

DESENVOLVIMENTO DE NANOCOMPÓSITO DE POLIPROPILENO COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA VISANDO A AÇÃO BIOCIDA

W. L. Oliani^{1*}, D. F. Parra¹, L. F. C. P. de Lima¹, H. G. Riella², S. O. Rogero¹, A. B. Lugão¹

1 – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN-USP - Av. Prof. Lineu Prestes, 2242, 05508-900, Alto de Pinheiros, São Paulo - SP – Brasil washoliani@usp.br

2 - Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Departamento de Engenharia Química, Caixa Postal 476 – Campus Universitário - Florianópolis – SC – Brasil

RESUMO

*Este trabalho apresenta um estudo preliminar a respeito da produção de filmes à base de uma blenda de PP (polipropileno) com PP modificado, com inserção de nanopartículas de prata objetivando-se uma ação bactericida. A blenda de PP e PP modificado sob acetileno com irradiação gama na dose de 12,5 kGy, foi processada em uma extrusora dupla rosca, na proporção de 50/50. A adição de solução de poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) com nanopartículas de prata (NPsAg) foi realizada durante o processamento na extrusora. O material foi caracterizado por: espectroscopia de ultravioleta-visível (UV-vis), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS), microscopia eletrônica de transmissão (MET), teste de citotoxicidade e redução da (%) de unidade formadora de colônias (UFC). Os filmes analisados apresentaram pontos de aglomeração de prata e regiões com distribuição homogênea das partículas. O efeito bactericida com interação entre prata, *E.coli* e *S.aureus* foi constatado.*

Palavras-chave: polipropileno, nanopartículas de prata e polipropileno modificado

INTRODUÇÃO

A linearidade das cadeias do polipropileno isotático (iPP) confere a este, baixa resistência do fundido (geralmente medida pela força tênsil) o que significa uma baixa resistência ao estiramento durante o processo de

elongação. Esta característica limita o uso do iPP em processos que demandam um alto estiramento como, por exemplo, na produção de filmes soprados, produção de espumas, extrusão de revestimentos, produção de peças livres de tensões residuais entre outros. O enxerto de longas ramificações neste polímero confere melhorias na sua viscosidade extensional, no estado fundido ^(1,2), resultando no polipropileno com alta resistência do fundido (HMS-PP). Nosso Instituto desenvolveu a produção de PP ramificado, com base no enxerto de ramificações no PP utilizando-se o acetileno como um promotor de reticulação e radiação gama. Nanocompósitos de polímeros são uma classe de materiais que tem propriedades com significativo potencial comercial. É definida como a combinação de uma matriz de polímero resina e inclusões que têm pelo menos uma dimensão na faixa de tamanho nanométrico. Existem muitos tipos de nanocompósitos plausíveis de investigação e desenvolvimento, incluindo polímero/partícula inorgânica, polímero/polímero, e inorgânicos metal/cerâmica baseados em nanocompósitos. Os polímeros de nanocompósitos híbridos têm atraído grande interesse devido aos materiais inorgânicos empregados e chamados de compósitos poliméricos, freqüentemente apresentam notável melhoria nas propriedades do material, com apenas um baixo percentual de materiais inorgânicos ⁽³⁾. Pode-se vislumbrar a formação de um nanocompósito de matriz polimérica com propriedades sanitizantes, desde que neste caso uma das fases incorporadas tenha propriedades bactericidas ou bacteriostáticas. Uma classe de grande interesse são as nanopartículas de metais nobres, sintetizadas por via aquosa. A maioria dos estudos está relacionado a nanopartículas de prata, que apresentam ação contra uma ampla faixa de microorganismos como bactérias (Gram-positivas/negativas), fungos e vírus ⁽⁴⁾. Dentre os íons metálicos, o íon de prata tem a maior atividade antimicrobiana. A prata metálica não libera o íon facilmente, comparando-se com o cobre, mas é considerada segura e relativamente inerte ^(5,6). O uso da prata com propriedades antibactericidas em aplicações médicas é cada vez mais acentuado, principalmente devido à toxidez da prata às bactérias. Um importante trabalho de pesquisa com este viés foi elaborado por Fages e colaboradores ⁽⁷⁾, que usaram nanopartículas de prata com diferentes agentes surfactantes, poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) e ácido oléico (AO) pra facilitar a

dispersão. Este trabalho tem por objetivo a obtenção do filme de PP/ NPsAg utilizando-se uma extrusora dupla-rosca, assim como, avaliar o uso das nanopartículas de prata na morfologia e a ação biocida.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

O polipropileno isotático com $IF = 1,5 \text{ dg min}^{-1}$, e $M_w=338.000 \text{ g mol}^{-1}$ da Braskem - Brasil, foi fornecido na forma de grânulos. O iPP em grânulos foi acondicionado em recipiente de nylon e submetido a pressão de 110 kPa de gás acetileno 99,8% , fornecido pela White Martins ⁽⁸⁾. O processo de irradiação dos grânulos foi realizado em uma fonte de ^{60}Co a uma taxa de dose de 5 kGy h^{-1} . A dose de radiação utilizada foi de 12,5 kGy monitorada por um dosímetro Perspex Red Harwell 4034. Após a irradiação, os grânulos foram submetidos a tratamento térmico a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 hora para promover a recombinação e a aniquilação de radicais residuais ^(9,10). As nanopartículas de prata (NPsAg) foram fornecidas pela Sigma Aldrich.

Processamento e preparação do filme de PP com NpsAg

A blenda composta de iPP e PP 12,5 kGy foi preparada na proporção de 50/50 (grânulos) e misturada à respectiva solução de prata com estabilizante fenólico Irganox B 215 ED em um misturador rotativo e mantidos nestas condições por 24 horas. Transcorrido este período a mistura foi processada em uma extrusora dupla rosca co-rotatória Haake, modelo Rheomex PTW 16/25, com as seguintes condições de processamento: temperaturas das zonas foram de 180 a 195°C e rotação da rosca igual a 100 rpm. Logo após a extrusão o material foi transformado em grânulos. Os filmes de polipropileno foram obtidos por moldagem por compressão a $190 \text{ }^\circ\text{C}$ por 10 min sem pressão e 5 min sob uma pressão de 80 bar, logo após mergulhado em um tanque de água a $23 \text{ }^\circ\text{C}$, o que geralmente favorece a formação da fase amorfa.

MÉTODOS

Índice de Fluides (I. F.) e Fração Gel

O índice de fluides das amostras de iPP foi obtido utilizando-se um plastômetro da Ceast. Para elaboração das análises de fração gel, foi utilizado

um sistema de balões acoplados a destiladores de refluxo. As amostras de PP foram envolvidas em uma malha de aço inoxidável de 500 mesh e imersas em xileno sob ebulição a 138°C por 12 horas ^(11,12).

Espectroscopia UV-Vis

O espectro de UV-vis foi obtido utilizando-se o equipamento Spectrometer Shimadzu, modelo UV-2401, faixa de 200-800nm.

Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva

Para a visualização de detalhes da morfologia do polímero foi utilizada microscopia eletrônica de varredura, equipamento da marca EDAX Philips modelo XR-30. As amostras foram fixadas sobre suporte metálico adequado e recobertas com carbono pela técnica de *sputtering*. Para o mesmo filme de PP com NPsAg foi obtido o espectro de EDS.

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A morfologia das amostras foi examinada por MET no equipamento JEOL JEM –2100 operando com uma voltagem de aceleração de 80 kV. Os cortes ultrafinos (80nm) foram preparados usando um ultramicrótomo Leica EM FC6 com navalha de diamante.

Teste de Citotoxicidade

O ensaio foi realizado a partir do uso da linhagem celular: NCTC Clone 929, da American Type Culture Collection (ATCC). O cultivo em meio mínimo de Eagle (MEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 0,1 mM de piruvato de sódio (MEM-uso). Foram empregadas 96 wells: distribuídos 200µL da suspensão celular contendo $5 \cdot 10^5$ células/mL em cada poço e a placa incubada em estufa úmida a 37°C com 5% CO₂ por 24h. O preparo de extratos por diluição segue o procedimento normalmente empregado. A diluição foi seriada utilizando-se 1,5 mL de (MEM-uso) em frasco, preparando-se diluições: 100, 50, 25, 12,5 e 6,25%. O meio de cultura da microplaca é substituído pelos extratos diluídos dos controles das amostras em triplicatas.

Controle positivo: solução estoque fenol 0,2% em PBS (solução tampão salina pH 7,4). Solução de uso: solução estoque diluído 1/10 com MEN-uso. Controle negativo: materiais poliméricos grãos de PVC (Dacarto) – 0,3g pellets em 5 mL MEN-uso em estufa a 37°C por 24 h. Amostra: filme polimérico de 1 cm² de área superficial contatado com 1 mL MEN-uso por 24h a 37°C. A microplaca é colocada em estufa de CO₂ por 24h. Os extratos são substituídos por solução vermelho neutro e a placa deixada por 3h para incorporação do corante vital. Microplaca lavada duas vezes com PBS e uma vez com solução de lavagem. Colocada ao leito de ELISA: agitação por 10 min e leitura em 540nm com filtro de referência de 620nm. Obtenção da curva de concentração do extrato em função de % de viabilidade celular ⁽¹³⁾.

Redução da (%) de (UFC)

Cada um dos microrganismos utilizados foi ativado, das respectivas culturas estoque, em meio de cultura apropriado para obtenção dos respectivos inóculos. A suspensão de células obtidas para cada etapa testada foi padronizada de modo a obter uma concentração final no inóculo de 900x10⁶ UFC/mL. O procedimento a seguir, brevemente descrito, foi executado separadamente para cada cultura/amostra a ser testada: 50 µL de suspensão do inóculo foram colocadas sobre o corpo de prova, previamente esterilizado em álcool 70% e espalhado sobre uma área correspondente a 40x40 mm² que foi coberta com uma lâmina estéril. Para avaliar a eficiência dos filmes com aditivos, promoveu-se o contato da suspensão bacteriana (100 µL) sobre os corpos de prova, e cobriu-se a superfície com uma lâmina estéril, sendo incubados em placas de Petri estéreis por aproximadamente 4 horas a 37°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Índice de Fluidez e Fração Gel

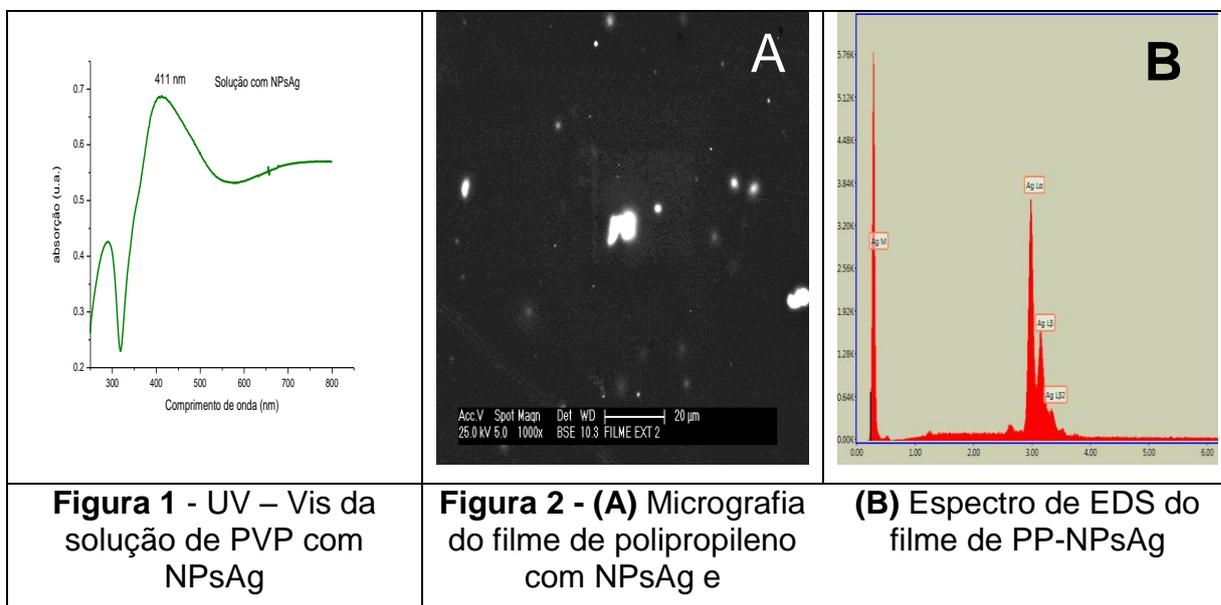
Tabela 1 – Fração gel e índice de fluidez das amostras de PP e PP 12,5 kGy modificado

Amostras	Fração Gel (%)	I.F. (dg min ⁻¹)
iPP	1,14	1,5
PP 12,5 kGy	2,27	0,9

O polipropileno utilizado foi da marca Braskem, cuja média do índice de fluidez determinado, foi de 1,5 dg min⁻¹ (iPP). Na amostra de PP modificado com 12,5 kGy houve um decréscimo no índice de fluidez para 0,9 dg min⁻¹, cujo indicativo é a reticulação do material.

Espectroscopia UV – Vis e MEV-EDS

A espectroscopia UV-Vis é uma das técnicas mais amplamente usadas para a caracterização estrutural das nanopartículas de prata.



O espectro UV - vis da solução é apresentado na Fig. 1 na qual se observa o pico centrado por volta de 411 nm, característico de nanopartículas de prata com formato esférico. O MEV foi utilizado para o estudo da morfologia e identificação das NPsAg via EDS. Na Fig. 2A, filme de PP com NPsAg, apresenta pontos brilhantes que sugerem ser da prata. A análise elementar das

NPsAg foi efetuada usando-se o EDS. Na Fig. 2B é confirmada a presença de prata pelo espectro de EDS de nanopartículas esféricas. Os picos por volta de 3,40 KeV são correspondentes às bandas de energia AgL⁽¹⁴⁻¹⁸⁾.

Microscopia Eletrônica de Transmissão

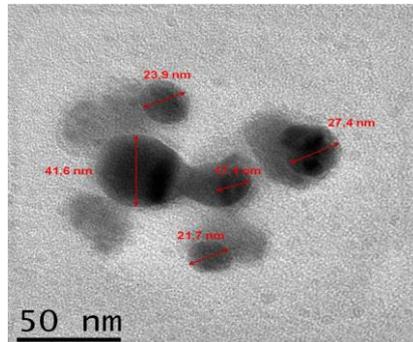
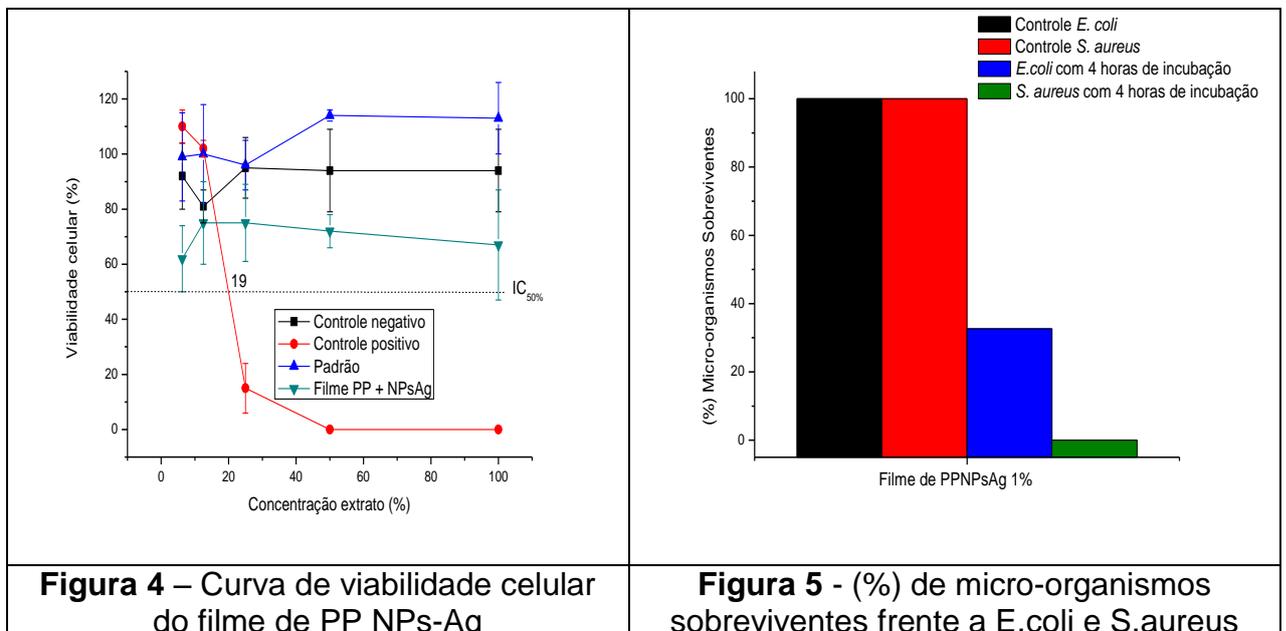


Figura 3 – Imagem de MET do filme de polipropileno com NPsAg

A imagem do MET, Fig.3, confirma o formato esférico das NPsAg, assim como a formação de aglomerados de nanogrãos no filme de polipropileno. O tamanho das nanopartículas de prata determinado varia de 17,1 nm a 41,6 nm de diâmetro.

Teste de Citotoxicidade e Redução da (%) UFC



O teste de citotoxicidade mostrou comportamento semelhante ao controle negativo, ou seja, o filme testado não apresentou toxicidade, como pode ser

observado na Fig. 4 pelo resultado negativo. Portanto é possível afirmar que o filme de PP-NPsAg é caracterizado como não citotóxico mediante teste em células de camundongos.

O teste de redução da (%) UFC para o filme de Polipropileno com NPsAg, Fig.5, demonstrou um excelente efeito para *S. aureus* com 4 horas de incubação, e também para *E. coli* com 4 horas de incubação caindo a 32% de sobreviventes, confirmando a eficiência das NPsAg como biocida.

CONCLUSÃO

A elaboração de filme de PP com PP modificado e adição de nanopartículas de prata visando a ação biocida é perfeitamente possível. Deve-se buscar o aprimoramento do processo com a melhoria na dispersão das NPsAg no filme polimérico avaliando-se o efeito de aglomerados na eficácia biocida da prata. Mesmo assim com o ensaio de redução da (%) UFC, obtiveram-se resultados positivos para *E. coli* e *S. aureus*. Para o teste de citotoxicidade o filme de polipropileno com NPsAg demonstrou-se não ser tóxico ao meio de células de camundongos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pela bolsa, Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais – CCTM-IPEN, pelas análises de microscopia (MEV/EDS e TEM), Técnico Nelson Bueno pela operação da extrusora, Laboratório de desenvolvimento de biomateriais e materiais microbianos (UNESC) e à CBE pela irradiação das amostras.

REFERÊNCIAS

1. RÄTZSCH, M.; ARNOLD, M.; BORSIG, E.; BUCKA, H.; REICHELT, N. Radical reactions on polypropylene in the solid state. ***Prog Polym Sci.*** v.27, p.1195-1282, 2002. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
2. OTAGURO, H.; ARTEL, B. W. H.; PARRA, D. F.; CARDOSO, E. C. L.; LIMA, L. F. C. P.; LUGÃO, A. B. Polypropylene in the Presence of Trifunctional Monomers and their Influence in PP Morphology. ***Polímeros: Ciência e Tecnologia.*** v. 14, nº 2, p. 99-104, 2004. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
3. YEUM, J. H.; PARK, J. H.; KIM, I. K.; CHEONG, I. W. ***Advances in Nanocomposites – Synthesis, Characterization and Industrial Applications.*** Edited by Boreddy S.R. Reddy, InTech, p.483, 2011.

4. BERNI NETO, E. A.; RIBEIRO, C.; ZUCOLOTTO, V. Síntese de nanopartículas de Prata para Aplicações na Sanitização de Embalagens. **Comunicado Técnico Embrapa** 99. ISSN 1517-4786, p.1-4, 2008.
5. BRODY, A. L.; STRUPINSKY, E. R.; KLINE, L. R. **Active Packaging for Food Applications**. CRC Press LLC, p. 144-211, 2002.
6. OLIVEIRA, L. A.; OLIVEIRA, P. A. P. L. V. Revisão: Principais Agentes Antimicrobianos Utilizados em Embalagens Plásticas. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 7, 2, p.161-165, 2004. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
7. FAGES, E.; FENOLLAR, O.; SANOGUERA, D. G.; BALART, R. Study of antimicrobial properties of polypropylene filled with surfactant coated silver nanoparticles. **Poly.Eng.Sci**.v.51,4,p.804-811, 2010. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
8. YOSHIGA, A.; OTAGURO, H.; PARRA, D. F.; LIMA, L.F.C.P.; LUGAO, A.B. Controlled degradation and crosslinking of polypropylene induced by gamma radiation and acetylene. **Polym. Bull.** v. 63, p.397-409, 2009. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
9. Oliani, W. L.; PARRA, D. F.; LUGAO, A. B. UV stability of HMS-PP (high melt strength polypropylene) obtained by radiation process. **Radiat. Phys. Chem.** v. 79, p.383-387, 2010.
10. OLIANI, W. L.; LIMA, L. F. C. P.; PARRA, D. F.; LUGAO, A. B. Study of the morphology, thermal and mechanical properties of irradiated isotactic polypropylene films. **Radiat. Phys. Chem.** v. 79, p. 325-328, 2010. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
11. OTAGURO, H.; LIMA, L. F. C. P.; PARRA, D. F.; LUGAO, A.B.; CHINELATTO, M. A.; CANEVAROLO, S. V. High-energy radiation forming chain scission and branching in polypropylene. **Radiat. Phys. Chem.** v. 79, p.318-324, 2010. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
12. OLIANI, W. L.; PARRA, D. F.; RIELLA, H. G.; LIMA, L. F. C. P.; LUGAO, A. B. Polypropylene nanogel: "Myth or reality" **Radiat. Phys. Chem.**v.81, p.1460-1464, 2012. Disponível em: <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
13. ROGERO, S. O.; LUGAO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste *in vitro* de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre Duas Metodologias. **Mat. Research**. v.6, nº3, p.317-320, 2003. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
14. AFREEN, R. A.; RANGANATH, E. Synthesis of mono-dispersed silver nanoparticles by Rhizopus Stolonifer and its antibacterial activity against MDR strains of Pseudomonas Aeruginosa from burnt patients. **Int. J. Envir. Sci.** v.1, nº7, p.1582-1592, 2011. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.

15. 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 nanoparticles containing silica micro beads and investigation of their antibacterial activity. **Appl. Surf. Sci.** v.257, p. 6963-6970, 2011. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
16. KIM, Y. H.; LEE, D. K.; KANG, Y. S. Synthesis and Characterization of Ag and Ag-SiO₂ Nanoparticles. **Coll. Surf. A: Phys. Eng. Aspects.** 257-258, p.273-276, 2005. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
17. GUZMAN, M. G.; DILLE, J.; GODET, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. **Int. J. Chem. Biol. Eng.** v.2:3, p.104-111, 2009. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.
18. WEI, Q.; TAO, D.; DENG, B.; HUNG, F. Comparative studies of silver nanocomposite fibers. **J. Ind. Tex.** v.38, 4, p.1-8, 2009. <http://www.periodicos.capes.gov.br> acesso em: 05 de setembro 2012.

DEVELOPMENT OF NANOCOMPOSITE POLYPROPYLENE WITH SILVER NANOPARTICLES ACTION AIMING BIOCIDAL

ABSTRACT

This paper presents a preliminary study about the production of films based on blends of polypropylene (PP) with PP modified with insertion of silver nanoparticles aiming to be a bactericide. The blend of PP and PP under acetylene modified with gamma irradiation at a dose of 12.5 kGy, was processed in a twin screw extruder at a ratio of 50/50. The addition of solution of poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) (PVP) with silver nanoparticles (NPsAg) was performed during processing in the extruder. The material was characterized by ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive spectroscopy (EDS), transmission electron microscopy (TEM), cytotoxicity assay and reduction (%) CFU. The films analyzed showed agglomeration of silver points and regions with homogeneous distribution of the particles. The bactericidal effect interaction with silver, *E.coli* and *S. aureus* was found.

Key-words: polypropylene, polypropylene and silver nanoparticles modified