	-
PESiAgE 75 R2	8,67	1689	0,012	1,2	2,2	263	478	121	132	56
PESiAgE 75 APTES R2	8,61	1677	0,015	1,2	1,4	257	473	119	131	52
PESi APTES R3	6,10	1188	0	1,6	1,3	259	468	118	132	52
PESiAgE 55 APTES R3	7,14	1391	0,020	1,4	-	-	-	-	-	-
PESiAgE 75 APTES R3	8,72	1699	0,022	1,1	0,9	265	470	118	132	47

^a Percentual teórico de prata; ^b percentual teórico da carga; ^c Temperatura inicial de degradação; ^d Temperatura máxima de degradação; ^e Temperatura de cristalização; ^f Temperatura de fusão; ^g percentual de cristalinidade.

- as análises para essas amostras não foram feitas.

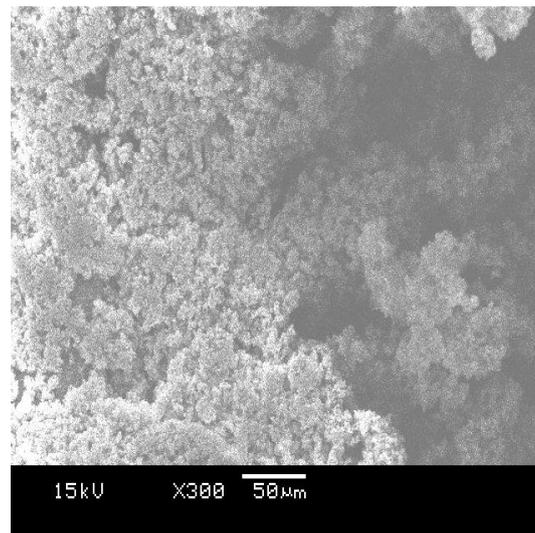
O resultado da polimerização homogênea de etileno (PE = sem carga) também é mostrado. Todas as reações de polimerização proporcionaram altos rendimentos e por consequência altas atividades catalíticas, mostrando que o pré-tratamento das cargas com o cocatalisador (MAO) foi eficiente contra a desativação do catalisador (Cp_2ZrCl_2). As atividades catalíticas podem ser consideradas boas quando comparadas com outros trabalhos que utilizaram cargas semelhantes.^{3,16,118}

O percentual teórico de prata nos nanocompósitos (Ag \% p.p^{-1}), coluna 4 na Tabela 14, foi calculado considerando a quantidade de AgNO_3 (55 ou 75 mg) utilizada nos sistemas SiAgE e o rendimento (gramas) dos nanocompósitos. O percentual de Ag permaneceu entre 0,012-0,022% em peso. Na coluna 5, “SiAgE %” é a porcentagem em peso ($\% \text{ p.p}^{-1}$) das nanopartículas de sílica no nanocompósito, e foi calculada considerando a massa das nanopartículas de sílica colocadas no reator (100 mg) e o rendimento (gramas) de polímero obtido. A quantidade de SiAgE também foi calculada usando o resíduo TGA e os valores (coluna 6) foram bastante próximos mostrando a homogeneidade da matriz dos nanocompósitos.^{1,119}

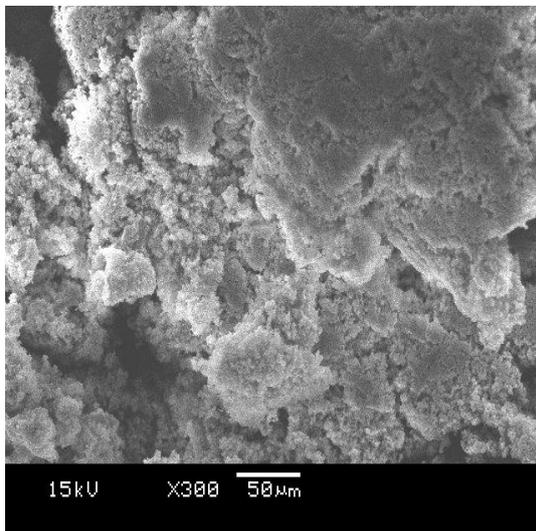
As propriedades térmicas analisadas por TGA e DSC não mostraram diferenças significativas entre polietileno puro (PE) e nanocompósitos. Considerando valores individuais, a maior diferença foi uma diminuição de 13 °C na temperatura máxima de degradação das amostras PESiAgE 75 R1 e PESiAgE 75 APTES R1, assim, mostrando uma diminuição na estabilidade térmica. As temperaturas de fusão (T_m) e de cristalização (T_c) também foram semelhantes, com um ligeiro aumento de 1 a 5 °C, em especial da T_c , comparada ao PE (polietileno puro). Este comportamento é usual em nanocompósitos devido ao efeito de nucleação que exercem as cargas. As cristalinidades (X_c) variaram de 47 a 57%, o que é muito próximo a do polietileno puro (51%). Este dado significa que as cargas não alteraram significativamente a matriz polimérica preservando todas as propriedades do polietileno.

A morfologia dos nanocompósitos foi estudada por MEV. A Figura 27 mostra as imagens (a) polietileno (PE), (b) PESiAgE 75 APTES R1 e (c) PESiAgE 75 APTES R2. Nestas imagens é possível observar que a morfologia dos nanocompósitos é semelhante à do polietileno puro. Em outro ponto, não é possível observar as morfologias das cargas (Figura 25) junto com a matriz polimérica, isto demonstra que a matriz polimérica está cobrindo por completo as cargas SiAgE o que pode indicar uma boa dispersão. Observando as morfologias na Figura 27 é possível afirmar que todas são amorfas. Em alguns casos, os nanocompósitos pode replicar a morfologia das nanocargas utilizadas, como já foi observado em trabalhos

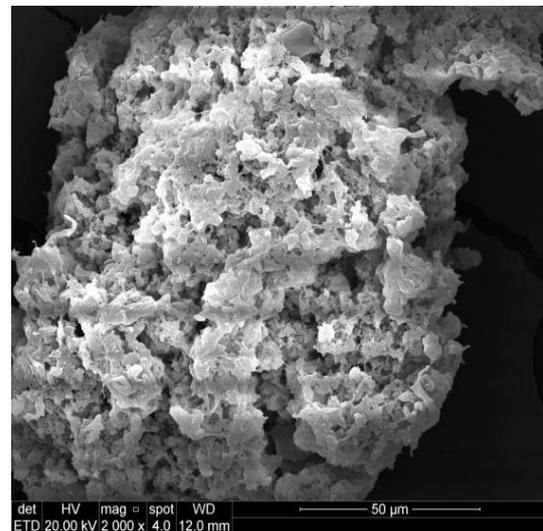
anteriores do nosso grupo. Isto ocorreu quando o catalisador foi suportado nas nanopartículas de grafite.¹⁶ Por outro lado, quando o catalisador metalocênico foi suportado em uma matriz de NPAs ligada covalentemente à sílica (Seção 6.1), essa replicação da morfologia não foi observada, embora as propriedades da matriz tenham sido mantidas. Nesta parte, a polimerização *in situ* foi testada sem o suporte do catalisador na nanopartícula e podemos observar nas imagens de MEV, que os nanocompósitos não possuem uma morfologia definida.



(a)



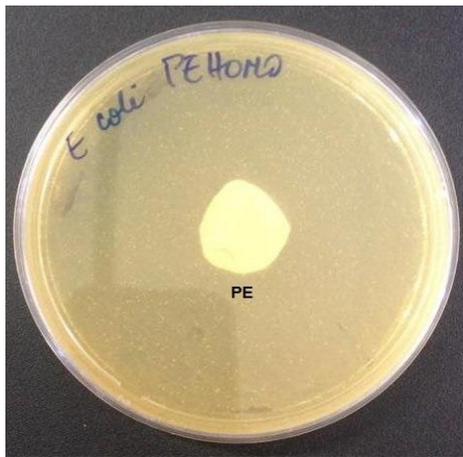
(b)



(c)

Figura 27. Imagens de MEV do polietileno (sem carga) e dos nanocompósitos. (a) PE, (b) PESiAgE 75 APTES R1 and (c) PESiAgE 75 APTES R2.

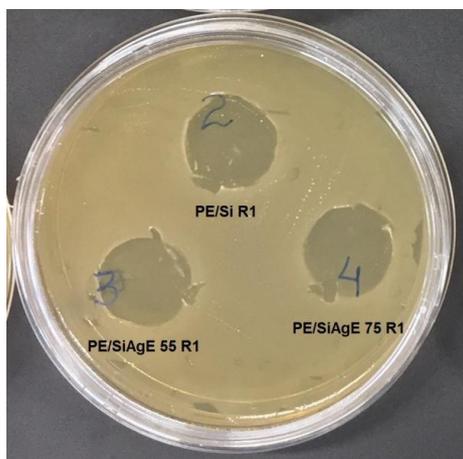
A ação antibacteriana de todos os nanocompósitos PESiAgE foi testada contra duas bactérias, *S. aureus* e *E. coli* usando o método de difusão em disco. Também nesse teste foram incluídas as amostras que possuem a carga somente de sílica (sem NPAGs) e o polietileno puro (PE). A Figura 28 mostra imagens do teste de difusão em disco usando *E. coli* para o polietileno puro e alguns nanocompósitos. Os mesmos resultados foram obtidos usando *S. aureus*, porém, optou-se por não ser mostrado. Na Figura 28 (a) e (b) as imagens são relativas à mesma amostra e a mesma placa de *petri*, no entanto na (a) contem o filme do polietileno puro e a (b) é a imagem depois que o filme é retirado. Para as outras imagens (c), (d) e (e) são mostrados os discos após a retirada dos filmes.



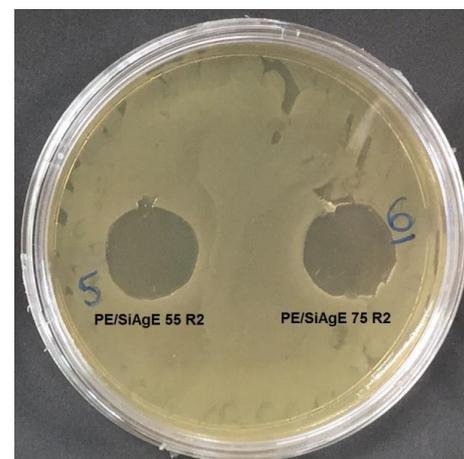
(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 28. Teste antibacteriano de difusão em disco para o polietileno puro e os nanocompósitos PESiAgE utilizando *E. coli*. (a) Com o filme de PE (b) após retirar o filme do PE. (c) após retirar os filmes: 2 = PESi R1, 3 = PE/SiAgE 55 R1 4 = PESiAgE 75 R1. (d) após retirar os filmes: 5 = PESiAgE 55 R2, 6 = PESiAgE 75 R2. (e) após retirar os filmes: 10 = PESi APTES R3, 11 = PESiAgE 55 APTES R3 e 12 = PESiAgE 75 APTES R3.

Comparando a Figura 28 (a) e (b) é possível observar que após 24 horas de contato do filme com a cultura de células houve proliferação sob o filme do polietileno (PE). No entanto, quando o teste foi realizado com os filmes de nanocompósitos, não houve proliferação da bactéria (Figura 28 c, d, e).

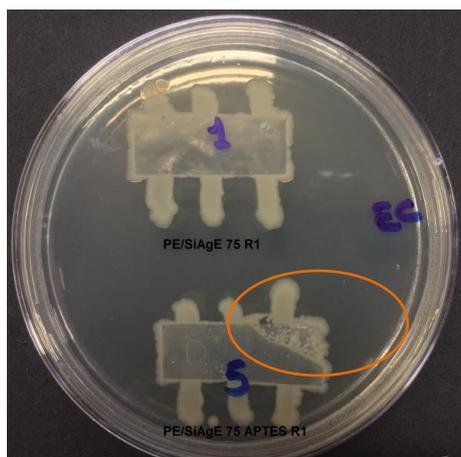
Outro fato que pode ser observado é a ausência de halo de inibição ao redor dos filmes e, portanto, a zona inibitória é restrita ao diâmetro do filme. Isto indica que não houve lixiviação do SiAgE da matriz polimérica. Isso também foi observado na primeira parte deste trabalho (seção 6.1.3), onde NPAGs ligadas covalentemente à sílica foram usadas como carga na polimerização de etileno. No presente estudo, poderia-se esperar alguma lixiviação, uma vez que as NPAGs são encapsuladas e não se ligam covalentemente à sílica, de modo que as nanopartículas poderiam ter alguma mobilidade. Devido ao fato de não ter halo de inibição ao redor dos filmes, o teste de difusão em disco é apenas qualitativo, dando uma resposta positiva ou negativa à proliferação das bactérias em contato com os filmes.

Um resultado inesperado e inconclusivo comparado com a primeira parte deste trabalho foi a inibição do crescimento das bactérias para os nanocompósitos que tem como carga somente sílica (sem a adição das NPAGs) (Fig. 26c e e, amostras PESi R1 e PESi APTES R3, respectivamente). Uma possível explicação seria a modificação da hidrofobicidade dos filmes, prejudicando o contato das bactérias com os mesmos. Para investigar este fato, foi feito o teste de molhabilidade através da determinação do ângulo de contato da água (WCA).

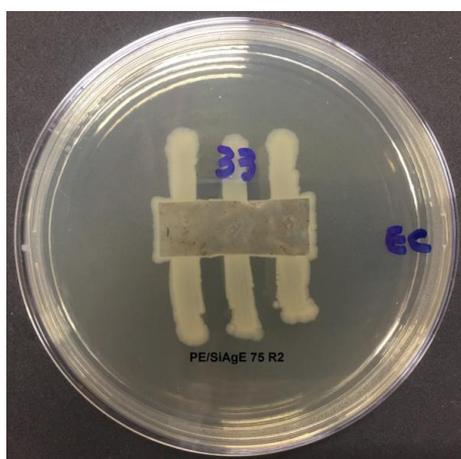
Neste teste de WCA, não foram observadas diferenças significativas nos ângulos de contato, especialmente entre polietileno puro ($WCA = 94,7 \pm 2,7^\circ$) e PESi ($WCA = 93,6 \pm 3,2$ e $96,4 \pm 1,4$), como pode observado na Tabela 15. Como a resposta para a dúvida não foi respondida com o teste de WCA, foi decidido realizar um segundo teste antibacteriano com uma maior concentração de bactérias. O método escolhido foi o *Parallel Streak*- AATCC 147. Os resultados deste método são mostrados na Figura 29.

Tabela 15. Resultados para o teste de ângulo de contato para os nanocompósitos e o polietileno puro.

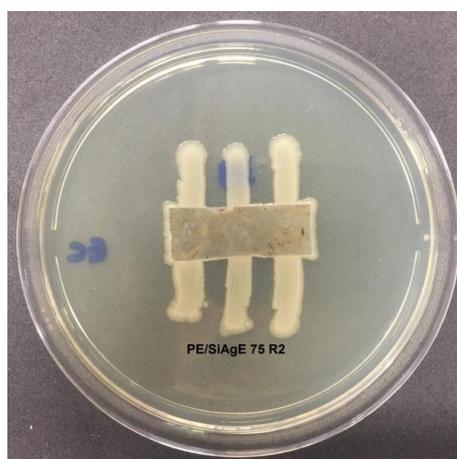
Amostras	WCA (°)
PE	94,7±2,7
PESi R2	93,6±3,2
PESi APTES R2	96,4±1,4
PESiAgE 75 R2	101,6±1,9
PESiAgE 75 APTES R2	103,2±0,9



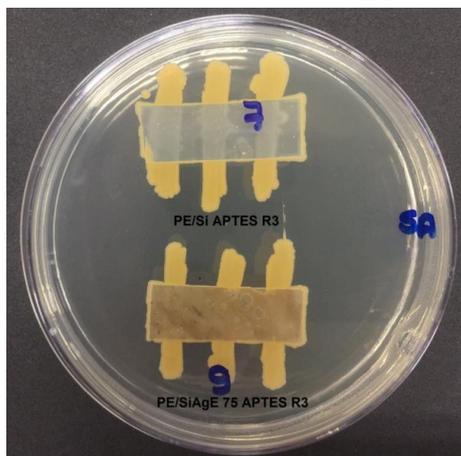
(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 29. Atividade antibacteriana dos nanocompósitos PESiAgE pelo método *Parallel Streak* - AATCC 147. *(a) PESiAgE 75 R1 e PESiAgE 75 APTES R1 imagem feita por baixo da placa de Petri utilizando *E. coli*; **(b) PESiAgE 75 R2 imagem por baixo (c) imagem por cima da placa de Petri usando *E. coli*; *(d) PESi APTES R3 e PESiAgE 75 APTES R3 imagem por baixo; (e) imagem por cima da placa de Petri usando *S. aureus*.

Duas amostras contendo NPAGs, com ou sem APTES (PESiAgE 75 R1 e PESiAgE 75 APTES R1) são exibidas na Figura 30 (a). Pode-se observar a ausência de crescimento bacteriano na área onde o filme foi colocado. Também em destaque na Figura 30 (a) aonde aparece um círculo laranja, foi feito um teste com filme dobrado. Esta dobra foi realizada para verificar se havia lixiviação das NPAGs, mas, como pode ser observado não houve, assim conclui-se que a ação antibacteriana está apenas sob o filme. Quando a amostra PESiAg 75 R2 foi testada, não houve proliferação de bactérias sob o filme, apenas em torno dele (Figura 30 (b) e (c)), mostrando assim ação antibacteriana de contato.

Finalmente, uma amostra contendo apenas carga de sílica (PESi APTES R3) e a outra contendo as NPAGs (PESiAgE 75 APTES R3) foram testadas. A proliferação de bactérias ocorreu em contato com o filme PESi APTES R3, indicando a ausência de propriedades antibacterianas (Figura 30 (d), (e)). Quando se usou o teste de difusão em disco com uma concentração de bactérias de 1×10^7 UFC. mL⁻¹ os nanocompósitos sem a adição das NPAGs inibiram o crescimento das bactérias em contato com o filme, deixando esta parte de resultados inconclusivo. Já quando utilizou-se o teste de *Parallel Streak* - AATCC 147, com uma concentração de 5×10^8 UFC. mL⁻¹ os filmes de nanocompósitos sem a adição de NPAGs não mostraram ação antibacteriana. Pode-se apontar que a diferença de concentração das bactérias nos diferentes testes difere nos resultados para os filmes sem a adição de NPAGs.

Para todas as amostras contendo NPAGs, houve ação antibacteriana em contato com os filmes, ou seja, não proliferaram as bactérias. Outro fato que pode ser notado é que as bactérias contornaram todo o Agar ao redor dos filmes, isto acontece porque a concentração de inoculação é bem alta e elas crescem em uma velocidade exponencial uma sobre as outras, aumentando o espaço necessário.

Neste último teste também não foi observada a presença de halo, o que confirma a inibição do crescimento bacteriano por contato em nanocompósitos contendo SiAgE, para bactérias gram positivas e gram negativas.

6 CONCLUSÃO

Nanopartículas de prata ligadas covalentemente em sílica coloidal (SiAg) foram estudadas determinando as suas concentrações de prata, morfologia e tamanho. As análises de ICP OES, SAXS, BET, entre outras, que foram feitas para determinar a concentração de Ag, mostraram diferenças entre as rotas ácida e básica para obtenção das partículas SiAg. A rota ácida produziu nanopartículas com uma forma ramificada, uma maior concentração de prata e maior tamanho de partícula. Também houve diferença na atividade antibacteriana entre os dois tipos de nanopartículas, sendo as obtidas pela rota básica mais eficientes contra *Escherichia coli* no método usando placas com poços. Como a rota básica possui menor tamanho das partículas é provável que elas penetrem mais facilmente nas membranas bacterianas do que as maiores.

Os nanocompósitos PESiAg foram obtidos com sucesso através de polimerização do etileno por meio de um catalisador metalocênico suportado e não suportado. O processo de suporte mostrou que uma pequena fração do catalisador conseguiu se ligar, porém os valores dos rendimentos das polimerizações foram altos. Houve diferença na morfologia dos nanocompósitos obtidos pelos dois métodos de polimerização, mas não houve diferenças significativas nas propriedades térmicas. Dois tipos de testes antibacterianos foram realizados utilizando *S aureus* (Gram positiva), *Salmonella spp* (Gram negativa) e *E. coli* (Gram negativ). Os filmes obtidos a partir da polimerização suportada e não suportada não apresentaram diferenças significativas entre eles. Todos os nanocompósitos PESiAg apresentaram propriedades antibacterianas de contato.

No teste de difusão em disco não houve a proliferação de bactérias abaixo dos filmes. O teste de solução usando placas apresentou maior inibição do crescimento bacteriano na presença de nanocompósitos feitos com as SiAg obtidos com a rota ácida. Elas possuem maior quantidade de Ag e maiores áreas superficiais em relação àquelas obtidas com a rota básica. Os resultados das atividades antibacterianas das SiAg foram diferentes quando usadas em separado e quando adicionadas na matriz polimérica.

Na segunda parte do trabalho, nanopartículas de prata encapsuladas por sílica utilizando o método sol-gel foram sintetizadas e caracterizadas. Três diferentes reagentes foram utilizados para reduzir a prata do nitrato de prata. Os reagentes foram ácido cítrico (R1), glicose (R2) e glicerol (R3). As NPAgs foram encapsuladas diretamente e também estabilizadas com APTES. As NPAgs estabilizados com APTES apresentaram tamanhos na

faixa de 7-30 nm, sendo o Ag APTES R2 o maior. Os valores obtidos para a área superficial da sílica aumentaram com a adição de NPAGs e os maiores valores de área superficial foram encontrados para a nanopartícula SiAgE 75 APTES R2. As propriedades antibacterianas foram analisadas e todos os SiAgE apresentaram inibição do crescimento de bactérias através da formação de halos. A carga que obteve o maior valor de halo foi a que apresentou maior área superficial: SiAgE 75 APTES R2 com halo de inibição de 25 mm para *Staphylococcus aureus*.

A polimerização *in situ* de etileno com catalisador de metalocênico obteve bons rendimentos de nanocompósitos. Para todas as polimerizações, as atividades catalíticas foram altas, variando de 1188 a 1749. A quantidade de prata nos nanocompósitos variou de 0,012 a 0,022% em peso. Todos esses nanocompósitos obtiveram morfologia amorfa, como o polímero puro. As propriedades térmicas e a cristalinidade dos nanocompósitos não se alteraram significativamente em comparação com o polímero puro.

As propriedades antibacterianas foram testadas por dois métodos. Para ambos os testes, confirmou-se a ação antibacteriana de contato dos nanocompósitos, com interrupção na proliferação das bactérias. No teste dois, também foi possível identificar a diferença entre os nanocompósitos que possuem nanopartículas de prata encapsuladas em sílica e os nanocompósitos que só tinham sílica.

Comparando os dois tipos de cargas testadas neste trabalho (SiAg e SiAgE), temos semelhanças e diferenças. A SiAg apresenta ligações com prata em sua superfície, o que é interessante quando se deseja usar diretamente esta nanopartícula. Um ponto negativo é a baixa concentração de prata, pois, depende das ligações entre a sílica e os grupos funcionais de seu estabilizante. Já para as SiAgE a prata está em toda a matriz e a sua concentração é facilmente ajustada, pois, varia conforme a adição do AgNO₃. Com esta facilidade, é possível afirmar que esta carga é preferível para nanocompósitos poliméricos com ação antibacteriana. Um ponto negativo dessa carga é que as NPAGs podem ficar dentro da matriz da sílica e a lixiviação delas ou o contato com a água para liberação de íons Ag⁺ pode ser prejudicado. Isto acontece, pois, seus poros são nanométricos. Assim, a escolha de uma ou de outra dependerá da função que ela será submetida.

Todos os nanocompósitos PESiAg e PESiAgE mostraram que esses materiais têm potencial para serem utilizados em diferentes aplicações, especialmente na indústria de embalagens, para proteger os alimentos da proliferação bacteriana, materiais da área de medicina como cânulas e cateteres, e também como instrumentos estéreis de diversas áreas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Fim, F. D. C.; Guterres, J. M.; Basso, N. R. S.; Galland, G. B. Polyethylene/Graphite Nanocomposites Obtained by in Situ Polymerization. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2010**, *48* (3), 692–698.
- (2) Milani, M. A.; Quijada, R.; Basso, N. R. S.; Graebin, A. P.; Galland, G. B. Influence of the Graphite Type on the Synthesis of Polypropylene/Graphene Nanocomposites.(Report). *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2012**, *50* (17).
- (3) Fim, F. D. C.; Basso, N. R. S.; Graebin, A. P.; Azambuja, D. S.; Galland, G. B. Thermal, Electrical, and Mechanical Properties of Polyethylene–graphene Nanocomposites Obtained by in Situ Polymerization. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *128* (5), 2630–2637.
- (4) Burgos-Mármol, J. J.; Patti, A. Unveiling the Impact of Nanoparticle Size Dispersity on the Behavior of Polymer Nanocomposites. *Polymer (Guildf)*. **2017**, *113*, 92–104.
- (5) Ningaraju, S.; Hegde, V. N.; Prakash, A. P. G.; Ravikumar, H. B. Free Volume Dependence on Electrical Properties of Poly (Styrene Co-Acrylonitrile)/Nickel Oxide Polymer Nanocomposites. *Chem. Phys. Lett.* **2018**, *698*, 24–35.
- (6) Phan, D. C.; Goodwin, D. G.; Frank, B. P.; Bouwer, E. J.; Fairbrother, D. H. Biodegradability of Carbon Nanotube/Polymer Nanocomposites under Aerobic Mixed Culture Conditions. *Sci. Total Environ.* **2018**, *639*, 804–814.
- (7) Porter, R. S.; Kanamoto, T.; Zachariades, A. E. Property Opportunities with Polyolefins: A Review. Preparations and Applications of High Stiffness and Strength by Uniaxial Draw. *Polymer (Guildf)*. **1994**, *35* (23), 4979–4984.
- (8) Dallas, P.; Sharma, V. K.; Zboril, R. Silver Polymeric Nanocomposites as Advanced Antimicrobial Agents: Classification, Synthetic Paths, Applications, and Perspectives. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011**, *166* (1), 119–135.
- (9) Cao, H.; Liu, X. Silver Nanoparticles-Modified Films versus Biomedical Device-Associated Infections. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology* **2010**, *2* (6), 670–684.
- (10) Zapata, P. A.; Tamayo, L.; Páez, M.; Cerda, E.; Azócar, I.; Rabagliati, F. M. Nanocomposites Based on Polyethylene and Nanosilver Particles Produced by Metalloenic “ in Situ” Polymerization: Synthesis, Characterization, and Antimicrobial

- Behavior. *Eur. Polym. J.* **2011**, *47* (8), 1541–1549.
- (11) Chiericatti, C.; Basílico, J. C.; Basílico, M. L. Z.; Zamaro, J. M. Antifungal Activity of Silver Ions Exchanged in Mordenite. *Microporous Mesoporous Mater.* **2014**, *188*, 118–125.
 - (12) Yang, J.; Han, C.; Duan, J.; Xu, F.; Sun, R. In Situ Grafting Silica Nanoparticles Reinforced Nanocomposite Hydrogels. *Nanoscale* **2013**, *5* (22), 10858–10863.
 - (13) Liong, M.; France, B.; Bradley, K. A.; Zink, J. I. Antimicrobial Activity of Silver Nanocrystals Encapsulated in Mesoporous Silica Nanoparticles. *Adv. Mater.* **2009**, *21* (17), 1684–1689.
 - (14) Guo, L.; Yuan, W.; Lu, Z.; Li, C. M. Polymer/Nanosilver Composite Coatings for Antibacterial Applications. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, 439.
 - (15) Hu, Z. Polyethylene/Graphite Oxide Nanocomposites Obtained by in Situ Polymerization Using Modified Graphite Oxide-Supported Metallocene Catalysts. *J. Polym. Res.* **2013**, *20* (1), 1–9.
 - (16) Pavoski, G.; Maraschin, T.; Milani, M. A.; Azambuja, D. S.; Quijada, R.; Moura, C. S.; de Sousa Basso, N.; Galland, G. B. Polyethylene/Reduced Graphite Oxide Nanocomposites with Improved Morphology and Conductivity. *Polymer (Guildf)*. **2015**, *81* (C), 79–86.
 - (17) Marsh, K.; Bugusu, B. Food Packaging—Roles, Materials, and Environmental Issues. *Journal of Food Science*. Malden, USA 2007, pp R39–R55.
 - (18) Maitz, M. F. Applications of Synthetic Polymers in Clinical Medicine. *Biosurface and Biotribology* **2015**, *1* (3), 161–176.
 - (19) Alexandre, M.; Beyer, G.; Henrist, C.; Cloots, R.; Rulmont, A.; Jérôme, R.; Dubois, P. Preparation and Properties of Layered Silicate Nanocomposites Based on Ethylene Vinyl Acetate Copolymers. *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22* (8), 643–646.
 - (20) Alexandre, M.; Dubois, P.; Sun, T.; Garces, J. M.; Jérôme, R. Polyethylene-Layered Silicate Nanocomposites Prepared by the Polymerization-Filling Technique: Synthesis and Mechanical Properties. *Polymer (Guildf)*. **2002**, *43* (8), 2123–2132.
 - (21) Silveira, F.; Alves, M. D. C. M.; Stedile, F. C.; Pergher, S. B.; Rigacci, A.; Santos, J. H. Z. Dos. Effect of the Silica Texture on the Structure of Supported Metallocene Catalysts. *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2009**, *298* (1), 40–50.
 - (22) Severn, J.; Chadwick, J.; Duchateau, R.; Friederichs, N. "Bound but Not Gagged " -

- Immobilizing Single-Site Alpha-Olefin Polymerization Catalysts. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (11), 4073–4147.
- (23) Hammawa, H.; Wanke, S. E. Influence of Support Friability and Concentration of α -Olefins on Gas-Phase Ethylene Polymerization over Polymer-Supported Metallocene/Methylaluminoxane Catalysts. *Journal of Applied Polymer Science*. 2007, pp 514–527.
- (24) Mckittrick, M.; Jones, C. W. Modulating the Reactivity of an Organometallic Catalyst via Immobilization on a Spatially Patterned Silica Surface. *Chem. Mater.* **2005**, *17* (19), 4758–4761.
- (25) Galland, G. B.; Seferin, M.; Guimarães, R.; Rohrmann, J. A.; Stedile, F. C.; Dos Santos, J. H. Z. Evaluation of Silica-Supported Zirconocenes in Ethylene/1-Hexene Copolymerization. *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2002**, *189* (2), 233–240.
- (26) Kaminsky, W. Metallocene Based Polyolefin Nanocomposites. *Materials (Basel)*. **2014**, *7* (3), 1995–2013.
- (27) Oldenburg, S. J. Silver Nanoparticles: Properties and Applications <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/materials-science/nanomaterials/silver-nanoparticles.html>. Acessado em 12/02/19.
- (28) Sondi, I.; Goia, D. V.; Matijević, E. Preparation of Highly Concentrated Stable Dispersions of Uniform Silver Nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *260* (1), 75–81.
- (29) dell’Erba, I.; Mansilla, A.; Hoppe, C.; Williams, R. Synthesis and Characterization of an Antibacterial Powder Based on the Covalent Bonding of Aminosilane-Stabilized Silver Nanoparticles to a Colloidal Silica. *J. Mater. Sci.* **2016**, *51* (8), 3817–3823.
- (30) Filippo, E.; Manno, D.; Buccolieri, A.; Serra, A. Green Synthesis of Sucralose-Capped Silver Nanoparticles for Fast Colorimetric Triethylamine Detection. *Sensors Actuators B. Chem.* **2013**, *178*, 1–9.
- (31) Jiang, X. C.; Chen, C. Y.; Chen, W. M.; Yu, A. B. Role of Citric Acid in the Formation of Silver Nanoplates through a Synergistic Reduction Approach. *Langmuir* **2010**, *26* (6), 4400.
- (32) Agnihotri, S.; Mukherji, S.; Mukherji, S. Size-Controlled Silver Nanoparticles Synthesized over the Range 5100 Nm Using the Same Protocol and Their Antibacterial Efficacy. *RSC Adv.* **2013**, *4* (8), 3974–3983.

- (33) Sondi, I.; Salopek-Sondi, B. Silver Nanoparticles as Antimicrobial Agent: A Case Study on E. Coli as a Model for Gram-Negative Bacteria. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *275* (1), 177–182.
- (34) Li, W.-R.; Xie, X.-B.; Shi, Q.-S.; Zeng, H.-Y.; OU-Yang, Y.-S.; Chen, Y.-B. Antibacterial Activity and Mechanism of Silver Nanoparticles on Escherichia Coli. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *85* (4), 1115–1122.
- (35) Lok, C.-N.; Ho, C.-M.; Chen, R.; He, Q.-Y.; Yu, W.-Y.; Sun, H.; Tam, P. K.-H.; Chiu, J.-F.; Che, C.-M. Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. *J. Proteome Res.* **2006**, *5* (4), 916.
- (36) Cho, K.-H.; Park, J.-E.; Osaka, T.; Park, S.-G. The Study of Antimicrobial Activity and Preservative Effects of Nanosilver Ingredient. *Electrochim. Acta* **2005**, *51* (5), 956–960.
- (37) Zhang, S.; Tang, Y.; Vlahovic, B. A Review on Preparation and Applications of Silver-Containing Nanofibers. *Nanoscale Research Letters*. Springer Science & Business Media: Heidelberg 2016, pp 1–8.
- (38) Zhao, G.; Stevens, S. Multiple Parameters for the Comprehensive Evaluation of the Susceptibility of Escherichia Coli to the Silver Ion. *Biometals* **1998**, *11* (1), 27–32.
- (39) Franke, S.; Grass, G.; Nies, D. The Product of the YbdE Gene of the Escherichia Coli Chromosome Is Involved in Detoxification of Silver Ions. *Microbiology-Sgm* **2001**, *147*, 965–972.
- (40) Kim, J. S.; Kuk, E.; Yu, K. N.; Kim, J.-H.; Park, S. J.; Lee, H. J.; Kim, S. H.; Park, Y. K.; Park, Y. H.; Hwang, C.-Y.; et al. Corrigendum to Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles [Nanomed Nanotechnol Biol Med. 2007. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **2014**, *10* (5), e1119.
- (41) Palza, H. Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16* (1), 2099–2116.
- (42) Rai, M.; Yadav, A.; Gade, A. Silver Nanoparticles as a New Generation of Antimicrobials. *Biotechnol. Adv.* **2009**, *27* (1), 76–83.
- (43) Chaudhry, Q.; Castle, L. Food Applications of Nanotechnologies: An Overview of Opportunities and Challenges for Developing Countries. *Trends Food Sci. Technol.* **2011**, *22* (11), 595–603.
- (44) Tiede, K.; Boxall, A. B. A.; Tear, S. P.; Lewis, J.; David, H.; Hassellöv, M. Detection

- and Characterization of Engineered Nanoparticles in Food and the Environment. *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* **2008**, 25 (7), 795–821.
- (45) Peijnenburg, W. J. G. M.; Herberts, C. A.; Hagens, W. I.; Oomen, A. G.; Heugens, E. H. W.; Roszek, B.; Bisschops, J.; Gosens, I.; Van De Meent, D.; Dekkers, S.; et al. Nano-Silver – a Review of Available Data and Knowledge Gaps in Human and Environmental Risk Assessment. *Nanotoxicology* **2009**, 3 (2), 109–138.
- (46) Sonavane, G.; Tomoda, K.; Makino, K. Biodistribution of Colloidal Gold Nanoparticles after Intravenous Administration: Effect of Particle Size. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2008**, 66 (2), 274–280.
- (47) Conner, S. D.; Schmid, S. L. Regulated Portals of Entry into the Cell. *Nature* **2003**, 422 (6927), 37.
- (48) Tang, J.; Xiong, L.; Wang, S.; Wang, J.; Liu, L.; Li, J.; Yuan, F.; Xi, T. *Distribution, Translocation and Accumulation of Silver Nanoparticles in Rats*; 2009; Vol. 9.
- (49) Barbasz, A.; Oćwieja, M.; Walas, S. Toxicological Effects of Three Types of Silver Nanoparticles and Their Salt Precursors Acting on Human U-937 and HL-60 Cells. *Toxicol. Mech. Methods* **2017**, 27 (1), 58–71.
- (50) Valos Fnez, A.; Isabel Haza, A.; Mateo, D.; Morales, P. In Vitro Evaluation of Silver Nanoparticles on Human Tumoral and Normal Cells. *Toxicol. Mech. Methods*, 2013, Vol.23(3), p.153-160 **2013**, 23 (3), 153–160.
- (51) Villanueva, M. P.; Cabedo, L.; Lagarón, J. M.; Giménez, E. Comparative Study of Nanocomposites of Polyolefin Compatibilizers Containing Kaolinite and Montmorillonite Organoclays. *J. Appl. Polym. Sci.* **2010**, 115 (3), 1325–1335.
- (52) Coutinho, F. M. B.; Mello, I. L.; Santa Maria, L. C. de. Polietileno: principais tipos, propriedades e aplicações. *Polímeros Ciência e Tecnol.* **2003**, 13 (1), 1–13.
- (53) Wang, Q.; Zhou, Z.; Song, L.; Xu, H.; Wang, L. Nanoscopic Confinement Effects on Ethylene Polymerization by Intercalated Silicate with Metallocene Catalyst. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2004**, 42 (1), 38–43.
- (54) Potts, J. R.; Dreyer, D. R.; Bielawski, C. W.; Ruoff, R. S. Graphene-Based Polymer Nanocomposites. *Polymer (Guildf).* **2011**, 52 (1), 5–25.
- (55) Sengupta, R.; Bhattacharya, M.; Bandyopadhyay, S.; Bhowmick, A. K. A Review on the Mechanical and Electrical Properties of Graphite and Modified Graphite

- Reinforced Polymer Composites. *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36* (5), 638–670.
- (56) Kuilla, T.; Bhadra, S.; Yao, D.; Kim, N. H.; Bose, S.; Lee, J. H. Recent Advances in Graphene Based Polymer Composites. *Prog. Polym. Sci.* **2010**, *35* (11), 1350–1375.
- (57) Verdejo, R.; Bernal, M.; Romasanta, L.; Lopez-Manchado, M. Graphene Filled Polymer Nanocomposites. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21* (10), 3301–3310.
- (58) Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M. Polymeric Materials with Antimicrobial Activity. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37* (2), 281–339.
- (59) Poulouse, E. Silver Nanoparticles: Mechanism of Antimicrobial Action, Synthesis, Medical Applications, and Toxicity Effects. *Int. Nano Lett.* **2012**, *2* (1), 1–10.
- (60) Ruparelia, J. P.; Chatterjee, A. K.; Duttagupta, S. P.; Mukherji, S. Strain Specificity in Antimicrobial Activity of Silver and Copper Nanoparticles. *Acta Biomater.* **2008**, *4* (3), 707–716.
- (61) Palza, H.; Gutiérrez, S.; Delgado, K.; Salazar, O.; Fuenzalida, V.; Avila, J. I.; Figueroa, G.; Quijada, R. Toward Tailor-Made Biocide Materials Based on Poly(Propylene)/Copper Nanoparticles. *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31* (6), 563–567.
- (62) Delgado, K.; Quijada, R.; Palma, R.; Palza, H. Polypropylene with Embedded Copper Metal or Copper Oxide Nanoparticles as a Novel Plastic Antimicrobial Agent.(Report). *Lett. Appl. Microbiol.* **2011**, *53* (1), 50.
- (63) Cioffi, N.; Torsi, L.; Ditaranto, N.; Tantillo, G.; Ghibelli, L.; Sabbatini, L.; Blevè-Zacheo, T.; D'Alessio, M.; Zambonin, P. G.; Traversa, E. Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties. *Chem. Mater.* **2005**, *17* (21), 5255–5262.
- (64) Ton-That, T.; Jungnickel, B. Water Diffusion into Transcrystalline Layers on Polypropylene. *J. Appl. Polym. Sci.* **1999**, *74* (13), 3275–3285.
- (65) Damm, C.; Münstedt, H.; Rösch, A. The Antimicrobial Efficacy of Polyamide 6/Silver-Nano- and Microcomposites. *Mater. Chem. Phys.* **2008**, *108* (1), 61–66.
- (66) Rong, M. Z.; Zhang, M. Q.; Pan, S. L.; Friedrich, K. Interfacial Effects in Polypropylene-Silica Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*. 2004, pp 1771–1781.
- (67) Moncada, E.; Quijada, R.; Retuert, J. Nanoparticles Prepared by the Solgel Method and Their Use in the Formation of Nanocomposites with Polypropylene. *Nanotechnology*

- 2007, 18 (33), 335606.
- (68) Hsu, S.-H.; Tseng, H.-J.; Lin, Y.-C. The Biocompatibility and Antibacterial Properties of Waterborne Polyurethane-Silver Nanocomposites. *Biomaterials* **2010**, 31 (26), 6796–6808.
- (69) Ilić, V.; Šaponjić, Z.; Vodnik, V.; Molina, R.; Dimitrijević, S.; Jovančić, P.; Nedeljković, J.; Radetić, M. Antifungal Efficiency of Corona Pretreated Polyester and Polyamide Fabrics Loaded with Ag Nanoparticles. *J. Mater. Sci.* **2009**, 44 (15), 3983–3990.
- (70) Damm, C.; Munstedt, H.; Rosch, A. Long-Term Antimicrobial Polyamide 6/Silver-Nanocomposites. *J. Mater. Sci.* **2007**, 42 (15), 6067–6073.
- (71) Yeo, S. Y.; Jeong, S. H. Preparation and Characterization of Polypropylene/Silver Nanocomposite Fibers. *Polym. Int.* **2003**, 52 (7), 1053–1057.
- (72) Falletta, E.; Bonini, M.; Fratini, E.; Lo Nostro, A.; Pesavento, G.; Becheri, A.; Lo Nostro, P.; Canton, P.; Baglioni, P. Clusters of Poly(Acrylates) and Silver Nanoparticles: Structure and Applications for Antimicrobial Fabrics. *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112 (31), 11758–11766.
- (73) Anh, D. H.; Dumri, K.; Anh, N. T.; Punyodom, W.; Rachtanapun, P. Facile Fabrication of Polyethylene/Silver Nanoparticle Nanocomposites with Silver Nanoparticles Traps and Holds Early Antibacterial Effect. *J. Appl. Polym. Sci.* **2016**, 133 (17), n/a-n/a.
- (74) Sales, J. A. A.; Faria, F. P.; Prado, A. G. S.; Airoidi, C. Attachment of 2-Aminomethylpyridine Molecule onto Grafted Silica Gel Surface and Its Ability in Chelating Cations. *Polyhedron* **2004**, 23 (5), 719–725.
- (75) Quang, D. V.; Sarawade, P. B.; Hilonga, A.; Kim, J.-K.; Chai, Y. G.; Kim, S. H.; Ryu, J.-Y.; Kim, H. T. Preparation of Silver Nanoparticle Containing Silica Micro Beads and Investigation of Their Antibacterial Activity. *Appl. Surf. Sci.* **2011**, 257 (15), 6963–6970.
- (76) Silva, A. L. P.; Sousa, K. S.; Germano, A. F. S.; Oliveira, V. V.; Espínola, J. G. P.; Fonseca, M. G.; Airoidi, C.; Arakaki, T.; Arakaki, L. N. H. A New Organofunctionalized Silica Containing Thioglycolic Acid Incorporated for Divalent Cations Removal—A Thermodynamic Cation/Basic Center Interaction. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2009**, 332 (2), 144–149.
- (77) Wang, X.; Sonström, P.; Arndt, D.; Stöver, J.; Zielasek, V.; Borchert, H.; Thiel, K.; Al-

- Shamery, K.; Bäumer, M. Heterogeneous Catalysis with Supported Platinum Colloids: A Systematic Study of the Interplay between Support and Functional Ligands. *J. Catal.* **2011**, *278* (1), 143–152.
- (78) Chemical Modification of Silica: Applications and Procedures. In *Characterization and Chemical Modification of the Silica Surface*; Vansant, E. F., Van Der Voort, P., Vrancken, K. C. B. T.-S. in S. S. and C., Eds.; Elsevier, 1995; Vol. 93, pp 149–192.
- (79) E. Bergna, H.; O. Roberts, W. *Colloidal Silica: Fundamentals and Applications*; 2005.
- (80) Douthwaite, R. *Ulrich Schubert and Nicola Hüsing. Synthesis of Inorganic Materials. Wiley-VCH, 2004, 2nd Edn, Revised and Updated, 429 Pp; ISBN 978-3-527-31037-1 (Paperback)*; 2007; Vol. 21.
- (81) Brambilla, R. Sílicas Funcionalizadas Com Octadecilsilano Pelos Métodos Sol-Gel e Grafting, UFRGS, 2007.
- (82) Brinker, C.; Scherer, G. *Sol-Gel Science: 1st Edition The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*; Academic Press: San Diego, 1990.
- (83) Sacks, M. .; Sheu, R. S. *Science of Ceramic Chemical Processing*; Wiley: New York, Ed.; 1986.
- (84) Kobayashi, Y.; Katakami, H.; Mine, E.; Nagao, D.; Konno, M.; Liz-Marzán, L. M. Silica Coating of Silver Nanoparticles Using a Modified Stöber Method. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *283* (2), 392–396.
- (85) Plumeré, N.; Ruff, A.; Speiser, B.; Feldmann, V.; Mayer, H. A. Stöber Silica Particles as Basis for Redox Modifications: Particle Shape, Size, Polydispersity, and Porosity. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *368* (1), 208–219.
- (86) Jeon, H.-J.; Yi, S.-C.; Oh, S.-G. Preparation and Antibacterial Effects of Ag–SiO₂ Thin Films by Sol–gel Method. *Biomaterials* **2003**, *24* (27), 4921–4928.
- (87) Suktha, P.; Lekpet, K.; Siwayaprahm, P.; Sawangphruk, M. Enhanced Mechanical Properties and Bactericidal Activity of Polypropylene Nanocomposite with Dual-function Silica–silver Core-shell Nanoparticles. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *128* (6), 4339–4345.
- (88) Egger, S.; Lehmann, R. P.; Height, M. J.; Loessner, M. J.; Schuppler, M. Antimicrobial Properties of a Novel Silver-Silica Nanocomposite Material. *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75* (9), 2973.
- (89) W.L.F.Armarego, D. D. P. *Purification of Laboratory Chemicals. 4th Edition*; 1997.

- (90) Kumar, S.; Gandhi, K. S.; Kumar, R. Modeling of Formation of Gold Nanoparticles by Citrate Method. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2007**, *46* (10), 3128–3136.
- (91) Dos Santos, C.; Vargas, Á.; Fronza, N.; Dos Santos, J. H. Z. Structural, Textural and Morphological Characteristics of Tannins from *Acacia Mearnsii* Encapsulated Using Sol-Gel Methods: Applications as Antimicrobial Agents. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2017**, *151*, 26–33.
- (92) Kline, S. R. Reduction and Analysis of SANS and USANS Data Using IGOR Pro. *J. Appl. Crystallogr.* **2006**, *39* (6), 895–900.
- (93) Jafarzadeh, M.; Rahman, I. A.; Sipaut, C. S. Synthesis of Silica Nanoparticles by Modified Sol–gel Process: The Effect of Mixing Modes of the Reactants and Drying Techniques. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2009**, *50* (3), 328–336.
- (94) Ab Rahman, I.; Padavettan, V. Synthesis of Silica Nanoparticles by Sol-Gel: Size-Dependent Properties, Surface Modification, and Applications in Silica-Polymer Nanocomposites-A Review. *Journal Of Nanomaterials*. 2012, pp 1–15.
- (95) Brunauer, S.; Emmett, P. H.; Teller, E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60* (2), 309–319.
- (96) Barrett, E. P.; Joyner, L. G.; Halenda, P. P. The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73* (1), 373–380.
- (97) Webb, P. A.; Orr, C. *Analytical Methods in Fine Particle Technology*, Micromerit.; Norcross, GA, 1997.
- (98) Minick, J.; Moet, A.; Baer, E. Morphology of HDPE/LDPE Blends with Different Thermal Histories. *Polymer (Guildf)*. **1995**, *36* (10), 1923–1932.
- (99) Sezonov, G.; Joseleau-Petit, D.; Ari, R. Escherichia Coli Physiology in Luria-Bertani Broth. *J. Bacteriol.* **2007**, *189* (23), 8746.
- (100) Kimiran Erdem, A.; Sanli, N. *The Evaluation of Antibacterial Activity of Fabrics Impregnated with Dimethyltetradecyl (3-(Trimethoxysilyl) Propyl) Ammonium Chloride*; 2008; Vol. 67.
- (101) Moreno, Y. P.; Cardoso, M. B.; Moncada, E. A.; dos Santos, J. H. Z. Correlating the Morphological Properties and Structural Organization of Monodisperse Spherical Silica Nanoparticles Grown on a Commercial Silica Surface. *ChemPhysChem* **2015**, *16* (14), 2981–2994.

- (102) Beaucage, G.; Kammler, H. K.; Pratsinis, S. E. Particle Size Distributions from Small-Angle Scattering Using Global Scattering Functions. *Journal of Applied Crystallography*. 2004, pp 523–535.
- (103) Beaucage, G. Small-Angle Scattering from Polymeric Mass Fractals of Arbitrary Mass-Fractal Dimension. *J. Appl. Crystallogr.* **1996**, 29 (2), 134–146.
- (104) Owens, G. J.; Singh, R. K.; Foroutan, F.; Alqaysi, M.; Han, C.-M.; Mahapatra, C.; Kim, H.-W.; Knowles, J. C. Sol–gel Based Materials for Biomedical Applications. *Prog. Mater. Sci.* **2016**, 77 (C), 1–79.
- (105) Lu, F.; Wu, S.; Hung, Y.; Mou, C. Size Effect on Cell Uptake in Well-Suspended, Uniform Mesoporous Silica Nanoparticles. *Small* **2009**, 5 (12), 1408–1413.
- (106) Qiao, Z.; Zhang, L.; Guo, M.; Liu, Y.; Huo, Q. Synthesis of Mesoporous Silica Nanoparticles via Controlled Hydrolysis and Condensation of Silicon Alkoxide. *Chem. Mater.* **2009**, 21 (16), 3823–3829.
- (107) Chiang, Y.; Lian, H.; Leo, S.; Wang, S. G.; Yamauchi, Y.; Wu, K. Controlling Particle Size and Structural Properties of Mesoporous Silica Nanoparticles Using the Taguchi Method. *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115 (27), 13158–13165.
- (108) Hench, L. L.; West, J. K. The Sol-Gel Process. *Chem. Rev.* **1990**, 90 (1), 33–72.
- (109) Bernardes, A. A.; Radtke, C.; Alves, M. do C. M.; Baibich, I. M.; Lucchese, M.; Santos, J. H. Z. Synthesis and Characterization of SiO₂-CrO₃, SiO₂-MoO₃, and SiO₂-WO₃ Mixed Oxides Produced Using the Non-Hydrolytic Sol–Gel Process.(Report). *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2014**, 69 (1), 72.
- (110) Simplício, L. M. T.; Costa, F. G.; Boaventura, J. S.; Sales, E. A.; Brandão, S. T. Study of Some Parameters on the Zirconocene Immobilization over Silica. *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2004**, 216 (1), 45–50.
- (111) Ahmadjo, S.; Arabi, H.; Zohuri, G.; Nejabat, G.; Omidvar, M.; Ahmadi, M.; Mortazavi, M. In Situ Silica Supported Metallocene Catalysts for Ethylene Polymerization. *J. Pet. Sci. Technol.* **2014**, 4 (1), 21–29.
- (112) Zulfiqar, U.; Subhani, T.; Husain, S. W. Synthesis and Characterization of Silica Nanoparticles from Clay. *J. Asian Ceram. Soc.* **2016**, 4 (1), 91–96.
- (113) Lv, Y.; Liu, H.; Wang, Z.; Liu, S.; Hao, L.; Sang, Y.; Liu, D.; Wang, J.; Boughton, R. I. Silver Nanoparticle-Decorated Porous Ceramic Composite for Water Treatment. *J. Memb. Sci.* **2009**, 331 (1), 50–56.

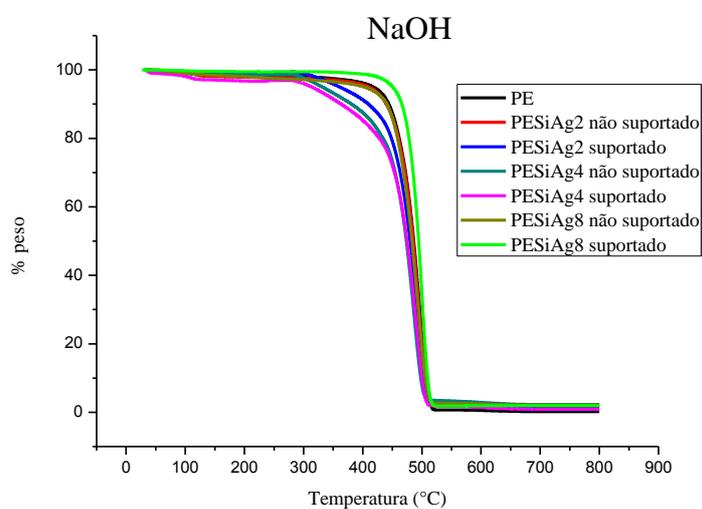
- (114) Handke, M.; Mozgawa, W. Vibrational Spectroscopy of the Amorphous Silicates. *Vib. Spectrosc.* **1993**, *5* (1), 75–84.
- (115) Groen, J. C.; Peffer, L. A. A.; Pérez-Ramírez, J. Pore Size Determination in Modified Micro- and Mesoporous Materials. Pitfalls and Limitations in Gas Adsorption Data Analysis. *Microporous Mesoporous Mater.* **2003**, *60* (1), 1–17.
- (116) Thommes, M.; Kaneko, K.; Neimark, A.; Olivier, J.; Rodriguez-Reinoso, F.; Rouquerol, J.; Sing, K. Physisorption of Gases, with Special Reference to the Evaluation of Surface Area and Pore Size Distribution (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **2015**, *87* (9–10), 1051–1069.
- (117) Lopez-Ruiz, R. *Complexity in Biological and Physical Systems: Bifurcations, Solitons and Fractals*; IntechOpen, 2018.
- (118) Nisar, M.; Thue, P. S.; Heck, C. A.; Salazar Cuaila, J. L.; Geshev, J.; Lima, E. C.; Jacobi, M. M.; Galland, G. B. Synthesis of Polyethylene/Nickel–carbon Stimuli-Responsive Material under Magnetic Field at Room Temperature: Effect of the Filler on the Properties. *Eur. Polym. J.* **2018**, *99*, 378–383.
- (119) Pluta, M.; Alexandre, M.; Blacher, S.; Dubois, P.; Jerome, R. Metallocene-Catalyzed Polymerization of Ethylene in the Presence of Graphite. II. Structure and Electrical Properties of the Composites. *Polymer (Guildf)*. **2001**, *42* (22), 9293–9300.

8 ANEXOS

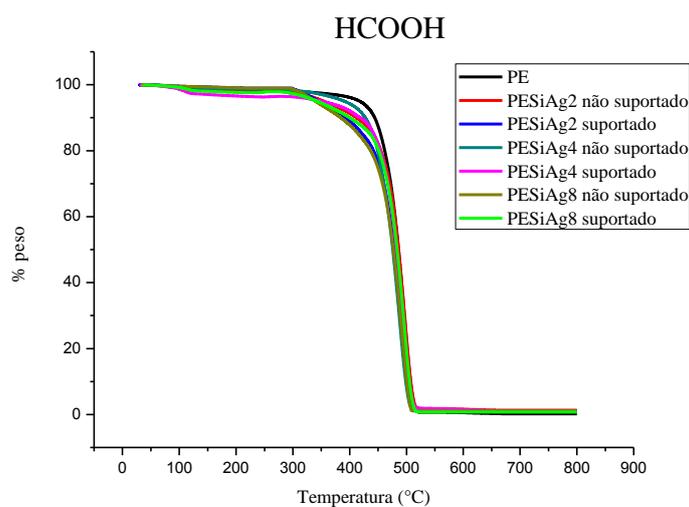
8.1 GRÁFICOS DE TGA E DSC DAS CARGAS DE NPAGs LIGADAS COVALEMMENTE A SÍLICA (SiAg) E NPAGs ENCAPSULADAS POR SÍLICA PELO MÉTODO SOL-GEL

8.1.1 PESiAg

TGA

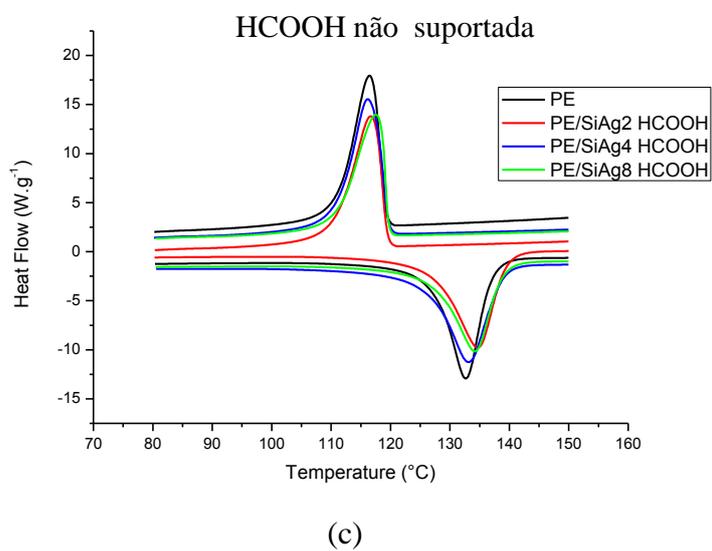
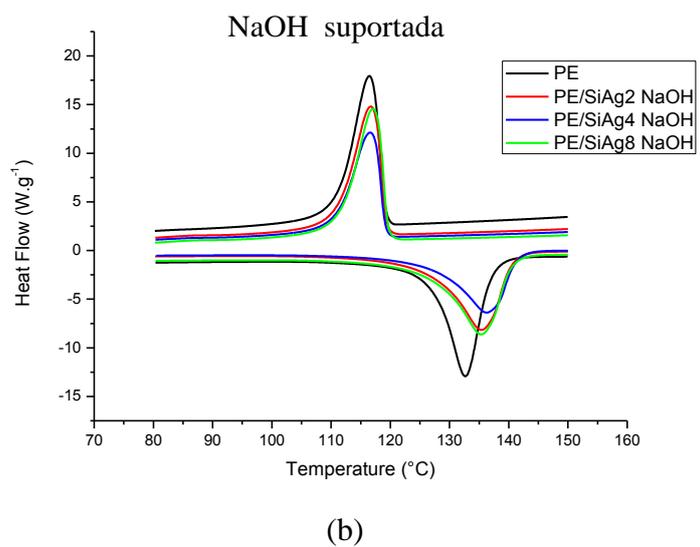
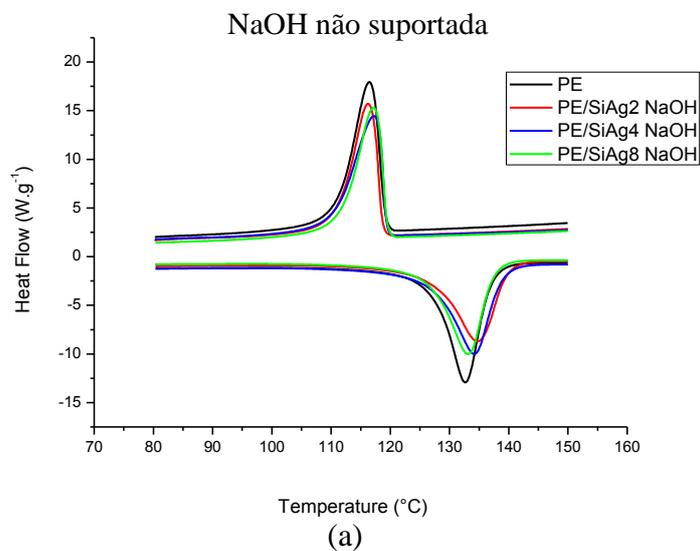


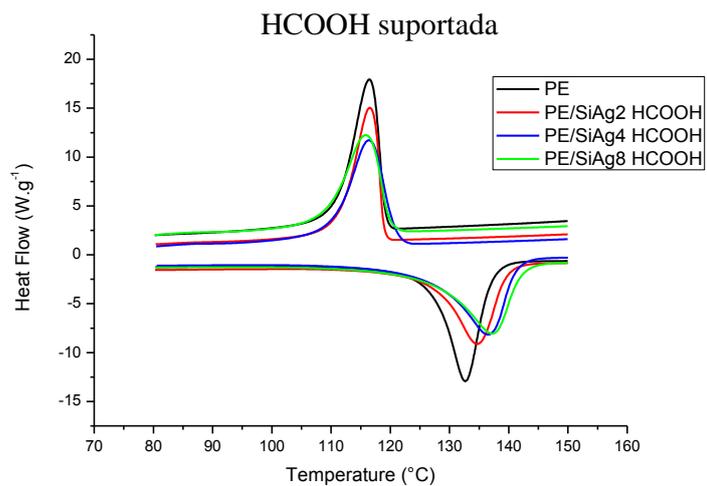
(a)



(b)

Figura A-1. Gráficos de TGA das amostras PE/SiAg.



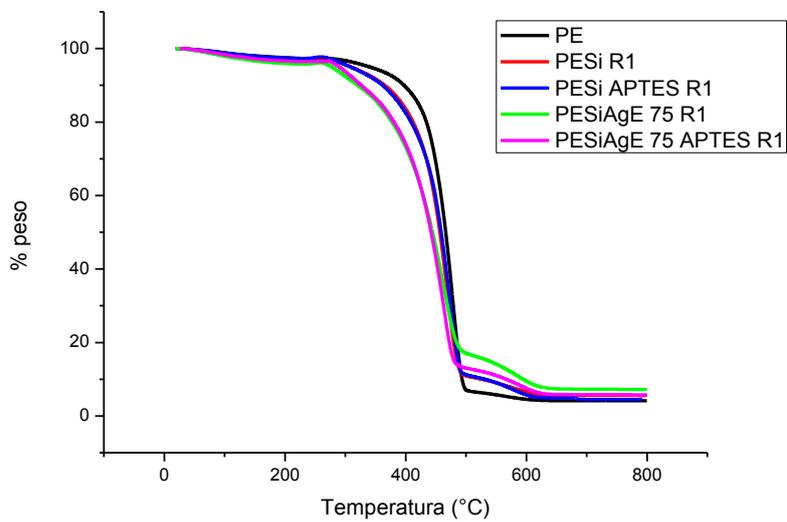


(d)

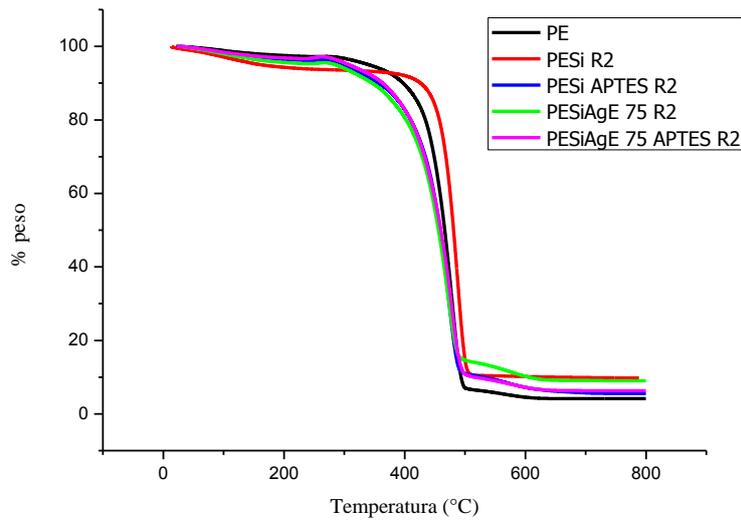
Figura A-2. Gráficos de DSc das amostras PE/SiAg

8.1.2 PESiAgE

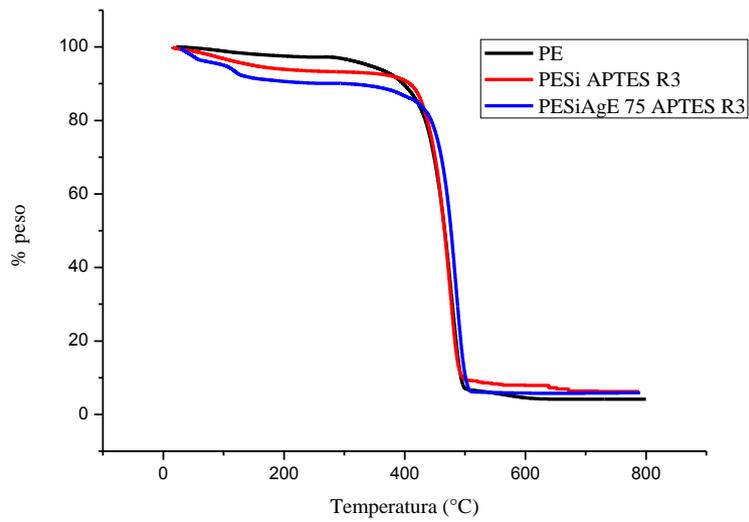
TGA



(a)



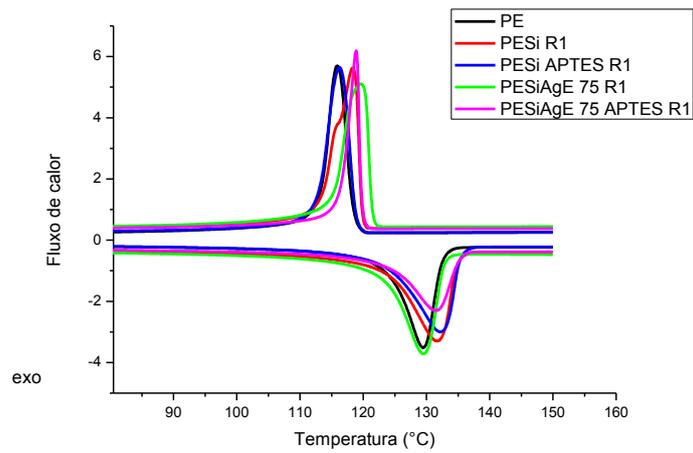
(b)



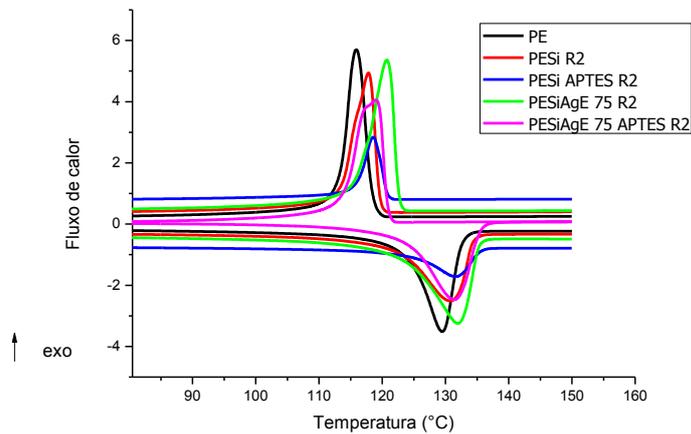
(c)

Figura A-3. Gráficos de TGA dos nanocompósitos PESiAgE

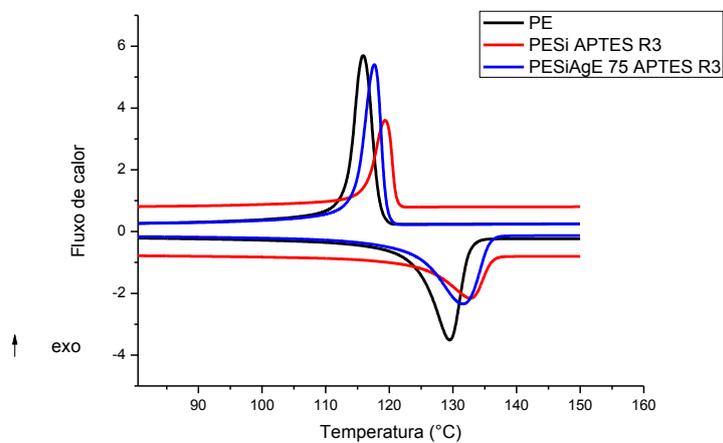
DSC



(a)



(b)



(c)

Figura A-4. Gráficos de DSC dos nanocompósitos PESiAgE.

8.3 EMBALAGENS PARA ALIMENTOS, LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

Com o desenvolvimento da nanotecnologia, os órgãos mundiais que fiscalizam possíveis problemas tem trabalhado bastante para regulamentar todas as novas descobertas. No Brasil desde 1999 tem uma regulamentação regional no Mercosul e fiscalizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) que vai sendo atualizada de tempos em tempos. A história está descrita no trabalho “Legislação de Embalagem para Contato com Alimentos: MERCOSUL e Outros Países Latino-americanos”.

Considerando a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando à proteção da saúde da população a Anvisa estabeleceu a RESOLUÇÃO Nº 17, DE 17 DE MARÇO DE 2008, que dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Lista Positiva de Aditivos para Materiais Plásticos destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos. Nesta resolução está especificado que Fosfato de sódio, hidrogênio, prata (1+) e zircônio (4+) somente para ser usado como antimicrobiano para polímeros em contato com alimentos em níveis que não excedam 2% m.m⁻¹ de polímero e a soma da migração destas substâncias não deve superar a restrição de 0,05 mg de Ag.kg⁻¹.

As regulamentações mais novas publicadas pela Agência Anvisa são a RDC 51 e a RDC 52, de 26 de novembro de 2010. A RDC 51 estabelece critérios para o controle de migrantes, substâncias, em geral, de baixo peso molecular com mobilidade suficiente na estrutura que permite sua extração ou absorção pelo produto. Os novos critérios servem para verificar se substâncias prejudiciais à saúde humana estão migrando em teores acima dos autorizados pela legislação, de embalagens e utensílios plásticos para os alimentos.

Na RDC 52, os corantes passaram por novos processos de análises quanto ao teor da substância nos alimentos. Os critérios incluem limites para migração de substâncias das embalagens para os alimentos, e métodos para determinação desta migração, assim como taxas de pureza e níveis máximos permitidos para o uso de alguns corantes. Também houve uma revisão na análise de migração específica de metais com a inclusão de limites para os elementos prata, boro, flúor e bário e alterações dos limites para os metais cromo, zinco, estanho, cobre, mercúrio, chumbo, antimônio, cádmio e arsênio. Os Limites são mostrados na Tabela A-4.

Tabela A-4. Migração específica de metais para embalagens de alimentos.

RDC 52 – Limites de migração específica de metais (mg.kg^{-1}) para embalagens plásticas coloridas	
Antimônio	0,04
Arsênio	0,01
Bário	1
Boro	0,5
Cádmio	0,005
Chumbo	0,01
Cobre	5
Cromo	0,05
Estanho	1,2
Flúor	0,5
Mercúrio	0,005
Prata	0,05
Zinco	25

9.2.1 Referências

1. Legislação de Embalagem para Contato com Alimentos: MERCOSUL e Outros Países Latinoamericanos. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol 14, nº 1, 2004
2. http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0017_17_03_2008.pdf/5710c792-2d7d-4e74-91c5-b63b86edcdae. Acessado 20/02/2019
3. <https://www.plastico.com.br/embalagens-para-alimentos-legislacao-brasileira-aperta-o-cerco-para-garantir-seguranca>. Acessado 20/02/2019.