



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Síntese e Aplicação de Óxido de Zinco e do Dióxido de Titânio como
carregadores de Prata na blenda de HMSPP/SEBS visando atividade biocida**

LUIZ GUSTAVO HIROKI KOMATSU

**Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Materiais**

**Orientador:
Profa. Dra. Duclerc Fernandes Parra**

**São Paulo
2021**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Síntese e Aplicação de Óxido de Zinco e do Dióxido de Titânio como
carregadores de Prata na blenda de HMSPP/SEBS visando atividade biocida**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

LUIZ GUSTAVO HIROKI KOMATSU

**Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear- Materiais**

**Orientadora:
Profa. Dra. Duclerc Fernandes Parra**

**São Paulo
2021**

Fonte de Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – Programa de Excelência Acadêmica (CAPES-PROEX)

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Como citar:

KOMATSU, L. G. H. . ***Síntese e Aplicação de Óxido de Zinco e do Dióxido de Titânio como carregadores de Prata na blenda de HMSPP/SEBS visando atividade biocida.*** 2021. 101 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em: <<http://repositorio.ipen.br/>> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Komatsu, Luiz Gustavo Hiroki

Síntese e Aplicação de Óxido de Zinco e do Dióxido de Titânio como carregadores de Prata na blenda de HMSPP/SEBS visando atividade biocida / Luiz Gustavo Hiroki Komatsu; orientadora Dr^a Duclerc Fernandes Parra. -- São Paulo, 2021. 101 f.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Materiais) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2021.

1. Polímeros Nanocompósitos. 2. Atividade Biocida. 3. Síntese de Nanopartículas. 4. Irradiação de Polímeros. I. Parra, Dr^a Duclerc Fernandes , orient. II. Título.

Aos meus pais, Roberto e Tomoko,
pelo apoio e incentivo a realização
deste trabalho. Aos meus irmãos,
Marcos e Mayumi pelo incentivo.

Agradecimentos

A Dr^a. Duclerc Fernandes Parra, pela orientação, apoio, incentivo à realização deste trabalho.

A Braskem, pela doação das amostras de polipropileno.

A Kraton pela doação das amostras de SEBS

A Nynas pela doação do óleo mineral.

A Addivant pela doação do agente compatibilizante.

Ao Irradiador Multipropósito do CETR-IPEN pela irradiação das amostras de polímeros.

A ControlBio na pessoa de Maria José e Paula pelas análises microbiológicas.

Aos colegas de laboratório, Henrique Perez Ferreira, Maria José A. Oliveira, Luiza Mello de Paiva Campos, Patrícia Ponce, Natália Naime, Angelica Tamião, Tamires Ribeiro, Antonio J.C. Brant, Elisabeth Carvalho Leite Cardoso, Sandra R. Scagliusi, Heloísa Zen, Hélio F.R. Ferreto, Vinicius Juvino, Vinicius Lima, Washington Luiz Oliani, Jorge Gabriel, Adriana Kuchinski, Giovana Gimiliani, pela amizade, incentivo e apoio.

Aos colegas da Oficina, Edson Takeshi, João, Valsir, Valdelei, Ricardo, pelo suporte técnico, apoio, incentivo para a realização deste trabalho.

Aos colegas Gláucio, Larissa, Flávia e Nildemar, do Centro de Ciências e Tecnologia de Materiais – IPEN-CCTM, pelas análises de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão.

Ao Dr. Helton Pereira Nogueira do Instituto de Química, pelo auxílio e análises de Espectroscopia de Raman e DLS.

A CAPES pela bolsa concedida.

“ Todos temos o direito aos nossos sonhos loucos.”

Soichiro Honda

“As abelhas e as Vespas sugam as mesmas flores, mas não sabem encontrar nelas o mesmo mel”

Provérbio Chinês

“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro”

Albert Einstein

Agradecimento

Este trabalho recebeu auxílio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – Programa de Excelência Acadêmica (CAPES-PROEX) processo 88882.333460/2019-1.

Resumo

Komatsu, Luiz G. H. **Síntese e Aplicação de Óxido de Zinco e do Dióxido de Titânio como carregadores de Prata na blenda de HMSPP/SEBS visando atividade biocida.** 2020. p.101 Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP, São Paulo.

O foco deste estudo foi realizar a síntese e dopagem do Óxido de Zinco (ZnO) e do Dióxido de Titânio (TiO₂) com a Prata (Ag), visando a ação biocida de sua inserção na blenda de Polipropileno com Alta Resistência do Fundido (HMSPP) obtido por meio do processo de irradiação gama (γ) e o elastômero termoplástico Estireno-Butadieno/Etileno-Estireno (SEBS). As concentrações escolhidas para estudo foram de 0,3% e 1% de cada partícula na blenda HMSPP/SEBS. Para a realização dos testes foram obtidos filmes finos (aprox. 0,07 mm de espessura) utilizando-se o processamento no estado fundido no equipamento extrusora mono-rosca com acessório de filme. As amostras foram caracterizadas por: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e testes biocidas com as bactérias *Escherichia coli* ATCC 8739 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e com os fungos *Candida albicans* ATCC 10231 e *Aspergillus niger* ATCC6275, seguindo a norma JIZ 2801 e a norma INCQS 65.3210.006.

Na micrografia de TEM constatou-se a presença de nanopartículas menores que 30 nm. Na superfície do filme também foi constatado a presença de aglomerados. Estes aglomerados são formados pelas nanopartículas com tamanho médio de 150 nm. Nos resultados de DRX constatou-se que os filmes de PP/SEBS/ nanopartículas retiveram as nanopartículas em função de sua concentração e corroboraram com os resultados de EDS. As nanopartículas atuaram como agente nucleante modificando a cristalinidade dos filmes conforme evidenciado por DSC. As micrografias de MEV demonstraram que as partículas de TiO₂ e TiO₂/Ag; ZnO e ZnO/Ag estão localizadas próximas à superfície, melhorando assim a sua possível interação com o meio microbiano.

A atividade biocida avaliada nos filmes apresentou um resultado positivo , portanto satisfatório, principalmente dos filmes que possuem partículas dopadas com prata ZnO/Ag e TiO₂/Ag. Identificou-se um aumento da atividade biocida dentre as concentrações estudadas, após o processo de esterilização realizado por irradiação gama. Isso pode explicar-se em razão da formação de grupos hidroxila na superfície dos filmes, a ocorrência de radiólise devido a umidade do óleo e do polímero, alteração da *band-gap* dos óxidos metálicos devido a incorporação da prata.

Abstract :

Komatsu, Luiz G. H. **Synthesis and application of Zinc Oxide and Titanium Dioxide as Silver carrier on the blend of HMSPP/SEBS for Biocide Activity. 2020. p.101.** Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP, São Paulo.

The focus of this study was the synthesis and doping of Zinc Oxide (ZnO) and Titanium Dioxide (TiO₂) with silver (Ag) for biocide activity on the blend of High Melt Strength Polypropylene (HMSPP) obtained by Gamma Irradiation Process (γ) and the thermoplastic elastomer Styrene-Ethylene/Butadiene-Styrene (SEBS). The selected concentrations for this study were 0.3 wt% and 1 wt% for each particle on the blend of HMSPP/SEBS. For the tests were obtained thin films (~ 0.07 mm of thickness) utilizing the melting processing on the equipment of single-screw extruder with film accessory. The samples was characterized by: Scanning Electron Microscopy (SEM), Transmission Electron Microscopy (TEM), Dynamic Light Scattering (DLS) and Biocide Tests with the bacteria of *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and with the funghi of *Candida albicans* ATCC 10231 e *Aspergillus niger* ATCC6275, following the norm of JIZ 2801 and INCQS 65.3210.006.

On TEM micrograph was found the presence of nanoparticles smaller than 30nm . On the film surface was also found clusters. The clusters are formed by nanoparticles with average size of 150nm.

In the results of DRX were found the HMSPP/SEBS/nanoparticles retained the nanoparticles in function of the concentration and corroborate the EDS results. The nanoparticles acts as nucleant agent modifying the crystallinity of the films according to DSC. The SEM micrograph demonstrate the TiO₂ TiO₂/Ag; ZnO e ZnO/Ag particles were localized near of the surface, improving thus the possible interaction with microbial medium.

On the tests of biocide activity realized on the films were obtained a satisfactory result in reference of biocide tests, mainly on the films with nanoparticles doped with silver ZnO/Ag and TiO₂/Ag and also an increase of biocide activity in some studied concentrations, after the sterilization process by gamma irradiation. This fact can explain on the formation of the hydroxyl groups

on the surface of the films, the radiolysis occurrence due the moisture from the oil and the polymer, band-gap alteration due the silver incorporation on the metallic oxides .

Índice

1. Introdução	12
2. Objetivo	15
3. Revisão Bibliográfica	16
3.1. Polipropileno, blenda, SEBS	16
3.2. Nanopartículas para ação biocida Ag, TiO ₂ , ZnO	21
4. Materiais e Métodos	32
4.1. Obtenção do HMSPP	32
4.1.1. Síntese do Óxido de Zinco (ZnO)	33
4.1.2. Síntese do TiO ₂ /Ag e ZnO/Ag	34
4.2. Formulações	37
4.2.1. Processamento dos filmes e da Blenda de SEBS/HMSPP	37
4.3. Métodos de Caracterização	39
4.3.1. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	39
4.3.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)	40
4.3.3. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	40
4.3.4. Análise de Luz Dinâmico e Potencial Zeta	41
4.3.5. Espalhamento Raman	42
4.3.6. Testes Biocidas	42
5. Resultados e discussões	44
5.1. Caracterização das partículas	44
5.1.1. Análise de DLS e Potencial Zeta	44
5.1.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão - TEM	45
5.1.3. Ensaio biocidas	47
5.2. Caracterização dos nanocompósitos	54
5.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV	54
5.2.2. Espectroscopia de Raman	60
5.2.3. Difração de Raios – X - DRX	62
5.2.4. Análise térmica - DSC	68
5.2.5 Ensaio biocidas	70
6. Conclusões	87
Referências	90

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação das estruturas alotrópicas do ZnO: Sal-gema (RockSalt), Esfalerita ou blenda de zinco (Zinc blende) e Wurtzite (fonte: Özgür et al. (2005)).....	22
Figura 2 - Esquema do Mecanismo fotocatalítico de um material semiconductor (adaptado de Macwan e colaboradores, 2011 [36])	26
Figura 3 - Ilustração esquemática da nanopartícula de ZnO interagindo com a camada externa das bactérias Gram (+) e Gram (-) (adaptado de Joe e colaboradores, 2017 [37])	27
Figura 4 - Mecanismo proposto por Zheng e colaboradores [45] da formação de nanopartícula durante o processo de irradiação gama.	29
Figura 5 - Síntese das nanopartículas de óxido de Zinco	35
Figura 6 - Síntese das nanopartículas de dióxido de titânio com prata	37
Figura 7 - Extrusora de Dupla-Rosca Thermo Haake Polymer Lab.	39
Figura 8 - Extrusora Mono-Rosca Thermo Haake Rheomex 322p com acessório para extrusão balão.	40
Figura 9 - Equipamento Tabletop Hitachi TM 3000 com módulo de EDS	41
Figura 10 -Equipamento Pelco easiGlow utilizado para a preparação das telas de cobre de TEM	42
Figura 11 - Equipamento Zeta Sizer Nano Zs da Malvern	42
Figura 12 - Espectrômetro de Raman InPhotonics	43
Figura 13 - Micrografia de TEM da partícula de TiO ₂ dopada com Ag.....	46
Figura 14 - Micrografia de TEM da partícula de ZnO dopada com Ag	47
Figura 15 - Placa de ágar da partícula de ZnO submetida ao teste seguindo a norma INCQS 65.3210.006 (ControlBio, 2019)	48
Figura 16 - Placa de ágar da partícula de ZnO/Ag submetida ao teste seguindo a norma INCQS 65.3210.006 (ControlBio, 2019)	50
Figura 17 -- Placa de ágar da partícula de TiO ₂ submetida ao teste seguindo a norma INCQS 65.3210.006 (ControlBio, 2019)	52
Figura 18 - Placa de ágar da partícula de TiO ₂ /Ag submetida ao teste seguindo a norma INCQS 65.3210.006 (ControlBio, 2019)	53
Figura 19 - Micrografia de MEV da superfície do filme da blenda de HMSPP/SEBS com (A) ZnO e (B) ZnO/Ag (o autor, 2019)	57
Figura 20 - Micrografia de MEV da superfície do filme da blenda de HMSPP/SEBS com (A) 1% de TiO ₂ e (B) 1% de TiO ₂ /Ag (o autor, 2019).....	60
Figura 21 - Espectroscopia de Raman das amostras de filme e de nanopartículas de (A) TiO ₂ e TiO ₂ /Ag e (B) ZnO e ZnO/Ag.....	62
Figura 22 - Difratoograma de DRX dos filmes de HMSPP/SEBS com as Nanopartículas de: (A) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de TiO ₂ e TiO ₂ /Ag em comparação às partículas; (B) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de em destaque aos picos das partículas; (C) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de TiO ₂ e TiO ₂ /Ag após o processo de irradiação	65
Figura 23 - Análise de DRX dos Filmes de (A) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag em comparação às partículas; (B) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag com	

destaque aos picos das partículas; (C) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag após o processo de irradiação	68
Figura 24 - Curva de DSC da T_{m2} dos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas de: (A) TiO_2 e TiO_2/Ag e (B) ZnO e ZnO/Ag	70
Figura 25 - Redução Logarítmica dos microorganismos nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas de TiO_2 e TiO_2/Ag para as cepas: (A) <i>C. albicans</i> ATCC 10231 e (B) <i>A. niger</i> ATCC 6275. Padrão de eficácia conforme a norma JIZ 2801-10 ≥ 2	73
Figura 26 - Redução Logarítmica dos microorganismos nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas para as cepas: (A) <i>S.aureus</i> ATCC 6538P e (B) <i>E.coli</i> ATCC8739. Padrão de eficácia conforme a norma JIZ 2801-10 ≥ 2	76
Figura 27 - Redução Logarítmica dos microorganismos nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas para as cepas: (A) <i>C.albicans</i> ATCC 10231 e (B) <i>A. niger</i> ATCC 6275. Padrão de eficácia conforme a norma JIZ 2801-10 ≥ 2	79
Figura 28 - Redução Logarítmica dos microorganismos nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas para as cepas: (A) <i>S.aureus</i> ATCC 6538P e (B) <i>E.coli</i> ATCC8739. Padrão de eficácia conforme a norma JIZ 2801-10 ≥ 2	82

Índice de tabelas

Tabela 1 - Legenda das Formulações com as nanopartículas utilizadas	38
Tabela 2 - DLS e Potencial Zeta da partículas sintetizadas	45
Tabela 3 - Partículas sintetizadas submetidas ao teste microbiológico pelo crescimento de halo (mm) segundo a norma INCQS 65.3210.006.....	54
Tabela 4 - Concentração dos elementos encontrados no filme de HMSPP com 1% de ZnO.....	58
Tabela 5 - Concentração dos elementos encontrados no filme de HMSPP com 1% de ZnO/Ag	58
Tabela 6 - Concentração dos elementos encontrados no filme de HMSPP com 1% de TiO ₂	61
Tabela 7 - Concentração dos elementos encontrados no filme de HMSPP com 1% de TiO ₂ /Ag	61
Tabela 8 - Valores de DSC dos filmes processados T _{m2} – Temperatura de fusão secundária; X _c – Cristalinidade;.....	71
Tabela 9 - Valores de redução Logarítmica microorganismos <i>C. albicans</i> ATCC 10231 e <i>A. niger</i> ATCC 6275 nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas. Padrão de eficácia conforme a norma JIS 2801-10 ≥ 2.....	74
Tabela 10 - Valores de redução Logarítmica dos microorganismos <i>S.aureus</i> ATCC 6538P e <i>E.coli</i> ATCC 8739 nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas. Padrão de eficácia conforme a norma JIS 2801-10 ≥ 2.....	77
Tabela 11 - Valores de redução Logarítmica microorganismos <i>C. albicans</i> ATCC 10231 e <i>A. niger</i> ATCC 6275 nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas. Padrão de eficácia conforme a norma JIS 2801-10 ≥ 2.....	80
Tabela 12 - Valores de redução Logarítmica dos microorganismos <i>S.aureus</i> ATCC 6538P e <i>E.coli</i> ATCC 8739 nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas. Padrão de eficácia conforme a norma JIS 2801-10 ≥ 2.....	83

1. Introdução

No ano de 2004 a “The Royal Society & The Royal Society of Engineering” definiram em um de seus artigos que:

Nanociência: é o estudo dos fenômenos e manipulação dos materiais na escala atômica, molecular e macromolecular, onde as propriedades se diferem significativamente da escala micrométrica;

Nanotecnologia: é a caracterização, produção e aplicações de estruturas, dispositivos e sistemas, controlando-se o formato e tamanho na escala nanométrica [1].

A nanotecnologia em suas diversas aplicações estende-se ao estudo e desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos. Estes materiais são sólidos híbridos que contém uma carga composta de uma ou mais fases de dimensão na escala nanométrica e esta dimensão deve ser menor que 100 nm estando dispersa na matriz polimérica. Devido a estas nanopartículas estarem dispersas na matriz polimérica, estes nanocompósitos exibem um aumento nas propriedades mecânicas, térmicas, ópticas e propriedades físico-químicas quando comparadas aos polímeros convencionais ou compósitos convencionais, com baixas adições de cargas, tipicamente abaixo de 5%. [2, 3].

Os estudos de nanocompósitos implicam no uso de diversas técnicas baseadas em equipamento mais avançados como [3]:

- Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para se explorar a dispersão das nanopartículas e morfologia;

- Difração de Raios-X (DRX) fornece informações quanto ao espaçamento basal, intercalação, esfoliação e aglomeração das nanopartículas;

- Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) apresenta a dispersão das nanopartículas na matriz possibilita dimensioná-las e verificar a presença de aglomerados de partículas;

- Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) fornece as informações entálpicas, cristalinidade e outras características térmicas perturbadas pela inserção de partículas;

- Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) para casos onde se necessita uma maior ampliação possível de imagem para interpretação dos resultados [3].

Uma das maiores demandas por estudos em nanocompósitos ocorre na área das aplicações industriais, cuidados médico-hospitalares e entre outros. Novos materiais com ação biocida (termo que se refere aos produtos químicos utilizados para controle ou morte de microorganismos que interferem ou ameaçam a saúde humana ou animal) ou antibióticos ativos, mesmo em condições de ausência de luz, passaram a ser muito requeridos [4, 5].

A necessidade de materiais biocidas é remota, desde a época da antiguidade no Egito, Grécia e China, período em que existiam muitos problemas relacionados às infecções bacterianas sendo que esse problema, de fato, só foi contornado com a descoberta do fármaco conhecido como Penicilina em 1928. É reportado na literatura, que durante a Segunda Guerra Mundial, a penicilina curou e controlou as infecções bacterianas, até que na década de 50 começaram a ser reportadas as primeiras resistências bacterianas. Nos anos de 1962 no Reino Unido e 1968 nos Estados Unidos foram relatados os primeiros casos de resistência do microorganismo *Staphylococcus aureus* ao fármaco metilicina. Essa resistência é um dos desafios a serem enfrentados pela ciência, uma vez que está previsto que até 2050, pelo mundo, dez milhões de pessoas sejam vítimas de infecções por microorganismos resistentes [6].

Neste contexto, os materiais biocidas foram desenvolvidos e introduzidos a partir do momento em que foi constatado que a proliferação das bactérias e microrganismos se dava por impregnação em roupas e em equipamentos hospitalares, na forma de biofilme de bactérias ou na forma de fungos.

Nesse sentido os óxidos metálicos como óxido de zinco (ZnO), dióxido de titânio (TiO₂) e a prata (Ag) demonstraram alguns mecanismos de inibição do crescimento de bactérias e fungos. Alguns exemplos da utilização desses materiais são destacados como: agentes biocidas em roupas utilizadas pelo exército, materiais plásticos utilizados em banheiros e em hospitais, placas solares, entre outros [4].

Para aumentar e melhorar as propriedades dos óxidos como ZnO e TiO₂, esses foram dopados com Ag obtendo-se nanopartículas como o ZnO/Ag e TiO₂/Ag. Estas nanopartículas foram destacadas na literatura como sendo materiais de alta atividade biocida podendo ser obtidos em diferentes formas e tamanhos por diversos métodos químicos. Entretanto, podemos ressaltar que a atividade biocida destas partículas pode estar associada ao tamanho nanométrico com conseqüente área de superfície elevada, que por sua vez fornece um maior contato das partículas com o local e o material a que será exposto. O tamanho nanométrico destas partículas facilita a penetração através da membrana celular da bactéria, causando assim processos intracelulares que resultam na morte celular da mesma [7].

2. Objetivo

Objetivo Geral:

- Sintetizar as nanopartículas e estudar a sua atividade biocida e dos filmes da blenda de HMSPP/SEBS contendo as nanopartículas de ZnO, ZnO/Ag, TiO₂ e TiO₂/Ag, mediante os microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* e *Candida albicans*.

Objetivos específicos:

- Sintetizar nanopartículas de óxido de zinco, óxido de zinco dopado com prata e dióxido de titânio dopado com prata;

- Desenvolver processamento de filmes contendo nanopartículas sintetizadas;

- Estudar a influência das nanopartículas nas propriedades físico-químicas da blenda de HMSPP/SEBS;

- Testar o potencial biocida dos filmes;

- Verificar a influência da radiação γ nas propriedades biocidas dos filmes.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Polipropileno, blenda, SEBS

O polipropileno (PP) foi introduzido no mercado em 1954, sendo hoje um dos mais importantes termoplásticos, representa uma das resinas mais vendidas no mundo. Só no Brasil, em 2017, o polipropileno representou 21,6% de consumo na cadeia produtiva de produtos plásticos.

Para o ano de 2020/2021, não há dados precisos de consumo de resinas plásticas, uma vez que nesse período o mundo passa pela pandemia de COVID-19. Uma das poucas coisas que se sabe é que, a maior parte da produção das indústrias automotiva e construção civil foram severamente afetadas devido às restrições causadas pelo *lockdown* em diversas partes do mundo, no entanto a maior demanda por resinas plásticas destacam-se nas indústrias de embalagens e de produtos médico hospitalares devido ao aumento da preferência por produtos descartáveis. [8, 9]

O polipropileno isotático (iPP) mais comum dos PPs é uma das resinas mais utilizadas em produtos médicos hospitalares e é muito conhecido por demonstrar diversas formas cristalinas, nomeadas como forma- α monoclinica, forma- β hexagonal e forma- γ triclinica. A forma- α é a mais estável e também a mais prevalente no polipropileno (PP). A forma- β é observada ocasionalmente durante a cristalização e ocorre como menor constituinte do PP. A forma- γ é obtida por cristalização a altas pressões e também se converte em forma alfa por aquecimento. A formação da forma- β no PP depende das condições de cristalização ou da adição de agentes nucleantes específicos [10].

Com o objetivo de melhorar as propriedades do PP para a utilização nos processos de termoformagem, moldagem por sopro e entre outros processos, algumas modificações foram desenvolvidas quanto às suas propriedades de viscosidade no estado fundido. A viscosidade dos polímeros no estado fundido orienta os parâmetros a serem usados durante o processamento. Dentro deste

contexto podemos destacar o HMSPP – Polipropileno com Alta Resistência do Fundido [11].

Polipropileno com Alta Resistência do Fundido (HMSPP) é o nome comercial para o polipropileno com cadeias longas e ramificadas. Diversos tipos de HMSPP comerciais estão disponíveis no mercado, a maioria desenvolvida usando Irradiação por feixe de elétrons. A irradiação por feixe de elétrons causa cisões nas cadeias do PP, que por sua vez são acompanhadas por alguns processos de ramificações, conduzindo a formação de cadeias longas e ramificadas [11]

Na patente da Montell, é proposta que o HMSPP é produzido à baixa temperatura, baixa dose de irradiação e atmosfera de nitrogênio. As reações mais comuns nesse processo é a degradação e a reticulação. Entretanto a degradação deve ser uma das primeiras reações das mais intensas nos estágios iniciais. Ainda de acordo com a patente da Montell, outras reações ocorrem como a formação de ramificações, competindo com o processo de reticulação das cadeias [12].

No IPEN, em parceria com a BRASKEM, foi desenvolvida uma forma alternativa para a produção do HMSPP. O processo se baseia na irradiação com energia ionizante de fonte gama (^{60}Co) do PP, sob atmosfera de acetileno seguido de um processo de tratamento térmico para eliminação dos radicais livres e então a terminação da reação. É interessante destacar que nesse processo a maior vantagem do uso do acetileno como agente reticulante é a diminuição do processo de degradação para promover a reticulação sem deixar monômeros residuais [13].

No estudo realizado por Lugão e colaboradores [14], o HMSPP foi obtido utilizando-se o polipropileno isotático H603 irradiado em uma fonte de ^{60}Co (γ) sob atmosfera de acetileno e a uma taxa de dose de 10 kGy h^{-1} , monitorado pelo dosímetro Harwell Red Perspex 4034, e a dose escolhida foi de 20 kGy. Neste estudo foi observado que o método de síntese empregado foi bastante

efetivo para se aumentar a resistência do PP no estado fundido, onde o valor de resistência do fundido do PP de 16,34 N subiu para 96,2 N, após o processo de irradiação a 20 kGy.

Com o desenvolvimento do HMSPP por irradiação foi possível oferecer um novo material para a utilização em blendas poliméricas, de acordo com estudo prévio realizado por Komatsu e colaboradores [15], onde o HMSPP foi incorporado ao estireno-etileno/butadieno-estireno (SEBS) formando uma blenda HMSPP/SEBS. Neste estudo foi avaliado o efeito biocida das nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) e óxido de zinco dopado com prata (ZnO/Ag) na blenda de HMSPP/SEBS. Para os testes biocidas, seguindo a norma JIZ 2801, foram confeccionados filmes por meio de processamento em extrusora mono-rosca com acessório para filme. Nos resultados obtidos foi observado uma atividade biocida dos filmes processados mediante as bactérias *S. aureus* e *E. coli*.

O polipropileno pela sua versatilidade tem sido um dos materiais (commodities) mais amplamente utilizados e estudado na literatura. Entretanto o polipropileno (PP) é um material pouco tenaz com resistência ao impacto relativamente baixo, sendo necessária em algumas de suas aplicações a adição de modificadores de impacto. A adição de elastômeros ao PP gera uma fase elastomérica neste e tem sido uma solução economicamente viável, com resultados altamente satisfatórios [16].

Os elastômeros termoplásticos (TPEs) podem ser usados como tenacificadores em blendas ou em compósitos poliméricos. Os TPEs compreendem uma classe de polímeros que devido a sua estrutura ou morfologia, apresentam propriedades físicas semelhantes àquelas dos elastômeros, sendo processados pelos mesmos métodos de transformação empregados para os termoplásticos [17].

O termoplástico elastomérico SEBS é um copolímero em bloco poliestireno- bloco-poli (etileno-co-but-1-ene)-bloco-poliestireno, que pode ser

obtido pela hidrogenação do butadieno na sequência do poliestireno-bloco-polibutadieno-bloco-poliestireno copolímero correspondente [18].

Usualmente, as fases do SEBS (TPE) possuem uma fase dura ou rígida na temperatura ambiente, a outra fase elastomérica. Estas fases são ligadas quimicamente por blocos ou por polimerização ramificada. A parte rígida fornece ao SEBS sua resistência e constitui ramificações físicas. Sem esta região, a fase elastomérica ficaria livre para se movimentar sob tensão e o polímero ficaria praticamente sem uso. Por outro lado, a fase elastomérica fornece flexibilidade e elasticidade ao sistema. Quando a fase rígida é fundida ou dissolvida em solvente, o material ganha fluidez e pode ser processado normalmente. Após o processo de resfriamento ou evaporação do solvente, a fase rígida solidifica e o material recupera sua resistência e elasticidade [19].

Cada constituinte polimérico individualmente possui as suas características de fase e cada uma possui a sua transição vítrea específica (T_g) ou temperatura de fusão (T_m). Com isso o SEBS (TPE) possui algumas vantagens com relação aos elastômeros termorrígidos (vulcanizados) convencionais, uma dessas vantagens é a facilidade de processamento usando os métodos comumente empregados para os termoplásticos e significativamente de menor custo. Outra vantagem é a possibilidade de se reutilizar as sobras de processo da mesma forma que os termoplásticos [19].

O SEBS é utilizado em uma grande área de aplicações como a indústria automotiva, cobertura de cabos, dispositivos médicos, sapatos, produtos de higiene pessoal, utensílios domésticos entre outros [20]. O SEBS oferece uma possibilidade de controle de dispersão de nanopartículas objetivando-se produzir nanocompósitos em “*masterbatches*” com nanopartículas dispersas homogeneamente [21].

No trabalho de Altan e Yildirim [22], foi desenvolvido um nanocompósito de polipropileno (PP) /óxido de zinco (ZnO) utilizando o processamento no estado fundido. Neste trabalho as partículas foram modificadas com diferentes compatibilizantes como silano e ácido esteárico. Esta modificação também foi

realizada com o estireno-etileno/butadieno-estireno funcionalizado com anidrido maléico (SEBS-g-AM) dissolvido em tolueno. Os resultados obtidos demonstraram que os compósitos contendo silano e ácido esteárico forneceu uma fina camada de partículas dispersas enquanto que com SEBS-g-AM houve uma indução à formação de aglomerados. As propriedades biocidas destes compósitos diminuíram com o aumento da concentração de ZnO devido à baixa absorção de UV e uma atividade fotocatalítica insuficiente das partículas.

Os polímeros podem, sob condições de uso, sofrer um processo de degradação por agentes do próprio ambiente como a fadiga mecânica, aquecimento/resfriamento, agentes químicos e hidrólise. Estes processos fazem com que o polímero fique propício a colonização de bactérias resultando na transmissão de doenças, deterioração dos produtos, entre outros. Os materiais como os TPEs (SEBS) estão susceptíveis ao ataque microbiano em ambientes úmidos e com altas concentrações de materiais orgânicos [20].

Altan e Yildirim [23] desenvolveram um nanocompósito de polipropileno (PP) /dióxido de titânio (TiO_2) utilizando o processo no estado fundido por extrusão em dupla rosca. Antes do processamento no estado fundido, as nanopartículas foram modificadas com estireno-etileno-butadieno-estireno grafitizado com anidrido maleico (SEBS-g-AM) e silano. A atividade biocida dos compósitos variou de acordo com a concentração das partículas e foi observado que os compósitos com baixa concentração de TiO_2 apresentaram uma propriedade biocida devido a uma melhor atividade fotocatalítica das partículas durante a exposição ao UV.

No trabalho desenvolvido por Bassani e colaboradores [24], foi investigado o efeito da adição de estireno-etileno-butadieno-estireno (SEBS) ao polipropileno (PP) no processamento em extrusora de dupla rosca. Foram investigados os efeitos nos parâmetros de temperatura de processamento, velocidade da rosca e velocidade de alimentação. Verificou-se que na condição de temperatura mais baixa, alta velocidade da rosca e alta velocidade de alimentação houve um melhor resultado em termos de resistência ao impacto,

onde a blenda com 20% de SEBS demonstrou um aumento de 25% em relação ao PP puro. Esta blenda também se mostrou mais afetada pelas condições de processamento. A velocidade da rosca é um parâmetro com influência direta na resistência ao impacto.

Na investigação desenvolvida por Melo e colaboradores [25] foi estudada a adição de 2% a 7% de SEBS em uma blenda de polipropileno/poliestireno de alto impacto (PP/HIPS; 70:30). Nesta blenda foram determinadas as propriedades de tração e impacto, temperatura de amolecimento Vicat e morfologia em função da concentração de SEBS. As blendas foram processadas em extrusora dupla-rosca contra-rotativa interpenetrante e os corpos de prova foram obtidos por compressão. Foi observado nos resultados que a incorporação de pequenas quantidades de SEBS elevou discretamente a rigidez da blenda, aumentou o alongamento na ruptura e a resistência ao impacto de maneira significativa.

Em outro estudo de Vuluga e colaboradores [26], investigou os efeitos do SEBS nas propriedades mecânicas e térmicas do PP, com e sem adição de argila. A concentração de SEBS no PP foi variada a fim de se obter o balanço mais favorável de rigidez e tenacidade. As amostras foram obtidas por processamento em extrusora de dupla rosca. Para efeitos de comparação, o PP também foi processado nas mesmas condições. Nos resultados o módulo de elasticidade da blenda de PP/SEBS diminuiu em função do aumento da adição de SEBS, na amostra com ~23% de SEBS esta diminuição foi muito maior. A seleção realizada quanto à concentração de SEBS, baseada nas análises morfológicas, térmicas e mecânicas e a compatibilização do SEBS com a argila conduziram para a obtenção de um compósito de PP/SEBS/Argila com características convenientes a aplicação na indústria automotiva.

3.2. Nanopartículas para ação biocida Ag, TiO₂, ZnO

Com o objetivo de eliminar os microorganismos ou também de cessar o seu crescimento, podem ser utilizados os agentes biocidas nos filmes. Existem

diferentes sistemas para eliminar estes microorganismos: alguns inibem o metabolismo dos microorganismos através por contato, alguns o desidratam e entre outros. Se o agente possui uma estabilidade térmica, ele pode ser processado juntamente ao polímero pelos processos convencionais. Caso não, ele pode ser depositado em uma fina camada na superfície do produto polimérico final. Para todos os aditivos utilizados, deve ser considerada a legislação de cada setor como: alimento, cosmético ou em outras aplicações [27].

O uso de nanopartículas para um processo de auto limpeza ou desinfecção proporcionou a utilização de diversos óxidos metálicos, como o TiO_2 , ZnO , entre outros, e a Ag. [28]

O óxido de zinco possui três estruturas cristalinas conhecidas como Wurtzite, blenda de zinco ou esfalerita e ocasionalmente é citada a forma sal de rocha. A forma cristalina Wurtzite possui a forma hexagonal e cada tetraedro do átomo do Zn é rodeado por quatro átomos de oxigênio. Esta estrutura é termodinamicamente estável em temperatura ambiente. A estrutura blenda de zinco ou esfalerita é metaestável e pode ser estabilizada via técnicas de síntese. Uma melhor apresentação destas estruturas está na **Figura 1**, onde as esferas brancas são do Zn (zinco) e as pretas representam o O (oxigênio). [29]

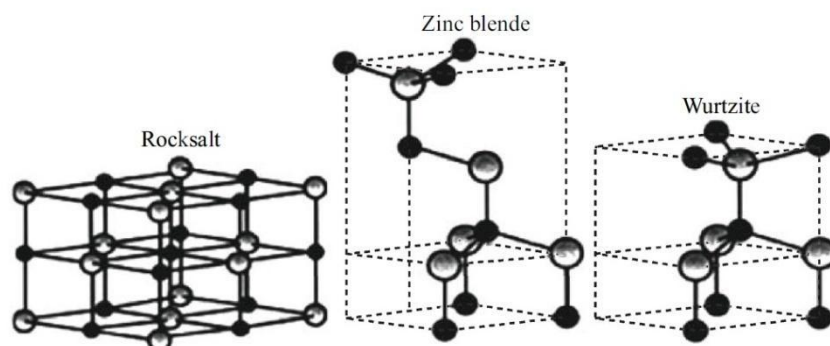


Figura 1 - Representação das estruturas alotrópicas do ZnO: Sal-gema (RockSalt), Esfalerita ou blenda de zinco (Zinc blende) e Wurtzite [29].

No geral, as nanopartículas de TiO_2 têm demonstrado uma considerável atenção por ser um purificante fotocatalítico de baixo custo, excelente atividade fotocatalítica, estabilidade química e não tóxico. O TiO_2 possui diversas formas como: anatase, rutilo e brookite. O tipo anatase do TiO_2 possui uma estrutura cristalina que corresponde a um sistema tetragonal e seu uso principal é como um fotocatalizador sob irradiação UV. O tipo rutilo possui uma estrutura cristalina tetragonal. Este tipo de TiO_2 é muito utilizado como pigmento em tintas. O tipo brookite possui uma estrutura cristalina ortorrômbica. O processo fotocatalítico do TiO_2 pode ser utilizado para a ação biocida [30, 31].

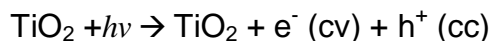
A atividade biocida das nanopartículas de Ag dopadas com TiO_2 sob luz visível e sob ambientes escuros foi estudada com bactérias patogênicas como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans* e entre outros. A atividade biocida foi atribuída aos radicais livres que induzem um processo oxidativo na membrana celular da bactéria. Nesse processo existe a participação das reações catalíticas de oxidação entre o oxigênio e o grupo tiol das proteínas das células que resultam no bloqueio do processo de respiração da bactéria e que induz a morte celular [30, 32].

Por outro lado, quando um pó de um material semicondutor, como o dióxido de titânio e óxido de zinco é suspenso em meio aquoso e irradiado a luz UV $\lambda < 385\text{nm}$, são gerados radicais $\cdot\text{OH}$. Os radicais $\cdot\text{OH}$ são altamente tóxicos para os microorganismos e são muito reativos no processo de oxidação de substâncias orgânicas [33].

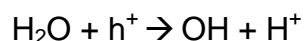
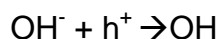
Uma parte dos mecanismos de funcionamento do processo de catálise que ocorre na superfície do material foi descrita na literatura Seven e col.[33], da seguinte forma:

Quando o TiO_2 é irradiado com a energia de fótons maior ou igual que sua camada de valência (3.2 eV) resulta na promoção de elétrons da camada de valência (CV) para camada de condução (CC) da partícula. O resultado

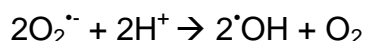
desse processo é uma positiva mudança na região denominada buraco de elétron (h^+) na CC e um elétron livre (e^-) na CV.



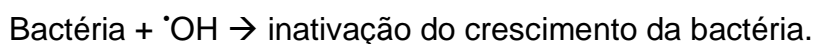
Na superfície da partícula de TiO_2 , os buracos de elétron reagem com a superfície dos grupos hidroxila (OH^-) e são absorvidos pela H_2O , para formar radicais $\cdot\text{OH}$.



Na ausência de receptores de elétrons a recombinação do buraco de elétron torna-se possível. A presença de oxigênio previne o processo de recombinação, retirando os elétrons através da formação de íons de superóxidos. O produto final desse processo de redução também pode ser um radical.



Radical hidroxila pode inativar o crescimento de microrganismos:



O titânio modificado com partículas de prata tem grande interesse para a pesquisa e indústria devido a suas aplicações na degradação fotocatalítica. Muitos pesquisadores têm estudado intensamente como a prata fornece ao titânio uma forma de atividade fotocatalítica distinta. Além disso, alguns pesquisadores concluíram que a incorporação da prata no dióxido de titânio conduz a um aumento da área total da superfície ativa do dióxido de titânio. Isso pode ser considerado um benefício adicional ao se utilizar as partículas de titânio carregadas de prata no campo da degradação fotocatalítica [34].

O processo de fotocatalise é muito investigado como um potencial caminho para o processo de purificação de água e ar e síntese de compostos químicos. O termo fotocatalise é definido por Belver e colaboradores [30], quando se descreve um processo químico em material sólido (ou também conhecido como fotocatalisador) quando irradiado por uma fonte de luz UV-visível. Neste processo, a luz incidente interage com o fotocatalisador, causando (em uma escala de tempo de femtossegundo, que corresponde a 10^{-15} segundos) a geração de pares de buraco de elétron e um elétron (e^-/h^+) caso a energia seja igual ou maior que a *band gap* (E_g) do material semiconductor. A *band gap* é uma barreira de energia entre a camada de valência ('VB', banda de alta energia ocupada com elétrons) e a banda de condução ('CB', banda de baixa energia, sem elétrons). Devido à interação da luz, o elétron (e^-_{cb}) é excitado e promovido da VB para a CB, enquanto que o buraco (h^+_{vb}) é criado no VB. Se essas cargas permanecem separadas e migram para o interior da superfície do semiconductor, estes podem reagir no interior e as espécies geradas são absorvidas. Neste sentido, os elétrons fotoinduzidos podem ser envolvidos em processos de redução, enquanto que o buraco de elétron pode induzir as reações de oxidação. Entretanto, as cargas fotogeradas de e^-_{cb} , e , h^+_{vb} também tendem a se recombinar, tanto no centro quanto na superfície do semiconductor, dissipando a energia como calor e retornando ao estado não-excitado. É importante destacar que este processo pode variar dependendo da natureza do material fotocatalítico [35].

Macwan e colaboradores [36] definiram que fotocatalise pode ser também denominada de reação de fotoindução que pode ser acelerada na presença de um catalisador. Este tipo de reação, **Figura 2**, pode ser ativado pela absorção de um fóton com energia suficiente (maior ou igual que a energia da *band-gap* do catalisador). A absorção conduz a uma energia de separação que promove um elétron (e^-) da camada de valência do catalisador semiconductor para a camada de condução, dessa forma gerando um buraco de elétron (h^+) na camada de valência. A recombinação do elétron e buraco de elétron deve ser prevenida, para que assim a reação de fotocatalise possa ocorrer.

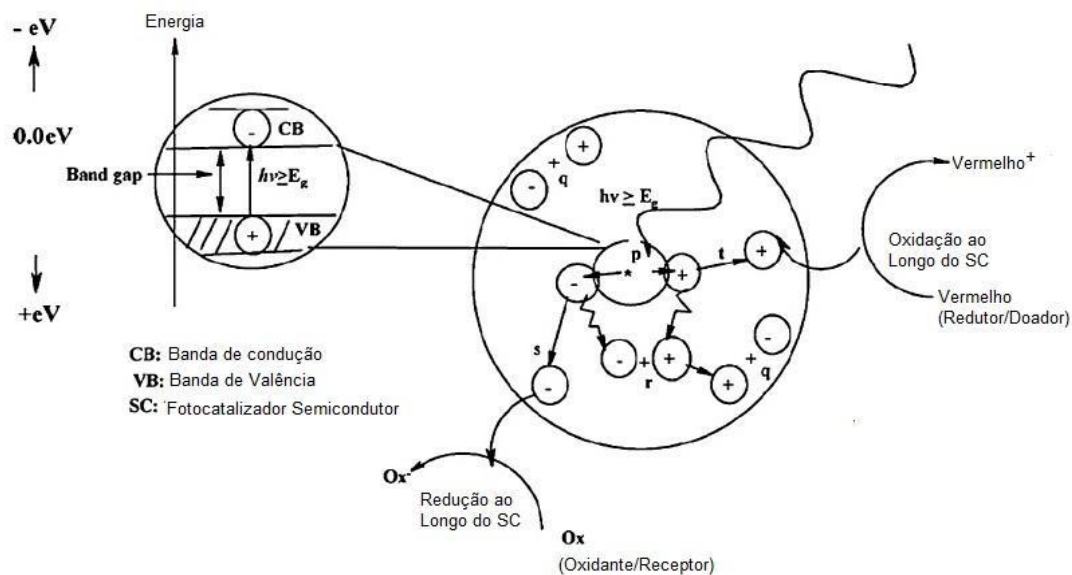


Figura 2 - Esquema do Mecanismo fotocatalítico de um material semicondutor (adaptado de Macwan e colaboradores, 2011 [36])

No trabalho desenvolvido por Joe e colaboradores [37], foi realizado um estudo da atividade biocida de três diferentes tipos de nanopartículas de ZnO, que incluíram *nanoplates*, *nano-assemblies* e nanopartículas convencionais. Estas nanopartículas foram sistematicamente analisadas quanto a suas propriedades biocidas nos microorganismos Gram-positivo *Staphylococcus aureus* e Gram-negativo *Klebsiella pneumoniae* em condições de ambiente sem luz UV. Neste estudo é interessante destacar a proposta de um possível mecanismo biocida do ZnO em ambiente sem luz UV, **Figura 3**. No período que foi desenvolvido o estudo, 2017, não era tão claro de que forma as nanopartículas de ZnO interagem com a parede celular da bactéria causando a sua destruição ou dissolução e de que forma os íons de ZnO^{2+} são transferidos para a membrana do citoplasma. O ácido teicóico da camada peptidoglicano da bactéria Gram-Positiva e o ácido lipoteicóico na camada externa da membrana da bactéria Gram-Negativa provavelmente contribuem para que as paredes celulares fiquem negativamente carregadas, devido à existência ânions de polifosfatos. Desta forma, é possível que exista a formação de sítios reativos para que as nanopartículas ou íons criem ligações com a membrana da bactéria. Como consequência, o ácido teicóico ou lipoteicóico pode facilitar a dissolução do ZnO *via* a formação de sais iônicos de ZnO^{2+} .

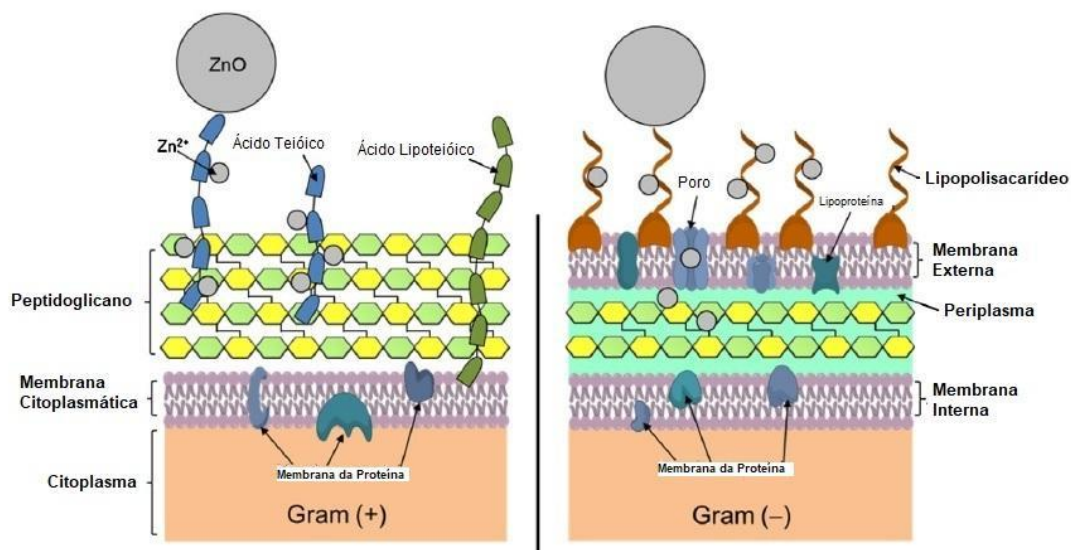


Figura 3 - Ilustração esquemática da nanopartícula de ZnO interagindo com a camada externa das bactérias Gram (+) e Gram (-) (adaptado de Joe e colaboradores, 2017 [37])

Estresse oxidativo pode ser induzido pela geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) nos sistemas de nanopartículas. Este ROS é um dos principais fatores ou mecanismos para a atividade biocida em nanopartículas. Li e col [38] definiram que, quando uma nanopartícula é iluminada com uma fonte de luz com uma foto-energia maior que a *band gap*, os elétrons (e^-) das nanopartículas são promovidos através da *band gap* para a banda de condução, a qual cria um buraco de elétron (h^+) na camada de valência. Os elétrons da camada de condução e os buracos de elétron na camada de valência exibem alto poder de redução e oxidação. O elétron pode reagir com moléculas de oxigênio para produzir ânions de superóxidos ($O_2^{\cdot-}$) através do processo de redução. Os buracos de elétron podem reagir com os elétrons da água e/ou íons de hidroxila para gerar radicais hidroxilas ($\cdot OH$) através do processo oxidativo. Oxigênio singlete (1O_2) é produzido indiretamente em reações aquosas de $O_2^{\cdot-}$. $\cdot OH$ é um oxidante forte e não seletivo que pode causar danos em todos os tipos de biomoléculas orgânicas, incluindo carboidratos, ácidos nucleicos, lipídios, proteínas DNA e aminoácidos. O_2 é o principal mediador da fototoxicidade e pode causar danos irreversíveis em

tecidos tratados, causando oxidação na biomembrana e também degradação. Embora $O_2^{\cdot-}$ não seja um forte oxidante, como um precursor para $\cdot OH$ e 1O_2 , $O_2^{\cdot-}$ também tem significativa implicação biológica. Conseqüentemente estes três tipos de ROS ($\cdot OH$, 1O_2 , $O_2^{\cdot-}$) contribuem para um maior stress oxidativo em sistemas biológicos. [38]

A parede celular bacteriana é projetada para fornecer à célula rigidez e forma, além de proteger a célula do processo de ruptura osmótica e danos mecânicos. De acordo com a sua estrutura, componentes e funções, a parede celular bacteriana pode ser dividida em duas principais categorias: Gram-positiva (+) e Gram-Negativa (-). A parede das células Gram-positivas contém apenas uma única fina camada de peptidoglicano (aprox 20-50 nm), que por sua vez está ligada a ácidos teicóicos. Por outro lado, as paredes celulares da Gram-Negativa são bem mais complexas, tanto estruturalmente quanto quimicamente. Mais especificamente, nas bactérias Gram-Negativas possuem uma fina camada de peptidoglicano e uma membrana externa que por sua vez, recobre toda a superfície da membrana. Esta membrana externa fornece à bactéria Gram-Negativa uma resistência a compostos hidrofóbicos, incluindo detergentes e contém como único componente, liposacarídeos, que aumentam a carga negativa da membrana celular e são essenciais para integridade estrutural e viabilidade da bactéria [39, 40].

A incorporação de nanopartículas de prata com o objetivo de diminuir a energia de *Band-Gap* do TiO_2 e criar alguns processos plasmônicos na superfície do TiO_2 aumentam desta forma a atividade biocida [41].

Durante o processo de irradiação gama um grande número de elétrons hidratados são produzidos e podem reduzir as cargas de íons metálicos a zero em partículas metálicas [42].

Irradiação Gama Co-60 é uma das técnicas mais eficientes que tem sido utilizada para a preparação de nanopartículas metálicas em soluções aquosas

devido a sua habilidade única, onde os raios- γ geram elétrons hidratados (e^-_{aq}) e átomos de hidrogênio (H^\bullet) como agentes redutores na água [43].

Belloni e colaboradores [44], apresentaram um possível mecanismo para a preparação de nanopartículas via γ -irradiação. A radiação alta energia primeiramente ioniza e excita as moléculas mais abundantes no solvente. No início uma parte dos elétrons solvatados e radicais livres podem se recombinar em produtos moleculares. Sem a adição de um agente de redução química, pois o próprio solvente pode ser um agente redutor. Como por exemplo, representado na equação a seguir em meio aquoso:



Zheng e colaboradores [45], também apresentaram um possível caminho dos efeitos da irradiação gama no solvente, assim apresentado na **Figura 4**. Foi proposto que, o radical hidroxila produzido durante a esterilização por irradiação gama, primeiramente oxida a nanopartícula de prata para íons de Ag^+ . Nesse processo os agentes redutores, como o citrato de sódio, elétrons solvatados (e^-) e átomos de hidrogênio (H^\bullet), auxiliam no processo de redução dos íons de Ag^+ para átomos de Ag , utilizando as partículas residuais como pontos de crescimento de partículas.

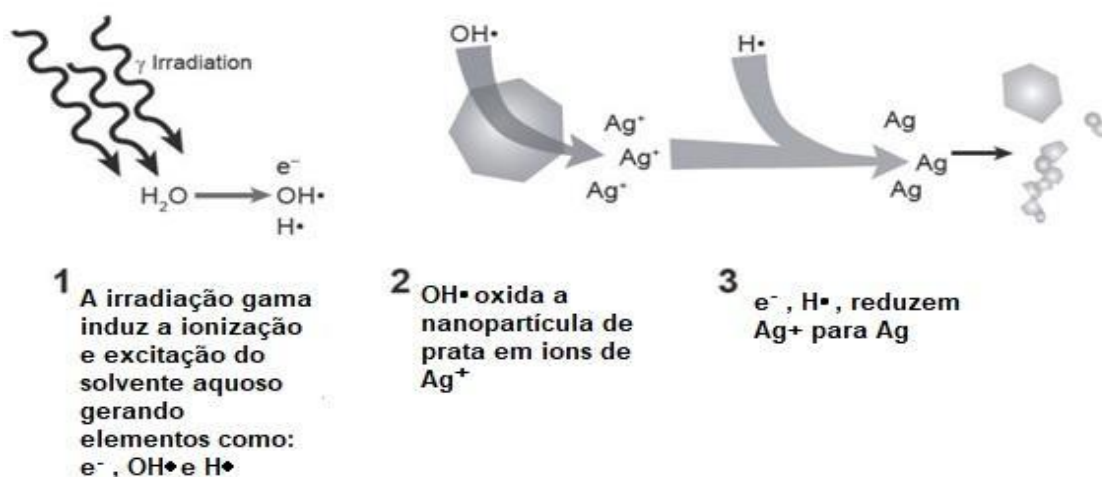


Figura 4 - Mecanismo proposto por Zheng e colaboradores [45] da formação de nanopartículas de prata durante o processo de irradiação gama.

No trabalho desenvolvido por Nguyen e colaboradores [43], foram desenvolvidos alguns masterbatches de PE/AgNPS/sílica. As nanopartículas de prata (AgNPs) foram depositadas na sílica utilizando o processo de irradiação gama Co-60 para o processo de síntese e dispersão na mistura sílica/etanol/água (9/80/20:a/v/v). Após o processo de irradiação, a suspensão irradiada foi secada em uma estufa a vácuo a fim de se obter um pó fino. O “*masterbatch*” de PE/AgNP/SiO₂ foi preparado misturando-se os pós de AgNPs/SiO₂ ao PE nas concentrações desejadas e processadas em extrusora. Nesse trabalho concluíram que o processo de irradiação gama é muito mais efetivo para a deposição de AgNPs na superfície da sílica em temperatura ambiente. O tamanho da partícula de AgNPs depositada na sílica aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração de Ag⁺. Os masterbatches desenvolvidos podem ser potencialmente usados para a produção de plásticos com ação biocida. Em adição, o pó resultante de AgNPs/SiO₂ pode ser também utilizado para outros como pasta de dente, sabão e entre outros.

No trabalho desenvolvido por Hirota e colaboradores [46], foi investigado a atividade biocida do ZnO em ambiente sem luz. Nessa investigação, os pós de ZnO foram hidrotêrmicamente tratados em solução aquosa de 0,5-3 mol mL⁻¹ de ZnO(NO₃)₂ à uma temperatura de 110 - 180°C por 3 - 20h. A atividade biocida foi avaliada usando o método de contagem de colônias com a bactéria *Escherichia coli* e o meio nutriente utilizado de ágar. O melhor resultado obtido foi com a amostra de ZnO tratada na condição de: 3 mol mL⁻¹ de solução de nitrato de zinco para o tratamento hidrotêrmico a 120°C por 7 horas. Na análise de ESR (Ressonância Paramagnética Eletrônica) e fotoluminescência química demonstraram que o radical de oxigênio gerado pelo superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) formado na superfície do ZnO pode exibir uma atividade biocida mesmo em ambiente escuro.

No estudo de Li e colaboradores [47] foi realizado um estudo para avaliar a atividade biocida das nanopartículas de Ag-TiO₂ tanto em ambiente escuro quanto em ambiente com luz. Neste estudo diversos métodos foram

empregados para se obter nanopartículas de Ag-TiO₂ e outros tipos de materiais de TiO₂ e Ag. Das amostras obtidas, as partículas de TiO₂ (Degussa P25) dopado com Ag demonstraram diferentes mecanismos de inativação de bactéria tanto em condições de luz quanto no escuro. Devido a natureza fotoativa alta das nanopartículas de TiO₂ (Degussa P25), o mecanismo de inativação sob luz UV é devido à geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). Já no ambiente sem luz, o mecanismo de inativação é devido ao contato direto das nanopartículas de Ag e a formação de espécies tóxicas de Ag como Ag⁺, Ag(O), AgCl e AgCl₂⁻.

No trabalho de Seven e colaboradores [48], foi avaliada a eficiência de desinfecção de óxidos metálicos fotoativos e a areia do deserto do Saara. A avaliação foi analisada em dois grupos de microorganismos de bactéria e fungos, os quais foram: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*. As suspensões aquosas com os microorganismos (1.10⁵ cfu/mL) na presença das partículas de TiO₂, ZnO e areia do deserto do Saara foram irradiadas com uma lâmpada de sódio de 400W em diversos períodos a fim de simular a radiação solar. A areia do deserto do Saara contém alguns óxidos metálicos fotoativos/inativos (ZnO, Fe₂O₃, etc) e alguns materiais orgânicos, porém, segundo o estudo, não foi observada ação biocida da areia do Saara. Um efeito biocida com ZnO e no TiO₂ foi observado, sendo muito mais eficiente sob irradiação da luz da lâmpada de sódio. Um completo processo de inativação foi observado nas partículas, com exceção do microrganismo *A. niger* que possui uma resistência maior.

Tendo em vista que a maioria dos polímeros é susceptível ao ataque de microorganismos, nesta tese de doutorado foi desenvolvida uma blenda de Polipropileno com alta resistência do Fundido (HMSPP) e Estireno-Etileno/Butadieno-Estireno (SEBS) contendo nanopartículas com atividade biocida de Óxido de Zinco, Óxido de Zinco/Prata, Dióxido de Titânio, Dióxido de Titânio/Prata. Nestes materiais foi realizado os testes quanto atividade biocida nos microorganismos *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Aspergillus niger* ATCC 6275e *Candida albicans* ATCC 10231 e

juntamente foi realizado a caracterização das nanopartículas: tamanho, atividade biocida e morfologia; e também dos filmes testados: atividade biocida, morfologia, interação nanopartícula → polímero.

4. Materiais e Métodos

As matrizes poliméricas e reagentes utilizados neste trabalho foram:

- iPP – Polipropileno isotático H603, fornecido pela Braskem;
- SEBS – copolímero de butadieno-estireno, tipo G1633, fornecido pela Kraton;
- PP *graft* AM – polipropileno grafitizado com anidrido maléico, fornecido pela Addivant;
- Irganox 1010 – antioxidante fornecido pela BASF;
- Óleo mineral de base parafínica – fornecido pela Nynas;
- Nitrato de zinco – fornecido pela LabSynth;
- Dióxido de Titânio, Degussa P25 – fornecido pela Evonik;
- Citrato de Sódio – fornecido pela LabSynth;
- Nitrato de Prata - fornecido pela LabSynth;
- Hidróxido de Sódio - fornecido pela LabSynth;
- Poli (*n*-vinil-2-pirrolidona) - fornecido pela LabSynth;

4.1. Obtenção do HMSPP

A escolha do HMSPP obtido por irradiação foi baseada na literatura, onde destacam-se diversos métodos de obtenção de um PP ramificado. Além do uso da irradiação é também obtido por reação de peróxidos via processamento de extrusão reativa. Nesse caso a maior desvantagem é o processo de degradação causado durante o processamento e também pela possibilidade, ao final do processo, da presença de resíduos químicos, o que pode comprometer o produto final. No caso do HMSPP obtido por irradiação gama, processo que é utilizado o gás de acetileno como agente reticulante, a irradiação gama como fonte de energia limpa para o processo de reticulação. O produto final é um polímero com longas cadeias ramificadas e reticulado, e como consequência com melhores propriedades reológicas e que também é livre de produtos químicos residuais.

O processo para a obtenção do HMSPP foi seguido o método descrito nos trabalhos de Otaguro, Lugão e Komatsu [13, 14, 15], em que o PP foi colocado em um recipiente plástico e adicionado gás de acetileno. O processo de adição do gás de acetileno foi conduzido por mais duas vezes para garantir que a maior parte dentro do recipiente fosse de gás preenchido. Após este processo, o iPP foi irradiado em uma fonte de ^{60}Co , taxa de dose de 10 kGy/h, na dose de 12,5 kGy. O processo pós reator foi estabelecido por tratamento térmico a 90 °C para uma recombinação dos radicais residuais.

4.1.1. Síntese do Óxido de Zinco (ZnO)

O método para obtenção das nanopartículas de ZnO foi seguido e adaptado do método descrito por de Riella e colaboradores [49], em que a produção das nanoestruturas de ZnO foi utilizado um balão de dois gargalos e agitação magnética e com controle de temperatura, **Figura 5**. No balão de dois gargalos, o NaOH foi dissolvido em água deionizada e a solução resultante foi aquecida, sob constante agitação, na temperatura de 70 °C. Após atingir esta temperatura, a solução de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foi vagarosamente adicionada no balão de dois gargalos contendo a solução aquosa de NaOH sob agitação contínua. Nesse procedimento a temperatura foi constantemente mantida em 70 °C. A suspensão formada com o gotejamento da solução de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ na solução alcalina aquosa foi mantida por duas horas na temperatura de 70 °C. O material formado foi filtrado e lavado diversas vezes com água desionizada até que o pH fosse neutro. O pó resultante foi secado à temperatura de 65 °C até a evaporação total da solvente.



Figura 5 - Síntese das nanopartículas de óxido de Zinco

4.1.2. Síntese do TiO_2/Ag e ZnO/Ag

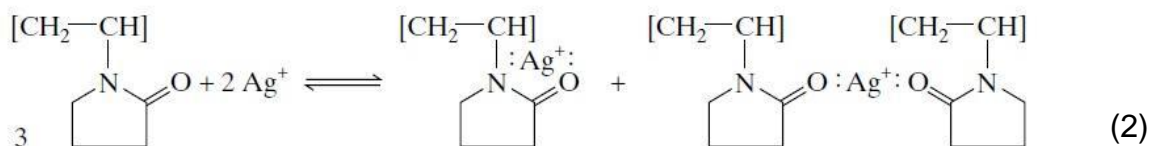
Um dos primeiros métodos introduzidos para a síntese de nanopartículas foi o método de Turkevich para a preparação de nanopartículas de ouro. Neste método basicamente envolve o aquecimento da solução diluída de HAuCl_4 até o seu ponto de fervura, seguido da redução com citrato de trisódio. As partículas resultantes são bem uniformes, com o diâmetro aproximado de 20nm. Este mesmo método pode ser usado para se reduzir o nitrato de prata, entretanto as partículas formadas são grandes e não tão uniformes [50].

É relatada na literatura a possibilidade de utilizar-se o PVP, polivinilpirrolidona, como agente redutor e, dependendo da forma que é realizado a razão precursor metálico/PVP, o tamanho e forma da nanopartícula pode ser ajustado para um tamanho nanométrico. O PVP pode também ser utilizado como um protetor ou *core-shell*, dessa forma prevenindo o processo de aglomeração das nanopartículas metálicas [50].

No trabalho desenvolvido por Zhang e colaboradores [51] foi proposto um possível mecanismo de como o PVP interage com os íons de prata. O PVP possui uma estrutura de polivinil com grupos polares, como apresentado na Fórmula 1 a seguir:



Nessa fórmula o n representa o número de polimerização. Os pares de átomos de nitrogênio e oxigênio nos grupos polares de uma unidade de PVP podem ocupar dois orbitais sp dos íons de prata para desta forma compor um complexo de PVP/Ag. Em paralelo, devido os orbitais sp formar uma ligação coordenada linear, 1 mole de PVP e 1 mol de íon de prata podem formar 1 mole complexo de PVP/Ag, o que pode resultar na Fórmula 2 a seguir:



O método foi adaptado de Oliveira [52], onde as nanopartículas de TiO_2 (Degussa P25), AgNO_3 , citrato de Sódio e PVP são empregadas. Este processo foi realizado em temperatura ambiente e sob agitação magnética. A solução de nitrato de prata foi aquecida até a temperatura de fervura e depois o citrato de sódio foi adicionado, **Figura 6**. Após 50 minutos, a solução de PVP foi adicionada. Então, o TiO_2 foi disperso em água deionizada e adicionado na solução de Ag resultando na suspensão estabilizada de nano-Ag/ TiO_2 . As amostras foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido e o sólido restante foi secado em um dessecador até que todo solvente fosse evaporado/absorvido pela sílica.

Para a síntese do ZnO/Ag, o método utilizado foi o mesmo que o utilizado para o sistema TiO₂/Ag, a partir do ZnO conforme descrito na seção anterior. O ZnO sintetizado foi disperso em água deionizada e depois adicionado da solução de Ag resultando na suspensão estabilizada de nano-Ag/ZnO. O método de secagem foi o mesmo descrito na síntese de TiO₂/Ag.



Figura 6 - Síntese das nanopartículas de dióxido de titânio com prata

4.2. Formulações

As formulações foram desenvolvidas seguindo trabalhos anteriores [15] e a patente US. 8.975.323 – *UV Laver Markable Thermoplastic Elastomer Compound* e as composições estão representadas na **Tabela 1** em quantidades respectivas de nanopartículas.

Tabela 1 - Legenda das Formulações com as nanopartículas utilizadas

Nanopartícula/ Concentração	HMSPP/%	SEBS/%	Óleo/%	Anti Oxidante/ %	PP-g- AM/%
-	75	10	15	1	1
TiO ₂ - 1%	75	10	15	1	1
TiO ₂ - 0,3%	75	10	15	1	1
TiO ₂ /Ag - 1%	75	10	15	1	1
TiO ₂ /Ag - 0,3%	75	10	15	1	1
ZnO - 1%	75	10	15	1	1
ZnO - 0,3%	75	10	15	1	1
ZnO/Ag – 1%	75	10	15	1	1
ZnO/Ag - 0,3%	75	10	15	1	1

4.2.1. Processamento dos filmes e da Blenda de SEBS/HMSPP

Para processamento das composições e da blenda foi utilizada a extrusora de dupla rosca Thermo Haake Polymer Lab, **Figura 7**. Foi empregada uma matriz de fio de diâmetro de 4 mm. As temperaturas utilizadas nas zonas de aquecimento foram de 160 a 210°C em seis zonas de

aquecimento. A velocidade da rosca foi de 100 rpm e a velocidade de alimentação foi de 10% em relação à velocidade da rosca (dado retirado do próprio equipamento). O material extrudado foi resfriado e na sequência picotado.

A blenda obtida foi separada em recipientes plásticos e em cada recipiente foi adicionado a quantidade de nanopartícula desejada para o estudo, **Tabela 1**. Para a obtenção dos filmes para os ensaios de ação biocida, foi utilizada a extrusora mono rosca com acessório para extrusão balão, Thermo Haake Rheomex 322p, **Figura 8**, com temperatura de 160 a 195 °C em 5 zonas de aquecimento e velocidade de 40 rpm. A espessura final dos filmes para os testes foi de aproximadamente 0,07 mm.



Figura 7 - Extrusora de Dupla-Rosca Thermo Haake Polymer Lab.



Figura 8 - Extrusora Mono-Rosca Thermo Haake Rheomex 322p com acessório para extrusão balão.

4.3. Métodos de Caracterização

4.3.1. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise foi realizada no equipamento Mettler-Toledo/822, sob atmosfera de nitrogênio de 50 mL min^{-1} a uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, nas temperaturas de -30 a 220°C , mantendo-se em 220°C durante 5 min; resfriamento de 220 a -30°C a uma taxa de resfriamento de $-50^\circ\text{C min}^{-1}$ e de -30 até 220°C a taxa de reaquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ em atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}). As amostras de polímeros de cerca 8-12 mg foram colocadas em cápsulas de alumínio e vedadas. A cristalinidade foi calculada seguindo a fórmula (1):

$$X_c = P \times \frac{\Delta H_f \times 100}{\Delta H_0} \quad (1)$$

Em que: ΔH é a entalpia de fusão e P é a fração de PP na amostra.

4.3.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

As amostras foram recobertas pelo método *sputtering* com ouro para o MEV e as análises realizadas no equipamento Tabletop Hitachi TM 3000, **Figura 9**.

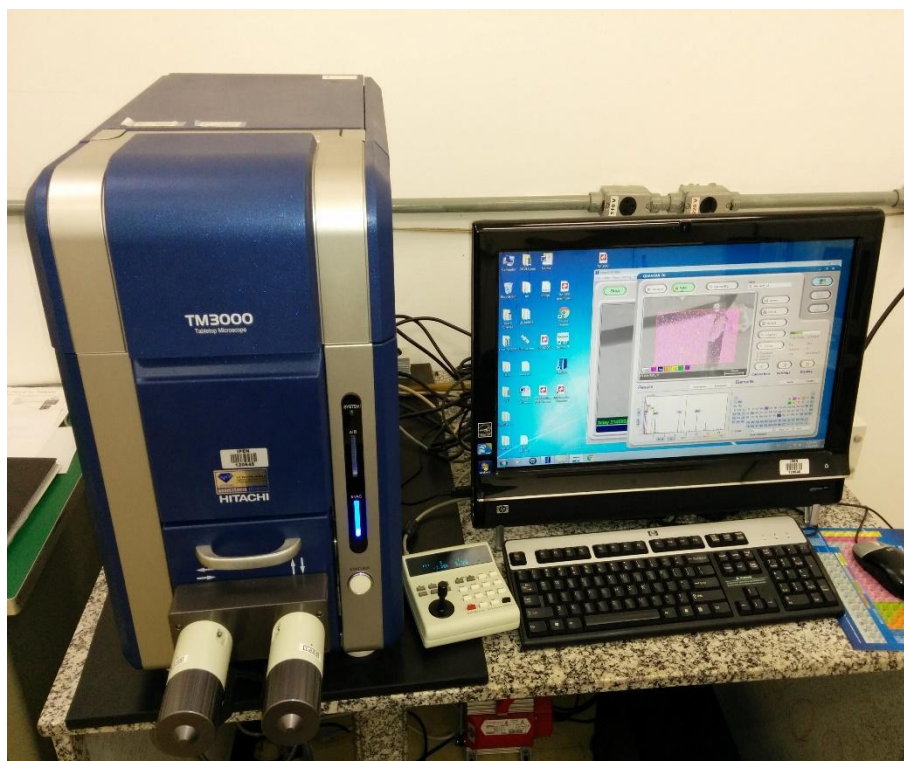


Figura 9 - Equipamento Tabletop Hitachi TM 3000 com módulo de EDS

4.3.3. Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

Para análise das partículas, a superfície das telas de cobre de TEM foram polarizadas utilizando o equipamento Pelco easiGlow, **Figura 10**. Esta técnica foi utilizada para melhor adesão das partículas à superfície da tela. A tensão utilizada foi de 15 mA durante o tempo de 30 segundos.

As micrografias de TEM foram realizadas no equipamento JEOL JEM – 2100.



Figura 10 -Equipamento Pelco easiGlow utilizado para a preparação das telas de cobre de TEM

4.3.4. Análise de Luz Dinâmico e Potencial Zeta

As medidas de DLS e potencial Zeta foram realizadas no equipamento ZetaSizer Nano Zs da Malvern, **Figura 11**. Para realizar as medidas, as amostras foram dispersas em água e sonicadas.

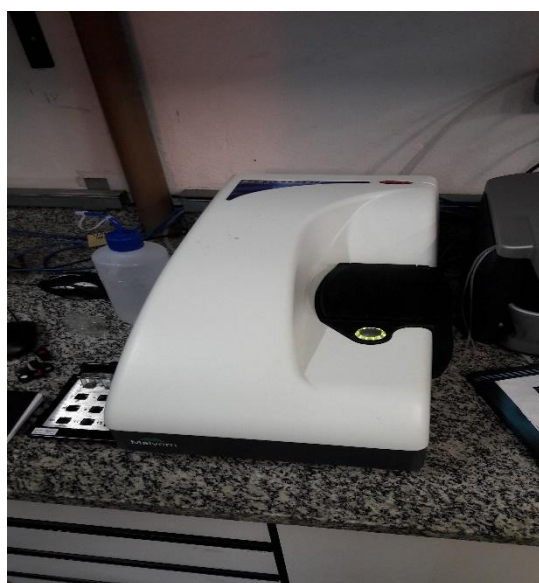


Figura 11 - Equipamento Zeta Sizer Nano Zs da Malvern

4.3.5. Espalhamento Raman

O equipamento utilizado foi o Espectrômetro de Raman de bancada da InPhotonics, **Figura 12**. Os espectros foram obtidos em tempo de exposição de 30 segundos e com 60% de potência.



Figura 12 - Espectrômetro de Raman InPhotonics

4.3.6. Testes Biocidas

Uma variedade de métodos internacionais está disponível para se realizar os testes de susceptibilidade de diversos polímeros para o crescimento microbiológico e que verificam e demonstram a efetividade do possível material biocida na prevenção do crescimento e colonização de microorganismos. As técnicas de placa de ágar avaliam o crescimento de microorganismos no teste em plásticos e também ao redor da placa de ágar. A zona que não há crescimento (zona de inibição) pode indicar o efeito do material biocida. [53].

Os testes biológicos e de atividade bactericida seguiram as normas:

Para as partículas: INCQS 65.3210.006 – Método da avaliação das atividades bacteriostática e fungistática de saneantes e substâncias preservativas;

Para os filmes: JIZ 2801:2010 - Antimicrobial products – Tests for antimicrobial activity and efficacy – Japanese Industrial Standard.

Os microrganismos utilizados para os testes foram *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Aspergillus niger* ATCC 6275e *Candida albicans* ATCC 10231.

No caso dos filmes, foram avaliadas as propriedades biocidas antes e após o processo de esterilização por irradiação gama (γ). Este processo de irradiação foi realizado da seguinte forma: os filmes foram colocados em recipientes plásticos e selados para evitar contaminação durante o transporte das amostras. A dose escolhida para irradiação e esterilização foi de 12,5 kGy, a taxa de dose foi de 10 kGy/h.

5. Resultados e discussões

5.1. Caracterização das partículas

5.1.1. Análise de DLS e Potencial Zeta

A síntese de nanopartículas utilizando-se o método de redutores, como o método de Turkevich, resulta na utilização de diversos tipos de ligantes, estabilizantes ou *core-shell*, como no caso foi utilizado o PVP. Para o sucesso da obtenção de nanopartículas, as etapas de redução, crescimento e por fim a estabilização ou *core-shell* devem ser controladas, quanto a temperatura e velocidade do agitador magnético.

A medida de DLS e a determinação do valor de potencial zeta de cada partícula foi empregada para melhor aprimoramento do processo de síntese, como controle de temperatura, que no caso foi mantida em aprox. 80 °C e o controle da rotação do agitador magnético, que foi mantido em 70% de rotação; até a obtenção de uma nanopartícula de dimensão próxima de 100 nm, os dados são apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2 - DLS e Potencial Zeta da partículas sintetizadas

Amostra	Tamanho de partícula (nm)	Zeta (Mv)
TiO ₂ /Ag	139,4	-37,5
	144,3	-37,3
	142,5	-37,7
ZnO	150,6	-21,8
	180,7	-21,7
	140,4	-21,2

No sistema TiO₂/Ag, as partículas apresentaram tamanho próximo de 100 nanômetros dispersas em solvente, que no caso para o ensaio foi utilizado a água Mili-Q. Para este estudo este tamanho foi considerado satisfatório para os próximos ensaios a serem realizados, uma vez que mesmo a nanopartícula possuindo mais de um elemento em seu conjunto, TiO₂ e Ag, estes se mantiveram em um tamanho nanométrico.

Enquanto que, no ZnO, o processo de síntese é rápido em comparação ao processo de síntese do TiO₂/Ag, que também teve a sua temperatura controlada em 60°C e com a velocidade do agitador magnético em 80%, além disso, a mesma síntese de ZnO é possível se obter diferentes tamanhos e formatos de partícula, utilizando-se NaOH como agente redutor no Zn(NO₃)₂·6H₂O.

5.1.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão - TEM

Nas micrografias de TEM, foi investigado como as partículas estavam em seu aspecto visual, quanto formato e se o que foi observado na análise de DLS, não se tratava de aglomerados de partículas. Na **Figura 13 e 14**, estão representadas as micrografias de TEM das partículas de TiO₂/Ag e ZnO/Ag.

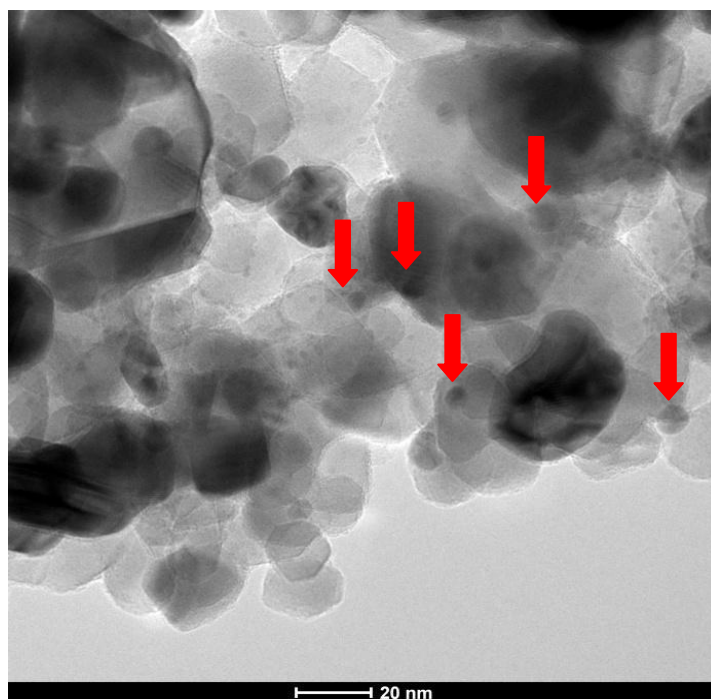


Figura 13 - Micrografia de TEM da partícula de TiO₂ dopada com Ag

Observa-se que na **Figura 13**, a nanopartícula de TiO_2/Ag é uma partícula nanométrica, entretanto na análise de DLS foi observado um aglomerado, e na análise de TEM foi constatado que este aglomerado possui diversas partículas de tamanhos próximos a 20 nm, o que confirma que satisfatoriamente foi obtido um nanocompósito de TiO_2/Ag e além disso, formatos esféricos de nanopartícula, destacados com as setas em vermelho. Na **Figura 14** este fenômeno também ocorre.

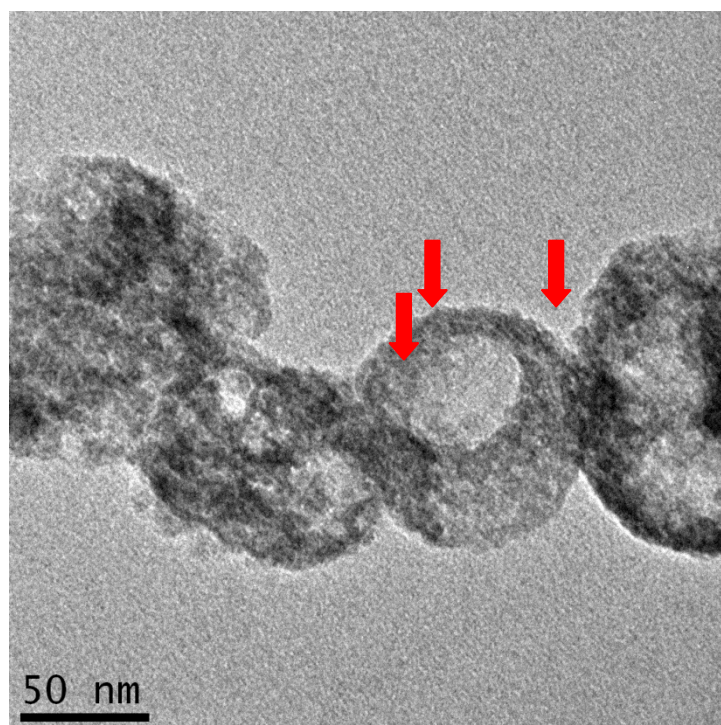


Figura 14 - Micrografia de TEM da partícula de ZnO dopada com Ag

Na **Figura 14**, observa-se a partícula de ZnO/Ag na forma esférica e também com as nanopartículas de Ag no formato esférico na superfície do ZnO. Nessa figura podemos confirmar que a primeira síntese de ZnO, utilizando o NaOH como agente redutor, conduziu a formação de nanopartículas de ZnO com formato esférico e com superfície porosa, que por sua vez quando foi dopada com a Ag, esta se alocou nestes poros, como indicado nas setas em vermelho na **Figura 14**.

5.1.3. Ensaios verificação de atividade biológica

Na sequência dos estudos das partículas de ZnO, ZnO/Ag, TiO₂ e TiO₂/Ag foram submetidas aos testes microbiológicos com os microrganismos *S. aureus*, *E. coli*, *C.albicans* e *A.niger*.O crescimento de halo de inibição foi observado nas **Figuras de 15 a 18** e medido analisando-se a placa de ágar com a nanopartícula no centro da placa de petri e a circunferência da zona de inibição que é formada em volta da nanopartícula, este resultado foi quantificado e disposto na **Tabela 3**.

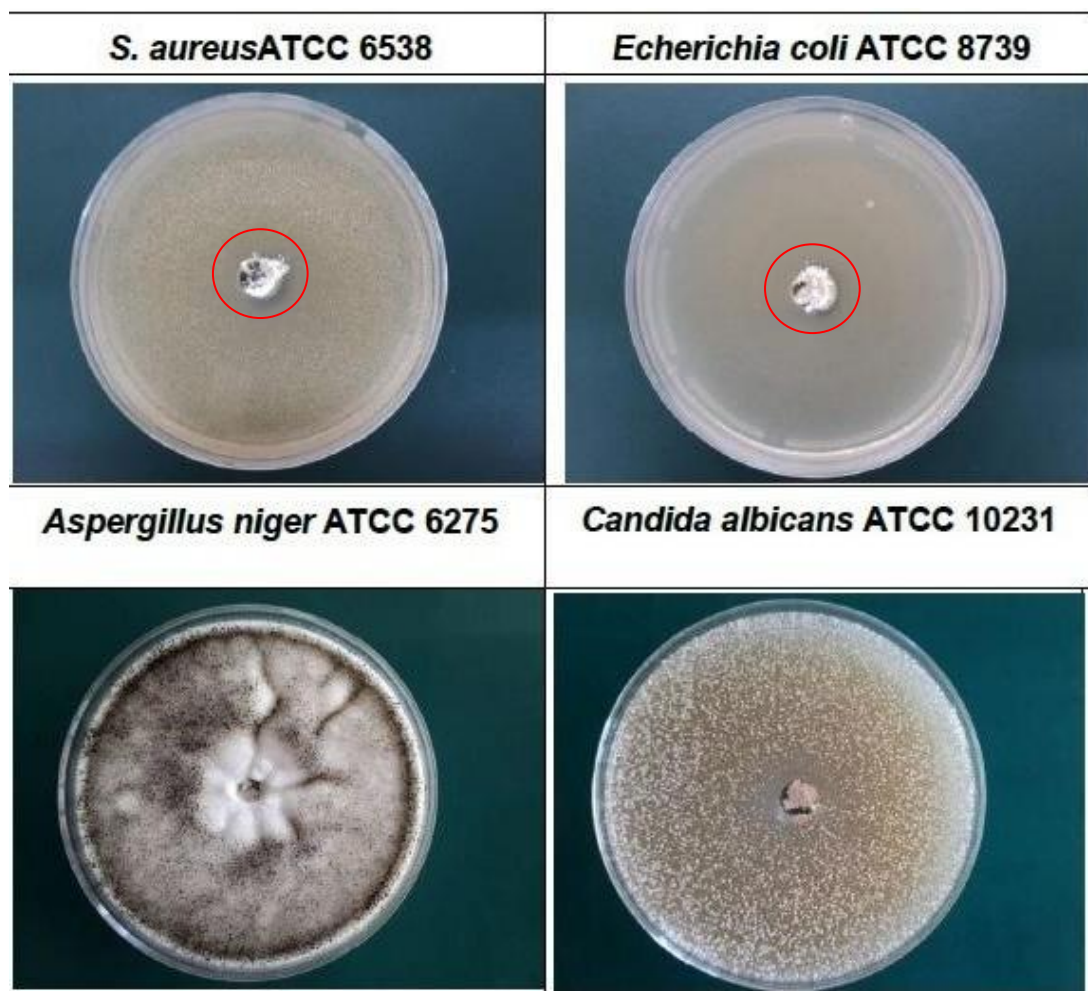


Figura 15 - Placa de ágar da partícula de ZnO submetida ao teste seguindo a norma INCQS 65.3210.006 (ControlBio, 2019)

Observa-se na **Figura 15** a formação de halo de inibição utilizando-se a nanopartícula de ZnO somente em relação a duas bactérias, *S. aureus* e *E. coli*, este halo está destacado com uma circunferência vermelha onde é o limite do halo de inibição.

O resultado observado na nanopartícula de ZnO, existe a possibilidade da presença de íons Zn^{+2} na superfície das partículas sintetizadas. De acordo com a literatura [28] este íon interage com a membrana das bactérias ocasionando na morte celular.

Outros mecanismos de atividade biocida foram destacados na literatura como sendo: efeito da morfologia para deformação física da célula da bactéria [20] e a geração de ROS, ocasionando na formação dos três tipos de ROS ($\cdot OH$, 1O_2 , $O_2^{\cdot -}$) contribuem para um maior stress oxidativo em sistemas biológicos, causando assim a morte celular [38].

Uma outra possibilidade de mecanismo da atividade biocida é a geração de peróxidos de hidrogênio como também fator para morte da bactéria. A acumulação das partículas na superfície da bactéria, devida às forças eletrostáticas, contribui com a atividade biocida [54].

A mesma metodologia foi realizada na nanopartícula de ZnO/Ag apresentada na **Figura 16**.

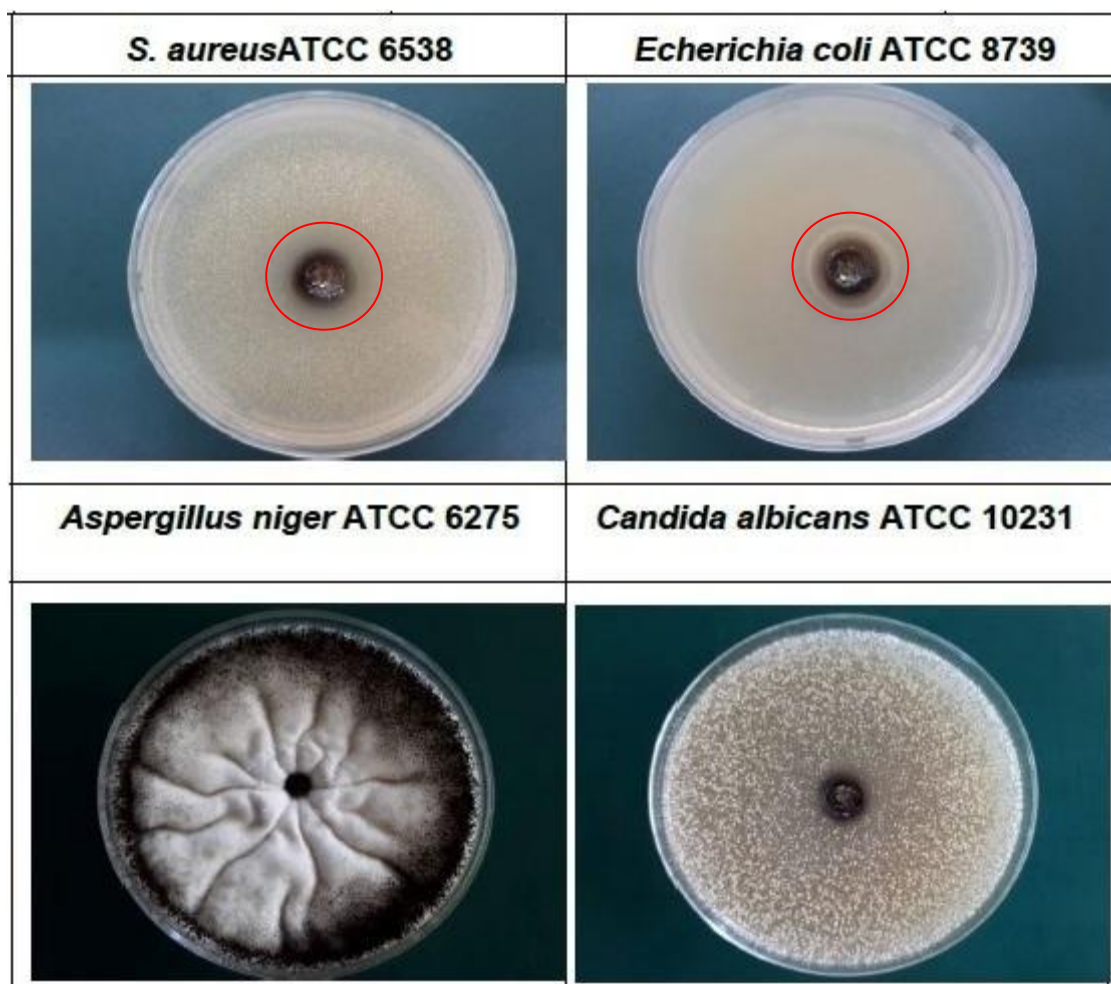


Figura 16 - Placa de ágar da partícula de ZnO/Ag submetida ao teste seguindo a norma INCQS 65.3210.006 (ControlBio, 2019)

Na **Figura 16**, na nanopartícula de ZnO/Ag observa-se um halo de inibição maior que o da nanopartícula de ZnO (Figura 15). Esse resultado pode ser atribuído à presença de prata para melhorar as propriedades biocidas no ZnO. Observa-se também que o halo de inibição da nanopartícula de ZnO/Ag na bactéria *E. coli* é maior quando comparada ao formado da bactéria *S.aureus*.

Este efeito é devido a prata dentro do sistema possuir outras formas, sendo uma delas a Ag^0 , que é a forma que possibilita efeito bactericida tanto em ambiente claro (luz UV) quanto em ambiente escuro.

Para este caso, a literatura cita [55] que os íons de Zn^{2+} e Ag^+ podem ser liberados de suas respectivas nanopartículas. Estes íons podem ter como alvo diferentes famílias de proteínas e dessa forma inativa-as. O íon de Ag^+ pode combinar aos íons de cloreto e precipitar na forma de cloreto de prata, inibindo a respiração celular. O zinco pode se ligar às membranas e alterar a sua permeabilidade nas células, enquanto que os íons de Ag^+ podem inibir a replicação de DNA, como também citado em outra literatura [56], em que a atividade da prata é correlacionada ao fato se ligar com o DNA e com as proteínas, afetando o processo de respiração e destruindo assim a membrana externa da bactéria o que resulta na morte da bactéria.

O resultado observado no ZnO/Ag, também foi observado na literatura no trabalho de Wu e Kao [57], onde as nanopartículas de Ag/ZnO demonstraram atividade biocida sob condições de ambiente escuro.

Nas **Figuras 17 e 18** estão representadas as placas de ágar onde foram ensaiadas as nanopartículas de TiO_2 e TiO_2/Ag . Na placa de ágar da nanopartícula de TiO_2 (**Figura 17**) não foi observado crescimento de halo de inibição, enquanto que na nanopartícula de TiO_2/Ag foi observado crescimento de halo ao redor da amostra de nanopartículas colocada sobre o cultivo de bactérias.

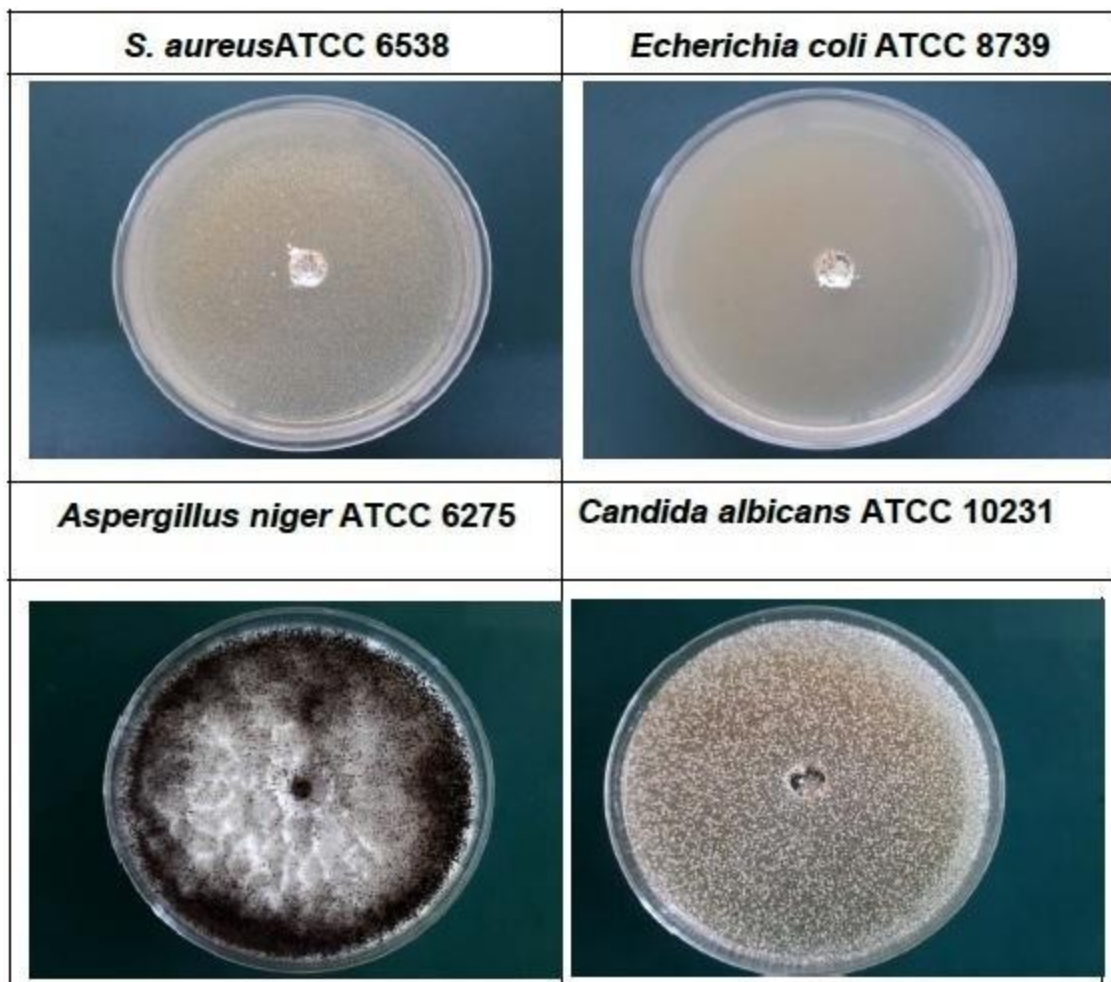


Figura 17 -- Placa de ágar da partícula de TiO_2 submetida ao teste seguindo a norma INCQS 65.3210.006 (ControlBio, 2019)

O TiO_2 , **Figura 17**, não foi observado a formação de halo de inibição. Para o TiO_2 , alguns estudos têm revelado a sensibilidade dos microrganismos aos radicais hidroxila produzidos ao final do processo de fotocatalise [33]. Isso sugere que microrganismos diferentes respondem diferentemente ao TiO_2 devido às estruturas diferentes, particularmente na complexidade e espessura das camadas das células das bactérias. Na literatura [58], sugere-se que o processo de fotocatalise também é acompanhado de um processo de peroxidação dos lipídios, o que causa um aumento da fluidez e uma ruptura da integridade da célula.

O ensaio é realizado em ambiente com ausência de luz e para que o titânio inicie o processo de fotocatalise é necessária uma fonte de luz com

energia maior que a sua *band-gap*. Por esse motivo não foi possível observar os efeitos bactericidas no TiO_2 .

Por outro lado, quando a prata foi adicionada ao TiO_2 , foi observada a formação de halo de inibição nas bactérias *S. aureus* e *E. coli* representadas na **Figura 18** e destacada com a circunferência em vermelho, na figura.

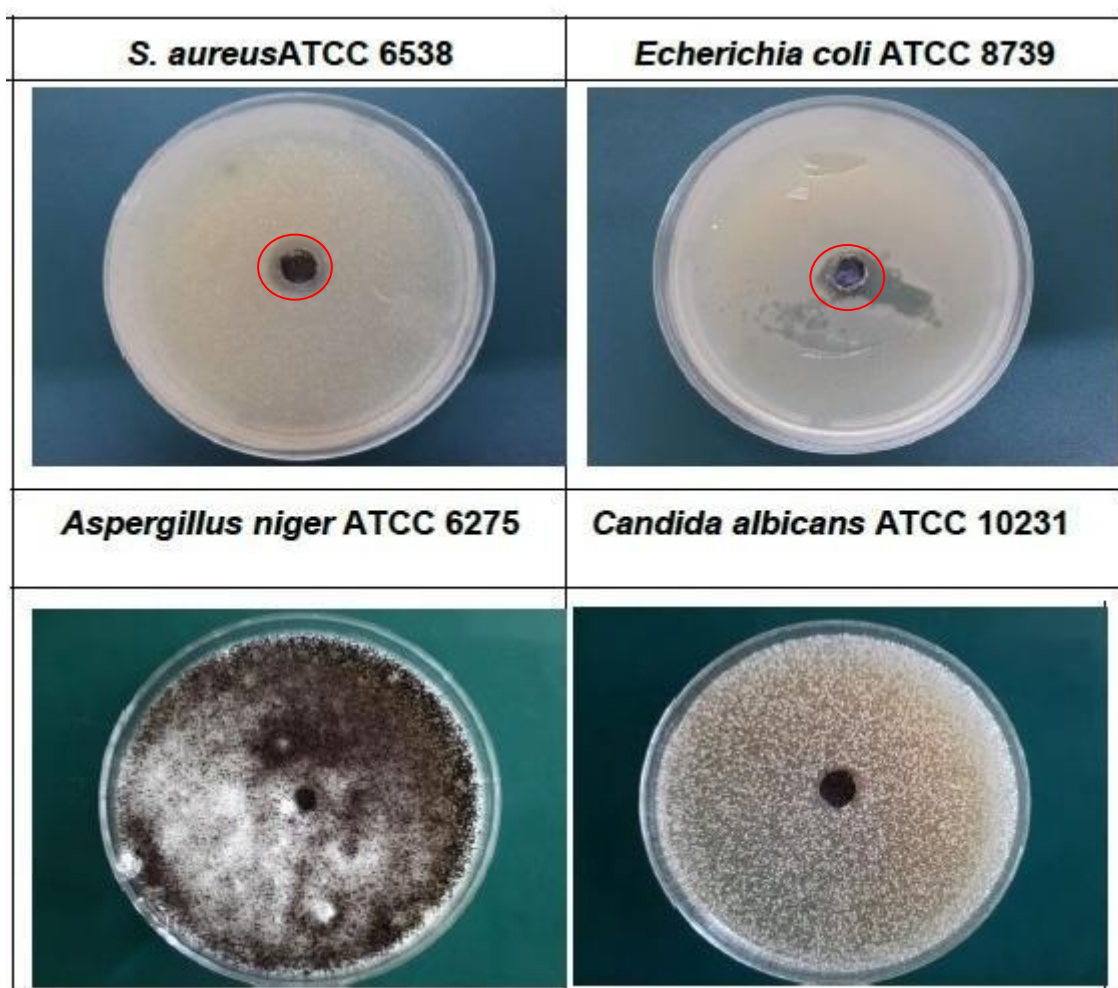


Figura 18 - Placa de ágar da partícula de TiO_2/Ag submetida ao teste seguindo a norma INCQS 65.3210.006 (ControlBio, 2019)

Observando a **Figura 18**, no sistema TiO_2/Ag fica evidente a atuação da prata como um intensificador no que tange às propriedades biocidas. É interessante destacar que a presença da prata altera significativamente as

propriedades biocida, comparando-se o TiO_2 ao TiO_2/Ag . O mesmo resultado foi observado anteriormente na **Figura 16**, no sistema ZnO/Ag .

Os halos de inibição observados foram medidos e dispostos na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Partículas sintetizadas submetidas ao teste microbiológico pelo crescimento de halo (mm) segundo a norma INCQS 65.3210.006

Amostra	<i>S. aureus</i> ATCC 6538/ halo(mm)	<i>E. coli</i> ATCC 8739/ halo(mm)	<i>C. albicans</i> ATCC 10231/ halo(mm)	<i>A. niger</i> ATCC 6275/ halo(mm)
ZnO	2	2	0	0
ZnO/Ag	3	4	0	0
TiO_2	0	0	0	0
TiO_2/Ag	2	2	0	0

Foi observado nas **Figuras de 15 a 18** e na **Tabela 3**, que todas as partículas sintetizadas: ZnO, ZnO/Ag, TiO_2 e TiO_2/Ag , não tiveram ação quando expostas aos fungos *C. albicans* e *A. niger*. Alguns motivos estão relacionados:

- 1) A *C. albicans* é um fungo responsável pela formação de biofilmes e o principal causador de candidíase, uma das mais frequentes infecções no mundo. Este fungo é composto por uma conglomeração de materiais exopoliméricos e que também incluem polissacarídeos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos; que envolvem a estrutura por completo e confere a proteção necessária para uma variedade de antifúngicos. Entretanto a função clínica a ser destacada é a resistência a remédios antifúngicos. Esta resistência se deve a presença de neutrófilos que não

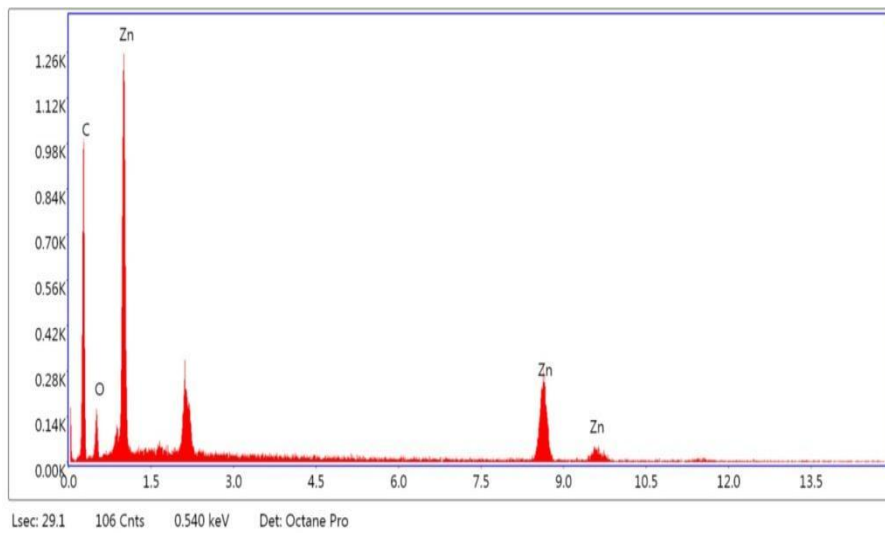
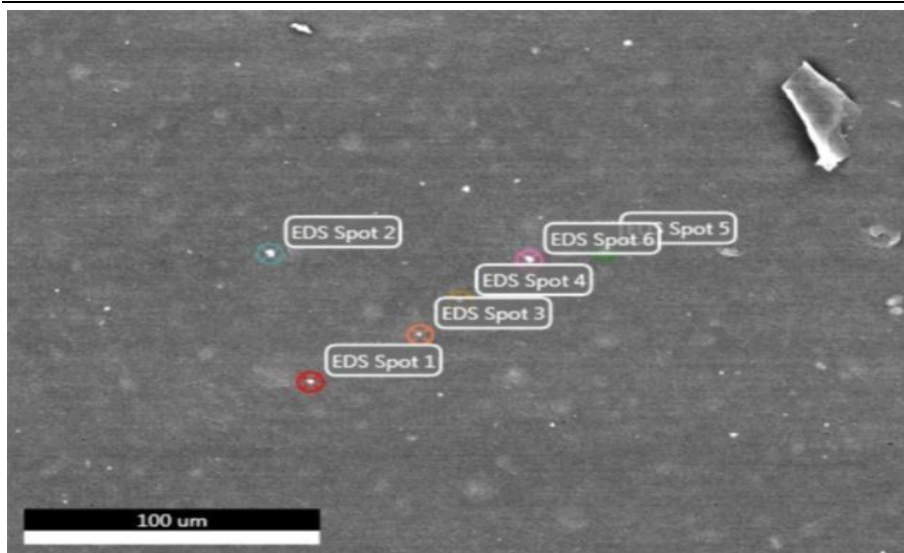
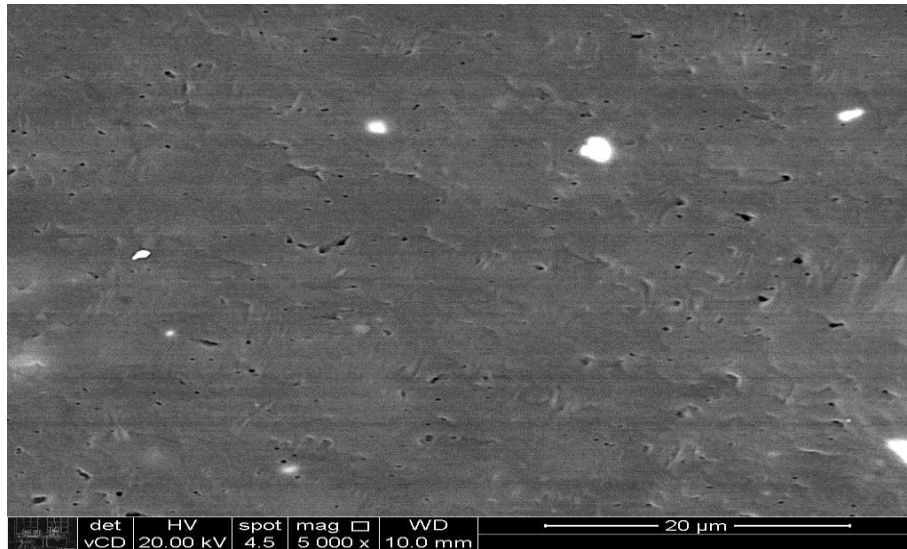
permitem a formação de ROS (sítios reativos de oxigênio), que é o principal mecanismo de inibição do ZnO, ZnO/Ag, TiO₂, TiO₂/Ag. [59].

- 2) Com a *A. niger*, o mecanismo de inibição pode ser atribuído à formação de compostos insolúveis pela inativação dos grupos funcionais da parede celular do fungo e a destruição da membrana de ligação das enzimas e lipídios causando assim a morte da célula. Por outro lado, a *A. niger* é muito utilizada na forma de extrato para redução da prata Ag⁺ para Ag⁰. Esta reação ocorre nas proteínas extracelulares que são excretadas/liberadas pelo fungo. [60]

5.2 . Caracterização dos nanocompósitos

5.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

Nas micrografias de MEV observou-se a superfície do filme, **Figura 19 e 20**, e **Tabelas 4 a 7**, onde estão representadas as concentrações dos elementos identificados no EDS das amostras de filmes.



(a) ZnO

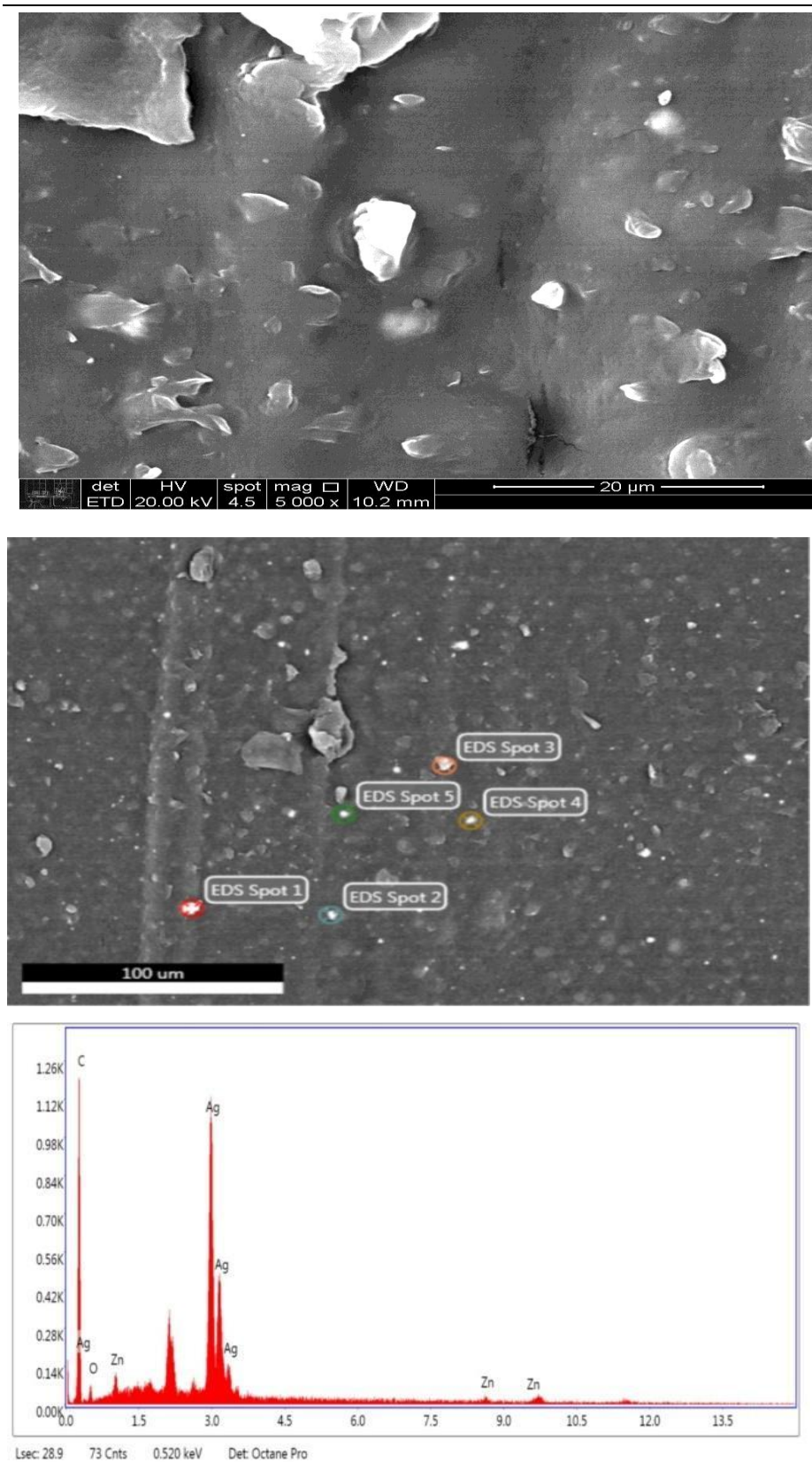
**(B) ZnO/Ag**

Figura 19 - Micrografia de MEV da superfície do filme da blenda de HMSPP/SEBS com (A) ZnO e (B) ZnO/Ag (o autor, 2019)

Tabela 4 - Concentração dos elementos encontrados no filme de HMSPP com 1% de ZnO

Elemento	Concentração/%
C	59,31
O	8,35
Zn	8,31

Tabela 5 - Concentração dos elementos encontrados no filme de HMSPP com 1% de ZnO/Ag

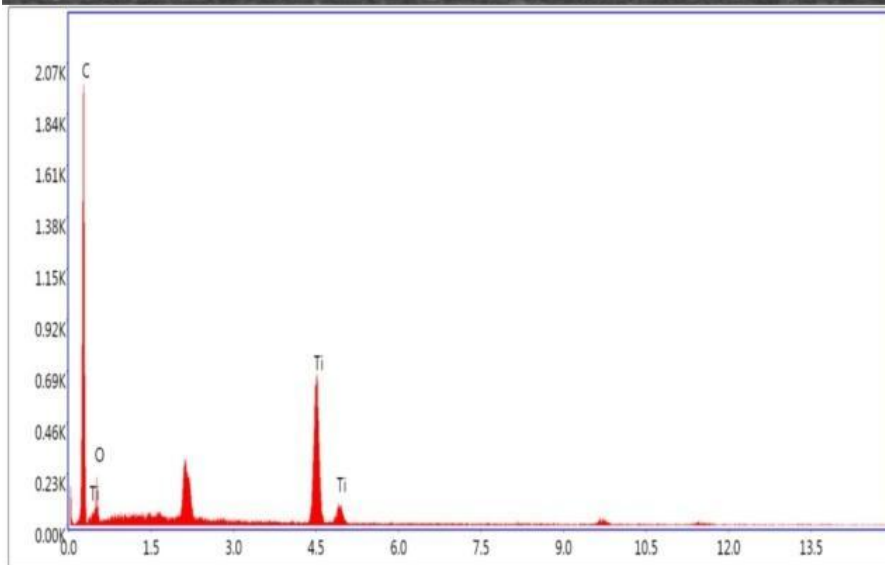
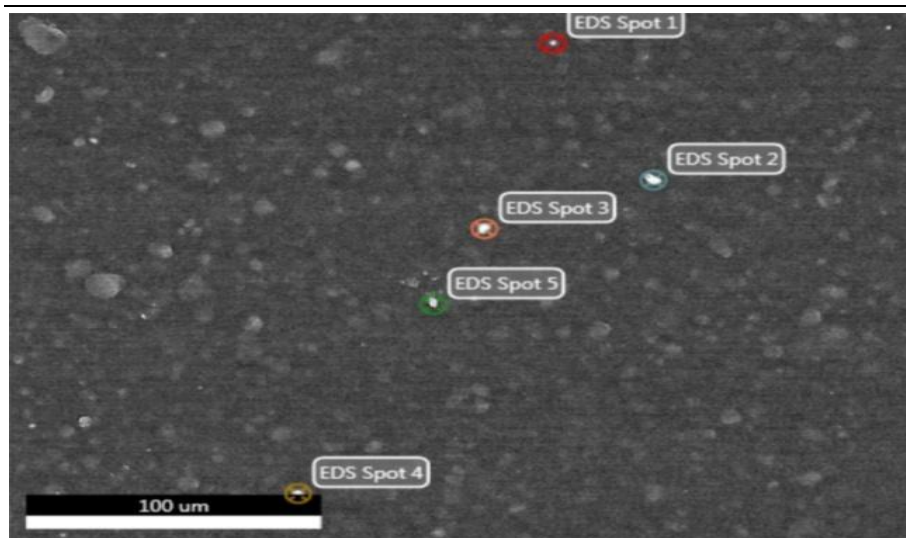
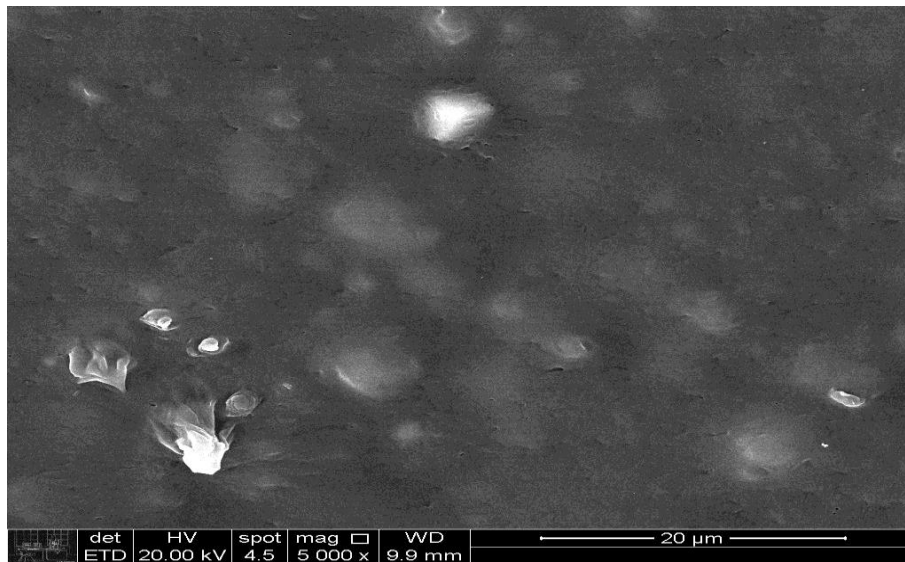
Elemento	Concentração/%
C	41,05
O	4,65
Ag	11,11
Zn	1,29

Nos filmes com ZnO e ZnO/Ag, **Figura 19**, observa-se a superfície irregular em comparação com filmes de TiO₂ e TiO₂/Ag, **Figura 20**. Esta característica do filme se assemelha com o conceito de “*shark skin*”.

Shark skin é uma superfície que possui a morfologia da superfície formada por microplacas que são nomeadas de escamas placóides ou dentículos dérmicos. Para o caso de filmes nanoestruturados com estas características é benéfico, pois é possível da nanopartícula se alojar nas pontas destas escamas placóides aumentando assim a ação biocida das nanopartículas nos filmes [7].

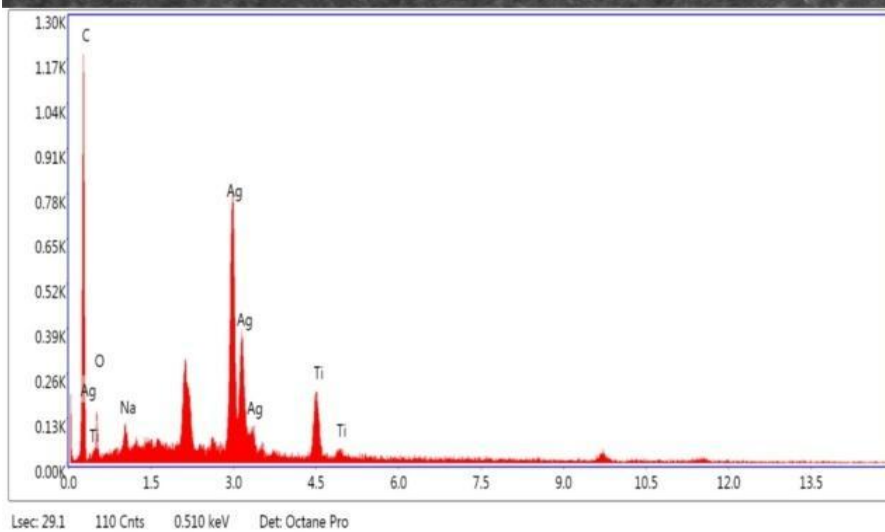
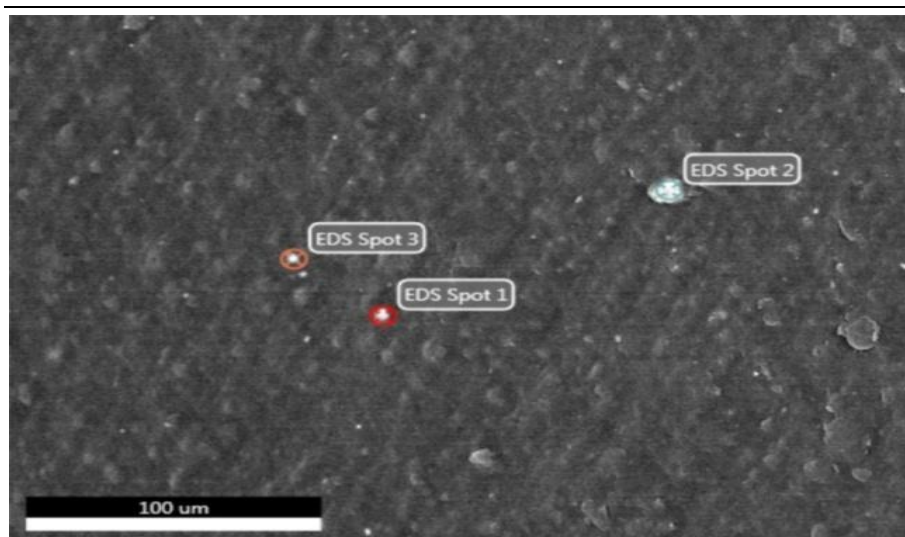
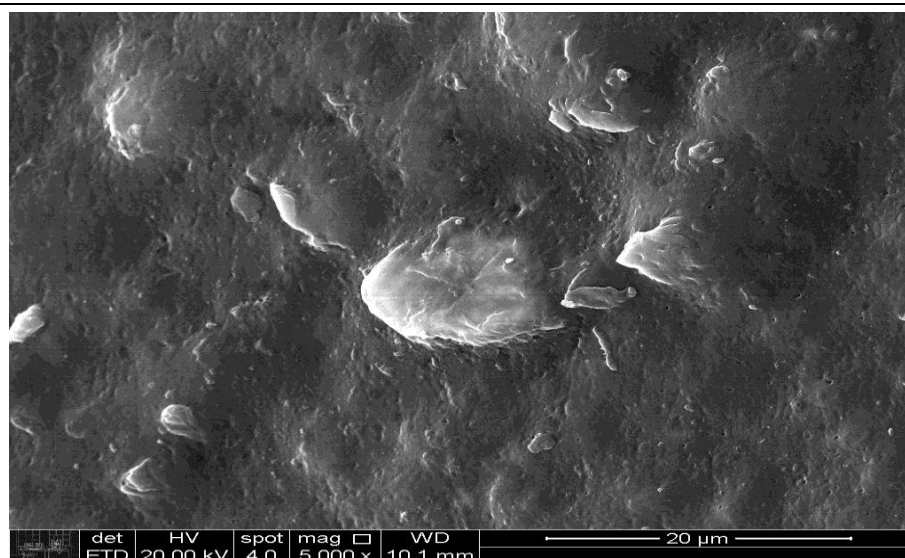
Esta característica é corroborada com a análise de EDS, tabela 4 e 5, onde foi possível observar que há uma concentração de partículas nos pontos destacados como *shark skin*.

Na **Figura 20** está representado o MEV e EDS do filme de TiO₂ e TiO₂/Ag onde também foi possível observar a formação de *shark skin* e nas tabelas 6 e 7 a concentração de elementos retirados da análise de EDS.



Lsec: 29.2 16 Cnts 2.670 keV Det: Octane Pro

(A)TiO₂



(B)TiO₂/Ag

Figura 20 - Micrografia de MEV da superfície do filme da blenda de HMSPP/SEBS com (A) 1% de TiO₂ e (B) 1% de TiO₂/Ag (o autor, 2019)

Tabela 6 - Concentração dos elementos encontrados no filme de HMSPP com 1% de TiO₂

Elemento	Concentração/%
C	62,29
O	16,53
Ti	6,20

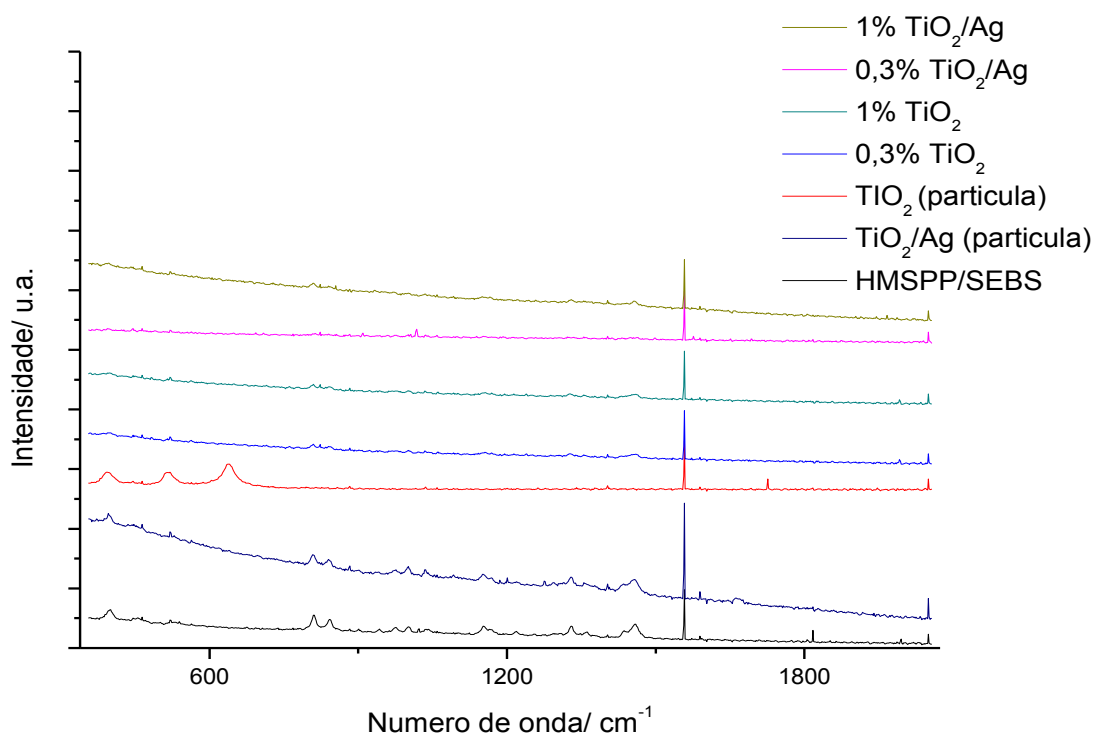
Tabela 7 - Concentração dos elementos encontrados no filme de HMSPP com 1% de TiO₂/Ag

Elemento	Concentração/%
C	41,17
O	12,97
Ag	6,39
Ti	8,14

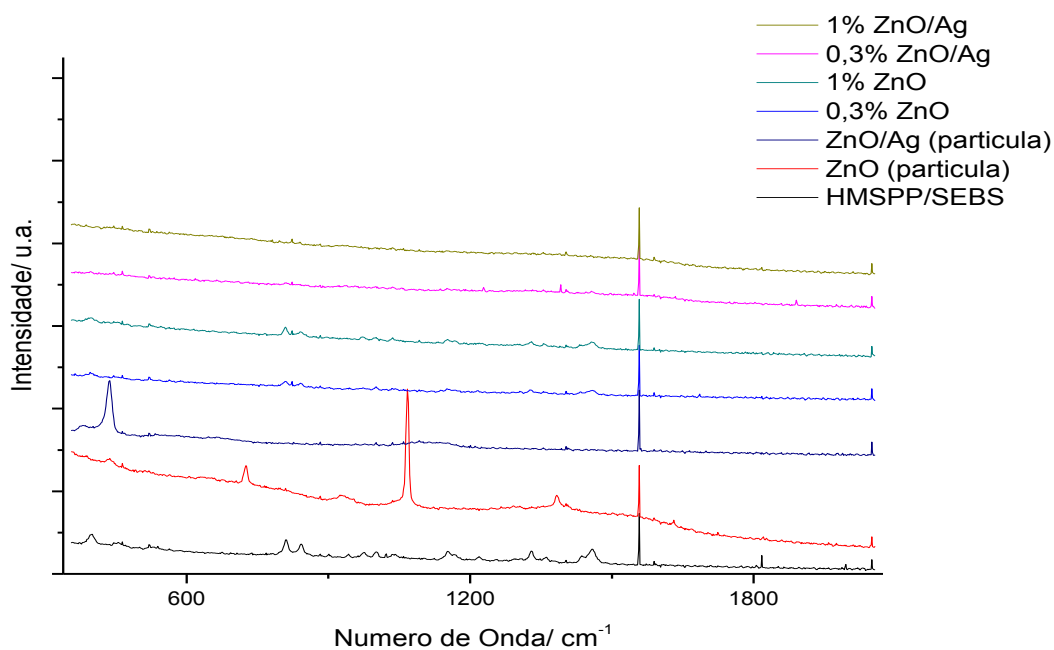
Na **Figura 20**, além da observação do “shark skin”, nota-se uma concentração de partículas metálicas nesses pontos. O espectro de EDS realizado no MEV, valores representados nas **Tabelas 6 e 7**, confirmam a presença das partículas próximas à superfície, corroborando desta forma os resultados que serão observados nos ensaios biocidas. É possível correlacionar a formação destes aglomerados com o fato de que o SEBS induz à formação de aglomerados [23].

5.2.2. Espectroscopia de Raman

São apresentados os espectros de Raman dos filmes com as partículas de ZnO, ZnO/Ag, TiO₂ e TiO₂/Ag nas **Figura 21**.



(A) TiO_2 e TiO_2/Ag (Filme)



(B) ZnO e ZnO/Ag (Filme)

Figura 21 - Espectroscopia de Raman das amostras de filme e de nanopartículas de (A) TiO_2 e TiO_2/Ag e (B) ZnO e ZnO/Ag

Foi possível identificar a presença do TiO_2 nos filmes, **Figura 21 (A)**, pico referente a 521 cm^{-1} , o gráfico também apresenta bandas mais intensas de TiO_2 na forma anatase, que é o principal responsável pela atividade fotocatalítica do TiO_2 indicado nas bandas correspondentes de 410 cm^{-1} , 521 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 633 cm^{-1} . Entretanto vale ressaltar que a banda de 684 cm^{-1} pertence a duas formas do TiO_2 , rutilo e anatase [61, 62].

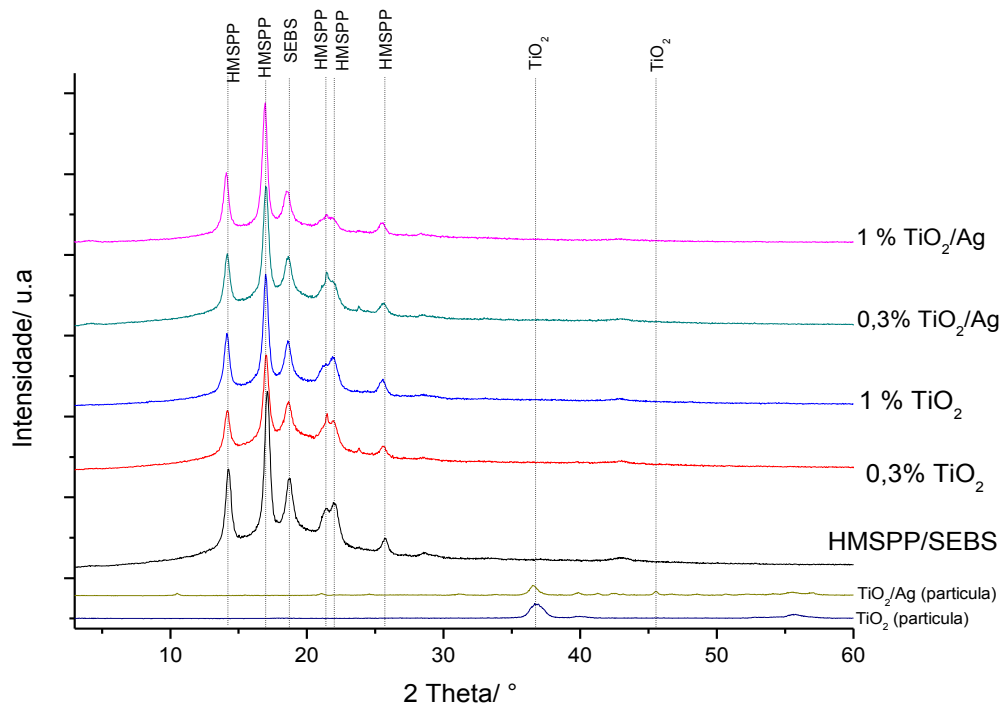
No sistema TiO_2/Ag , foi identificado a banda de 1038 cm^{-1} que é associado a presença de resíduo de ânion livre de NO_3^- [63]. Já os picos de 808 cm^{-1} , 1149 cm^{-1} , 1334 cm^{-1} , 1459 cm^{-1} , são atribuídos à prata [64].

Os demais picos referentes ao TiO_2 e a Ag , não foram identificados com precisão por alguns motivos, um deles seria que os mesmos podem estar sobrepostos aos picos de outros elementos que constituem o filme, como o SEBS, PP. Um outro motivo é relacionado à dispersão das partículas no filme. Assim como foi visto no MEV existem pontos do filme de aglomerados, o que pode ocasionar na dificuldade da leitura das nanopartículas no espectrofotômetro.

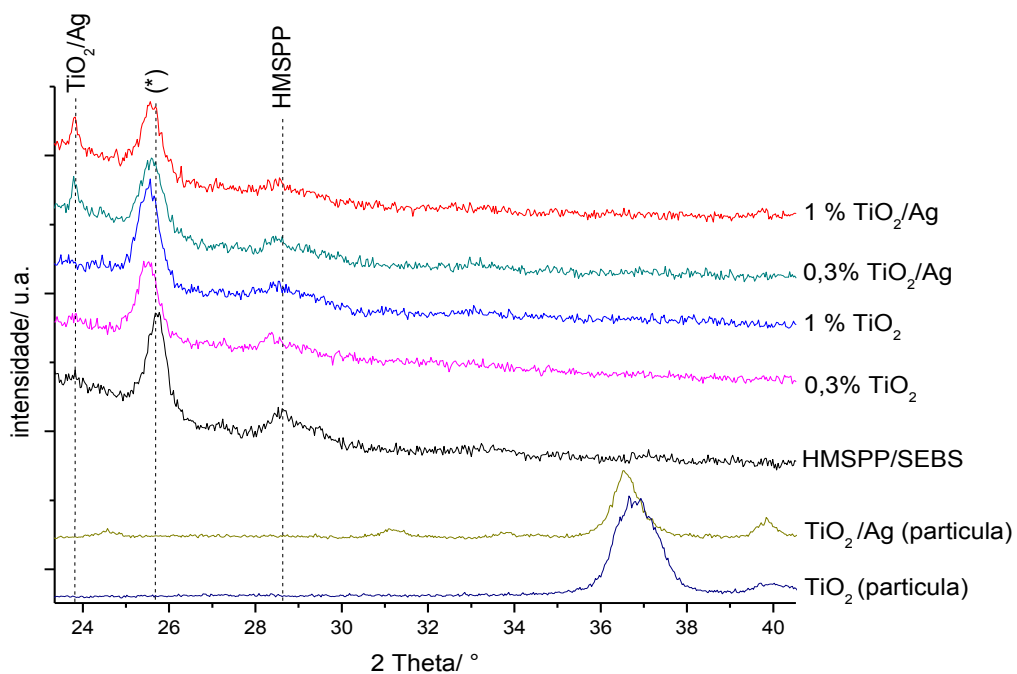
No ZnO , **Figura 21 (B)**, os picos de 440 cm^{-1} , 724 cm^{-1} , 927 cm^{-1} , 1069 cm^{-1} , 1385 cm^{-1} , 1405 cm^{-1} , são atribuídos a formação de nanocristais de ZnO no formato de Wurtzite [65, 66].

5.2.3. Difração de Raios – X - DRX

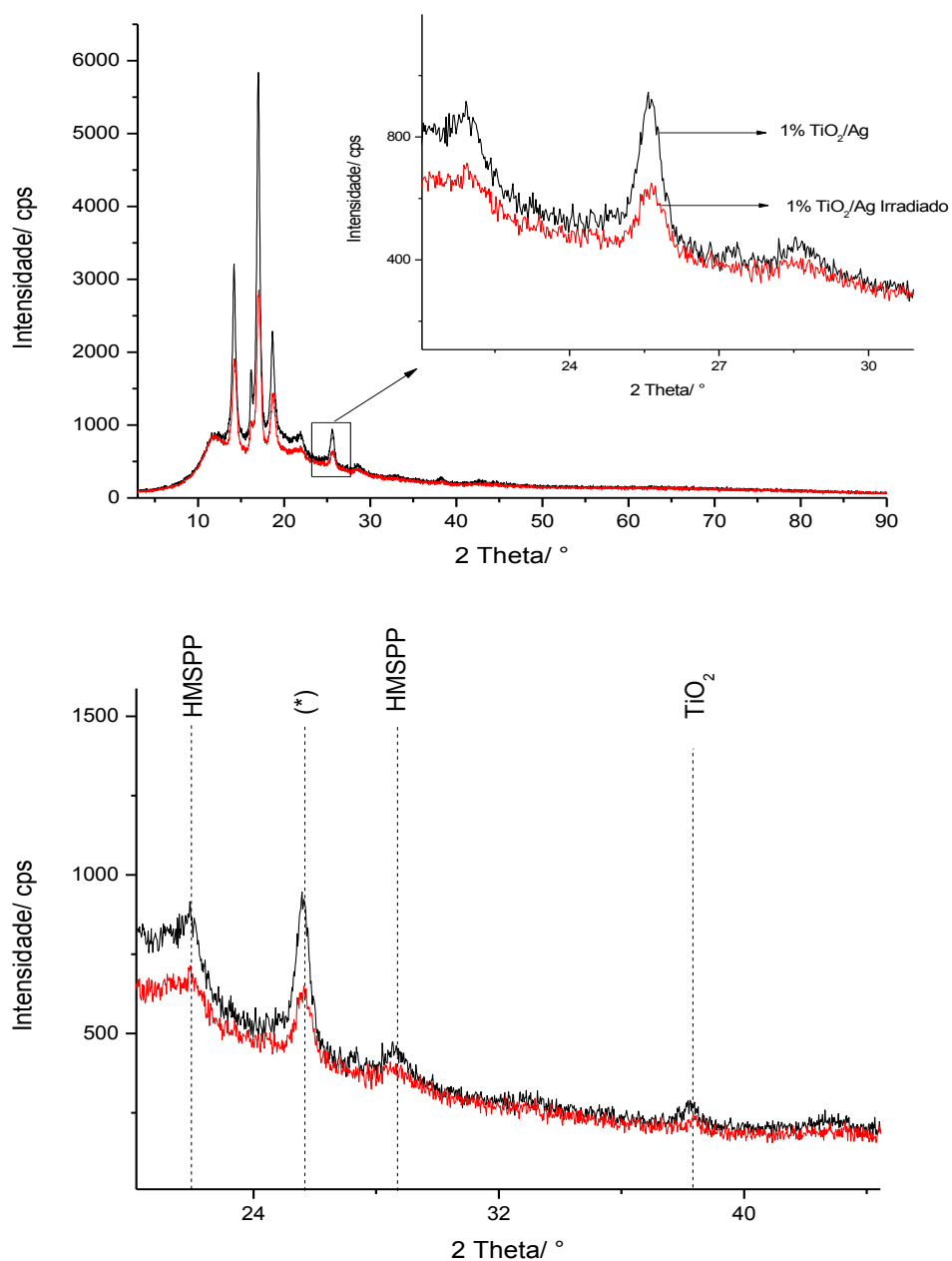
As curvas de DRX detalham melhor as observações da técnica de Raman, onde não foi possível identificar os picos expressivos referentes às nanopartículas, **Figura 22**, foi possível identificar os picos referentes às matrizes poliméricas e às nanopartículas.



(A) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de TiO₂ e TiO₂/Ag em comparação às partículas



(B) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de em destaque aos picos das partículas



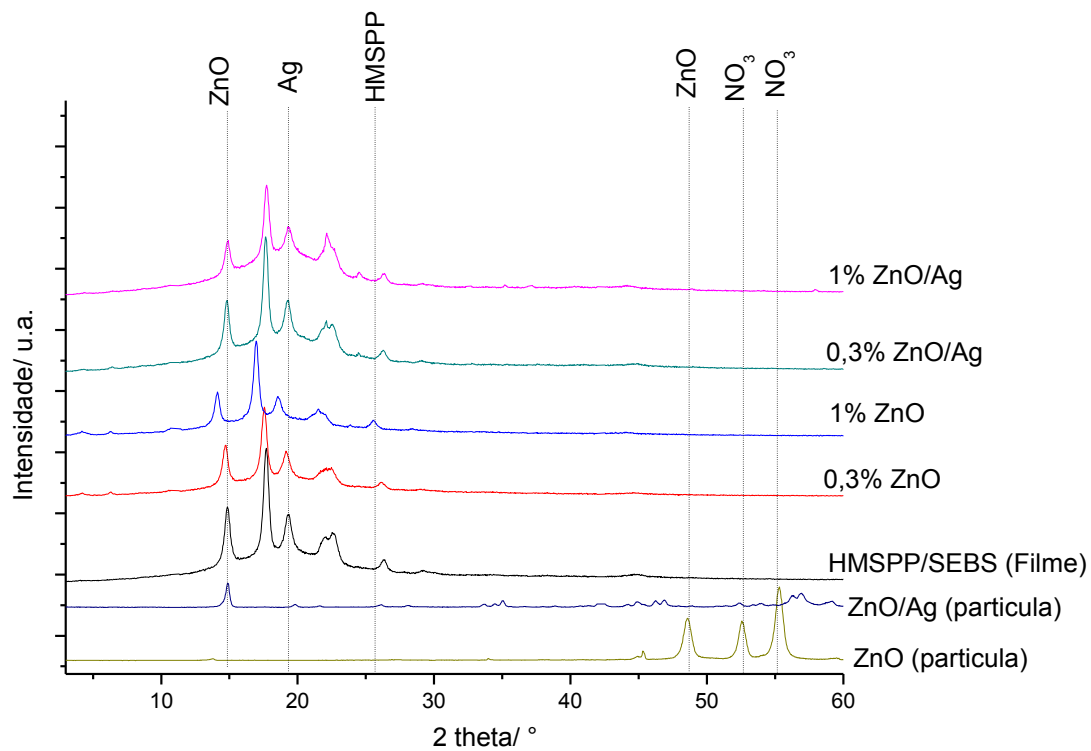
(C) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de TiO₂ e TiO₂/Ag após o processo de irradiação

Figura 22 - Difratoograma de DRX dos filmes de HMSPP/SEBS com as Nanopartículas de: (A) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de TiO₂ e TiO₂/Ag em comparação às partículas; (B) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de em destaque aos picos das partículas; (C) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de TiO₂ e TiO₂/Ag após o processo de irradiação

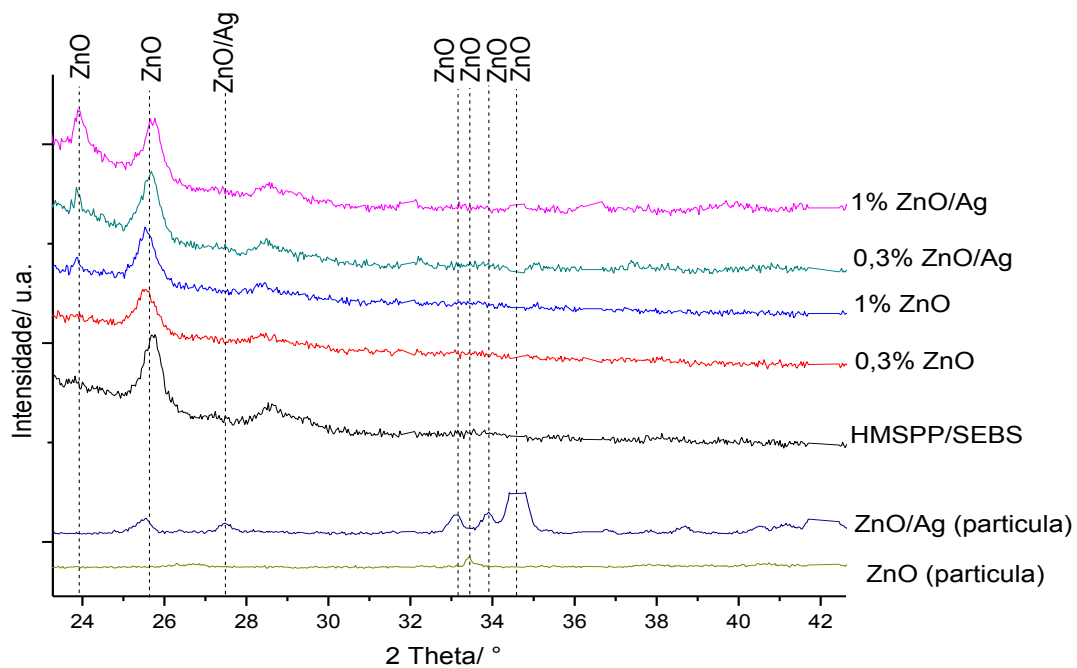
Na **Figura 22 (A)** e **(B)** foram identificados picos referentes a forma α do PP localizada a $2\theta = 14,1^\circ$; $16,9^\circ$; $18,5^\circ$; $21,3^\circ$; $21, 8^\circ$; $25,5^\circ$; $28,64^\circ$. Para a forma β o pico $2\theta = 16,0^\circ$ [67]. Já os picos identificados a $2\theta = 36,7^\circ$; $45,5^\circ$; são atribuídos ao TiO_2 na fase anatase. Os picos de $2\theta = 23,81^\circ$; são atribuídos ao $\text{TiO}_2 - \text{Ag}$ [64]. Pico identificado próximo de $2\theta = 19^\circ$ é referente ao SEBS [68]. Já o pico identificado no gráfico da **Figura 22 (B)** como (*) pode ser atribuído a: $2\theta: 25,83^\circ$ [70] TiO_2/Ag e TiO_2 anatase bem como a forma α do PP sobrepostos..

No gráfico **Figura 22 (C)**, estão representadas as amostras de filme com 1% de TiO_2/Ag e 1% de TiO_2/Ag irradiado. Foi observada uma diminuição da intensidade dos picos após o processo de irradiação relativas ao TiO_2/Ag e TiO_2 anatase bem como a forma α do PP sobrepostos.

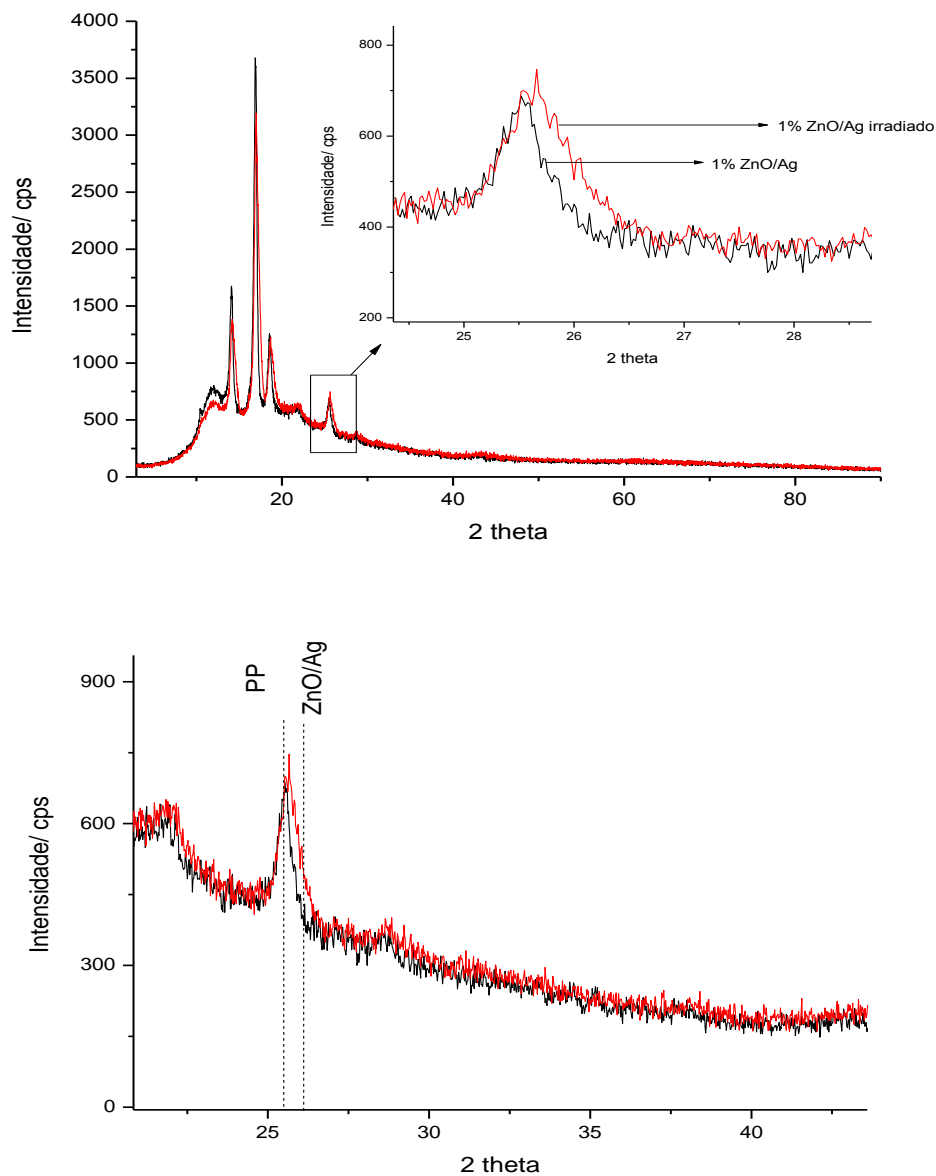
Na **Figura 23 (A)** **(B)** estão representados os difratogramas dos filmes de ZnO e ZnO/Ag em comparação com as partículas. Já na **Figura (C)** está representado o filme de 1% de ZnO/Ag em comparação com o filme de 1% de ZnO/Ag irradiado.



(A) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag em comparação às partículas



(B) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag com destaque aos picos das partículas



(C) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag após o processo de irradiação

Figura 23 - Análise de DRX dos Filmes de (A) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag em comparação às partículas; (B) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag com destaque aos picos das partículas; (C) Filmes de HMSPP/SEBS com diferentes concentrações de ZnO e ZnO/Ag após o processo de irradiação

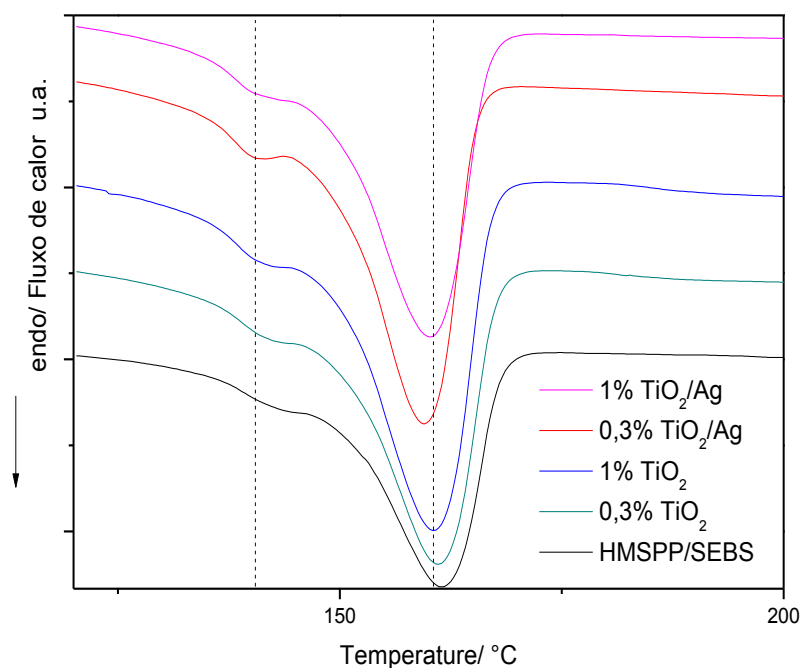
Já no ZnO e ZnO/Ag, **Figura 23 (A) e(B)**, foram também identificados os picos referentes a parte polimérica e foi identificado os picos de $2\theta = 23,79^\circ$, $25,22^\circ$ (forma de duplete próximo do sinal do PP), $31, 83^\circ$; $34,11^\circ$; $36, 47^\circ$,

46,85°; 55,91°; podem ser atribuídos ao formato Wurtzite do ZnO; os picos de 2θ : 32,84° 33, 55°; (ZnO) 34,15° (ZnO). Os picos de $2\theta = 14,12^\circ$ (forma de duplete próximo do sinal do PP); 17,11°; 18,68°, 19,31° podem ser atribuídos a prata metálica, ao pico de $2\theta = 27,46^\circ$ pode ser atribuído ao ZnO/Ag e $2\theta = 36,47^\circ$; 53,46° e 55,91° ao resíduo de nitrato de prata que não foi consumido durante a síntese. [69, 71, 77]

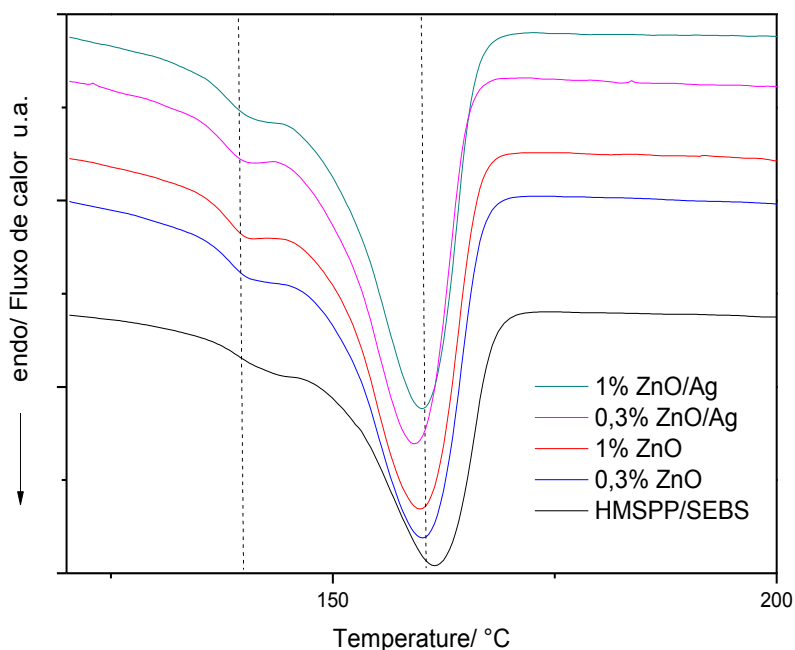
Para o gráfico da **Figura 23 (C)** foi identificado um alargamento do pico de $2\theta = 26, 20^\circ$ após a irradiação, sendo este pico correspondente ao ZnO/Ag [71, 77]

5.2.4. Análise térmica - DSC

Além da atividade biocida é esperado também que as nanopartículas funcionem como agentes nucleantes no polímero, assim como podemos ver na **Tabela 8** e nas **Figuras de 24**.



(A)TiO₂ e TiO₂/Ag (Filme)



(B)ZnO e ZnO/Ag (Filme)

Figura 24 - Curva de DSC da T_{m2} dos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas de: (A) TiO_2 e TiO_2/Ag e (B) ZnO e ZnO/Ag

É reportado na literatura que os esferulitos da forma α do PP consistem em um agregado de lamelas que irradiam do centro para fora e aparece no ponto central de nucleação e com isso inicia o crescimento do cristal em todas as direções. A forma β do PP é termodinamicamente menos estável que a forma α sob condições normais de cristalização. A presença de um gradiente facilita a formação da forma β . [72]

Na literatura, é relatado um resultado esperado que a cristalinidade diminui em decorrência da adição de SEBS, pois este bloco estireno-etileno/butadieno-estireno aumenta a área amorfa da matriz polimérica [26]. Este resultado foi observado na cristalinidade, **Tabela 8**, do HMSPP $X_c = 35,5\%$ e depois com a adição de SEBS no HMSPP diminuiu para $X_c = 23,9\%$, é uma queda bastante expressiva, uma vez que foi utilizado apenas 10% de SEBS no HMSPP.

Por outro lado, quando foi adicionado as nanopartículas ao HMSPP/SEBS, foi possível observar o aumento da cristalinidade em todos os casos. Este resultado é esperado segundo a literatura [15, 25], pois as nanopartículas podem atuar como agente nucleante no polímero e também pode ser como consequência da adição de PP-g-AM, que devido ao seu baixo peso molecular também atua como agente nucleante.

Tabela 8 - Valores de DSC dos filmes processados T_{m2} – Temperatura de fusão secundária; X_c – Cristalinidade;

Amostras	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$	$X_c / \%$
HMSPP	160,3	45,5
HMSPP/SEBS	159,1	23,9
0,3% ZnO	159,9	32,1
1% ZnO	159,6	31,1
0,3% ZnO/Ag	158,9	31,0
1%ZnO/Ag	159,9	30,8
0,3% TiO₂	160,8	31,0
1%TiO₂	160,4	32,3
0,3% TiO₂/Ag	159,2	30,5
1% TiO₂/Ag	159,9	33,1

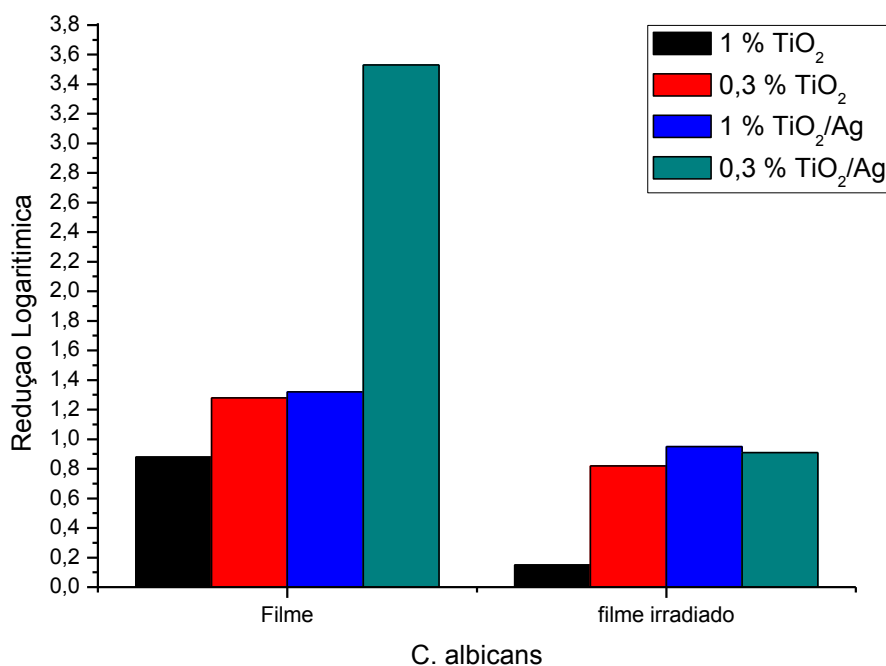
5.2.5 Ensaio biocidas

Como seqüência dos estudos, os filmes das blendas de HMSPP/SEBS com as nanopartículas obtidas foram submetidos aos testes biocidas com os microorganismos *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* e *A. niger*, e os resultados

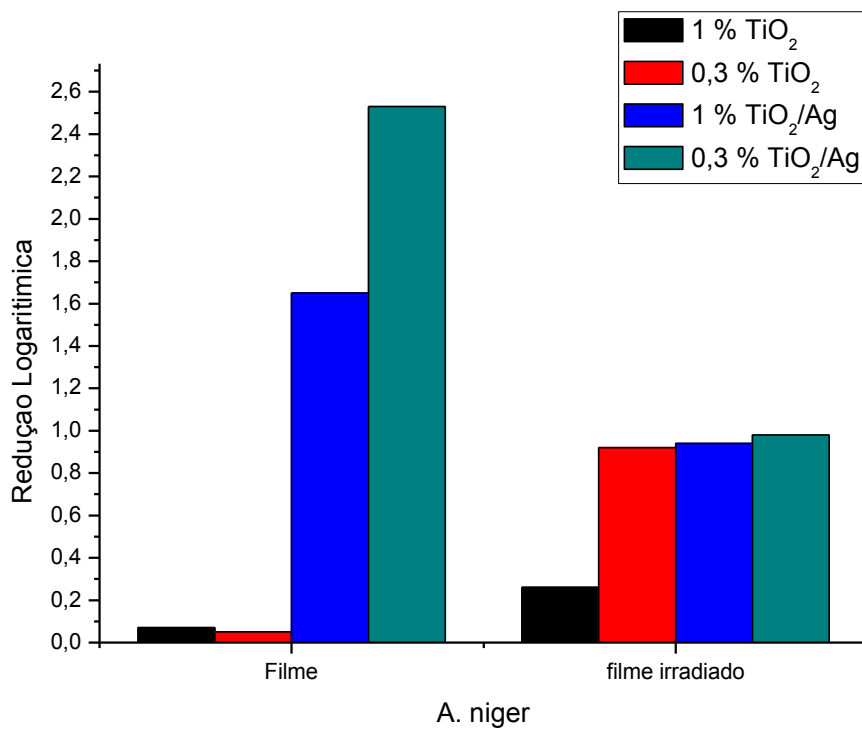
obtidos serão apresentados em tópicos separados: filmes de TiO_2 e TiO_2/Ag ; e filmes de ZnO e ZnO/Ag .

5.2.5.1 Filmes de TiO_2 e TiO_2/Ag

Na **Figura 25** e na **Tabela 9** estão representados os valores de redução logarítmica dos fungos nos filmes antes e após o processo de irradiação com 1 % de TiO_2 , 0,3% TiO_2 e os filmes de 1% de TiO_2/Ag , 0,3% TiO_2/Ag .



(A) *C. albicans* ATCC 10231



(B) *A. niger* ATCC 6275

Figura 25 - Redução Logarítmica dos microorganismos nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas de TiO₂ e TiO₂/Ag para as cepas: (A) *C. albicans* ATCC 10231 e (B) *A. niger* ATCC 6275. Padrão de eficácia conforme a norma JIZ 2801-10 ≥ 2

Tabela 9 - Valores de redução Logarítmica microorganismos *C. albicans* ATCC 10231 e *A. niger* ATCC 6275 nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas. Padrão de eficácia conforme a norma JIS 2801-10 ≥ 2

Amostra	Redução Logarítmica <i>C. albicans</i> ATCC 10231	Redução Logarítmica <i>C. albicans</i> ATCC 10231 (Filme irradiado)	Redução Logarítmica <i>A. niger</i> ATCC 6275	Redução Logarítmica <i>A. niger</i> ATCC 6275 (Filme irradiado)
1% TiO₂	0,88	0,15	0,07	0,26
0,3% TiO₂	1,28	0,82	0,05	0,92
1% TiO₂/Ag	1,32	0,95	1,65	0,94
0,3% TiO₂/Ag	3,53	0,91	2,53	0,98
	Padrão de eficácia ≥ 2		Padrão de eficácia ≥ 2	

No microorganismo *C.albicans*, apenas o filme com concentração de 0,3% TiO₂/Ag apresentou atividade biocida com redução logarítmica dentro da norma JIZ. Desta forma, observa-se que apenas uma baixa concentração de nanopartículas dopadas com prata pode ser o suficiente para promover a atividade biocida em filmes com essas nanopartículas. Por outro lado, de um ponto vista acadêmico, os filmes com concentração de 1% de TiO₂/Ag e 0,3% de TiO₂ também apresentaram atividade biocida próximos ao padrão de eficácia segundo a norma JIZ. Já o Filme de 1% de TiO₂ apresentou também uma atividade biocida entretanto, este valor é muito baixo em comparação com as demais amostras e com o padrão de eficácia.

No entanto, quando estes filmes foram irradiados e submetidos ao mesmo teste e com o mesmo microorganismo todos tiveram uma diminuição

da atividade biocida, em comparação com ausência de irradiação, e também em comparação com o padrão de eficácia.

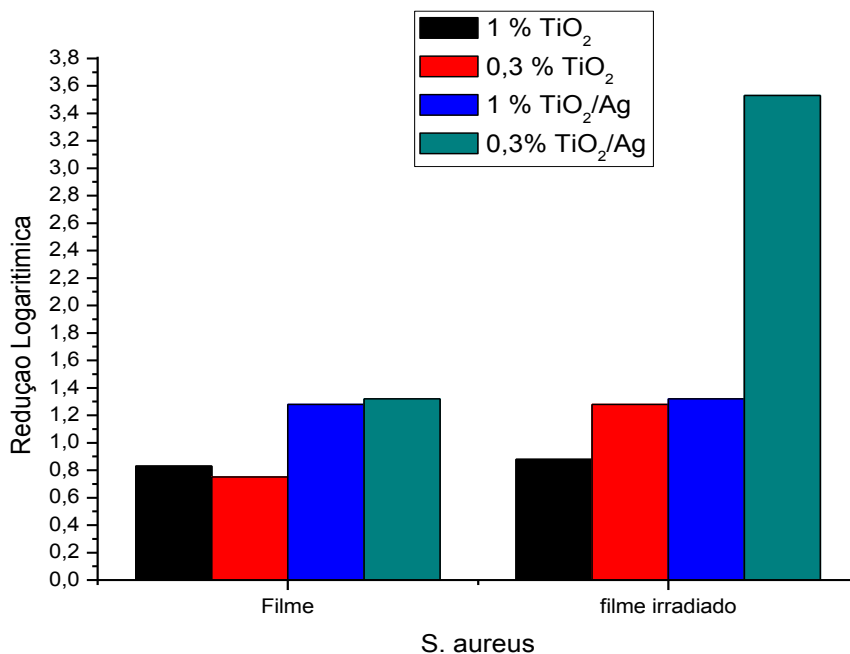
Este mesmo efeito após a irradiação pode ser observado no microorganismo *A. niger*, mas principalmente com as nanopartículas dopadas com prata, nas concentrações de 0,3% de TiO_2/Ag , 1% TiO_2/Ag . Observa-se que o filme com concentração de 0,3% de TiO_2/Ag possui um valor de redução logarítmica antes da irradiação, dentro do padrão de eficácia, segundo a norma, o mesmo resultado observa-se no filme com 1% de TiO_2/Ag .

Observa-se também que no caso das amostras com concentração de 0,3% de TiO_2 e 1% de TiO_2 antes da irradiação, apresentaram uma atividade biocida antes da irradiação próximas de zero, no entanto após o processo de irradiação observa-se um aumento dos valores de redução logarítmica.

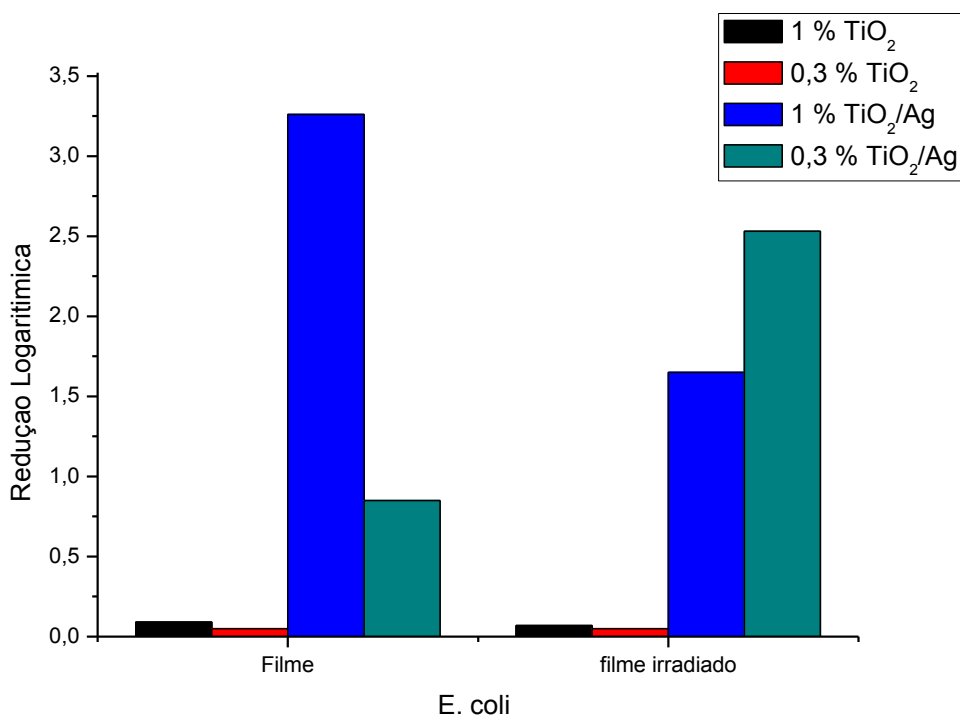
Neste contexto de resultados, para os microorganismos *C. albicans* e *A. niger* podemos afirmar que a presença da prata nas nanopartículas promoveu a atividade, com relação às partículas sem prata, considerando o padrão de eficácia regulamentada pela norma JIZ.

É interessante destacar que, os mecanismos de ação biocida são diferentes em cada caso de nanopartícula e também para cada bactéria ou fungo, assim como foi observado no item 5.1.3.

Alguns dos resultados observados nos fungos, foi observado nas bactérias, **Figura 26**. O processo de irradiação gama pode ocasionar à melhora das propriedades por meio da formação de elétrons na superfície do filme. Na **Tabela 10** está representado o valor de redução logarítmica dos filmes contendo nanopartículas.



(A) *S. aureus* ATCC 6538P



(B) *E. coli* ATCC8739

Figura 26 - Redução Logarítmica dos microorganismos nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas para as cepas: (A) *S.aureus* ATCC 6538P e (B) *E.coli* ATCC8739. Padrão de eficácia conforme a norma JIZ 2801-10 ≥ 2

Tabela 10 - Valores de redução Logarítmica dos microorganismos *S.aureus* ATCC 6538P e *E.coli* ATCC 8739 nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas. Padrão de eficácia conforme a norma JIS 2801-10 ≥ 2

Amostra	Redução Logarítmica <i>S.aureus</i> ATCC 6538P	Redução Logarítmica <i>S.aureus</i> ATCC 6538P (Filme irradiado)	Redução Logarítmica <i>E.coli</i> ATCC 8739	Redução Logarítmica <i>E.coli</i> ATCC 8739 (Filme irradiado)
1% TiO₂	0,83	0,88	0,09	0,07
0,3% TiO₂	0,75	1,28	0,05	0,05
1% TiO₂/Ag	1,28	1,32	3,26	1,65
0,3% TiO₂/Ag	1,32	3,53	0,85	2,53
	Padrão de eficácia ≥ 2		Padrão de eficácia ≥ 2	

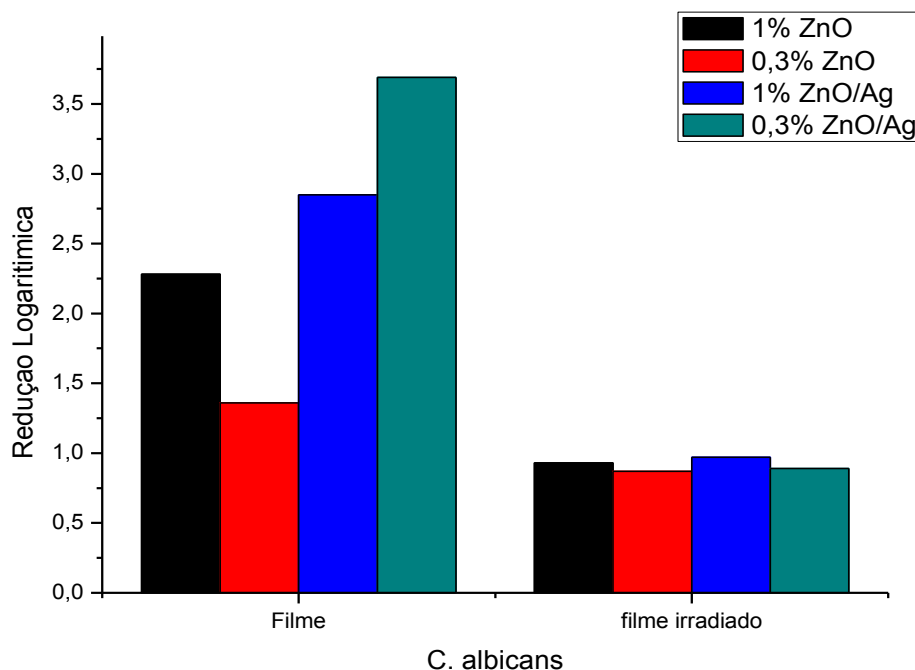
Já com o microorganismo *S. aureus*, **Figura 26** e **Tabela 10**, os filmes com as nanopartículas dopadas com prata, nas amostras com 1% de TiO₂/Ag e 0,3% de TiO₂/Ag tiveram uma atividade biocida mais alta quando comparadas à partícula sem dopagem, TiO₂. No entanto, observa-se que antes do processo de irradiação, as amostras dopadas apresentam atividade biocida, mas com valores próximos ao padrão da norma. Após a irradiação, podemos destacar o filme com 0,3% de TiO₂/Ag que aumentou a atividade biocida apresentando um valor de redução logarítmica dentro do padrão de eficácia. É interessante observar que no caso do filme de 0,3% de TiO₂ há um aumento da atividade biocida em decorrência do processo de irradiação. Já nos filmes de 1% de TiO₂ e 1% de TiO₂/Ag não há alterações significativas após o processo de irradiação.

Já no microorganismo *E. coli*, o filme de 1% de TiO₂/Ag demonstrou um resultado de redução logarítmica dentro dos padrões da norma. Os demais filmes com 0,3% de TiO₂/Ag, 1% TiO₂ e 0,3% TiO₂ apresentam atividade

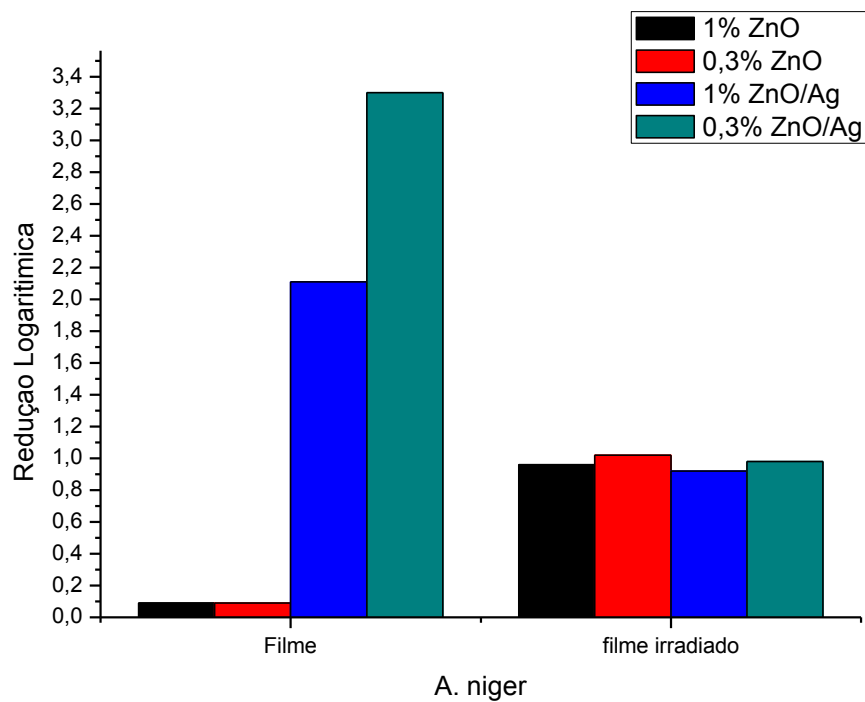
biocida, entretanto, com valores de redução logaritimica muito abaixo do padrão de eficácia. Observa-se que após a irradiação no caso do filme de 0,3% de TiO_2/Ag há um aumento do valor de redução logaritimica que está dentro do padrão. Em constraste a este resultado, o filme com 1% de TiO_2/Ag houve uma diminuição do valor de redução logaritimica após a irradiação. Já nos filmes com 1% de TiO_2 e 0,3% de TiO_2 não houve alterações expressivas após o processo de irradiação.

5.2.5.2. Filmes de ZnO e ZnO/Ag

Na **Figura 27** e na **Tabela 11** estão representados os valores de redução logaritimica dos filmes antes e após o processo de irradiação com 1 % de ZnO, 0,3% ZnO e os filmes de 1% de ZnO/Ag, 0,3% ZnO/Ag.



(A) *C. albicans* ATCC 10231



(B) *A. niger* ATCC 6275

Figura 27 - Redução Logarítmica dos microorganismos nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas para as cepas: (A) *C. albicans* ATCC 10231 e (B) *A. niger* ATCC 6275. Padrão de eficácia conforme a norma JIZ 2801-10 ≥ 2

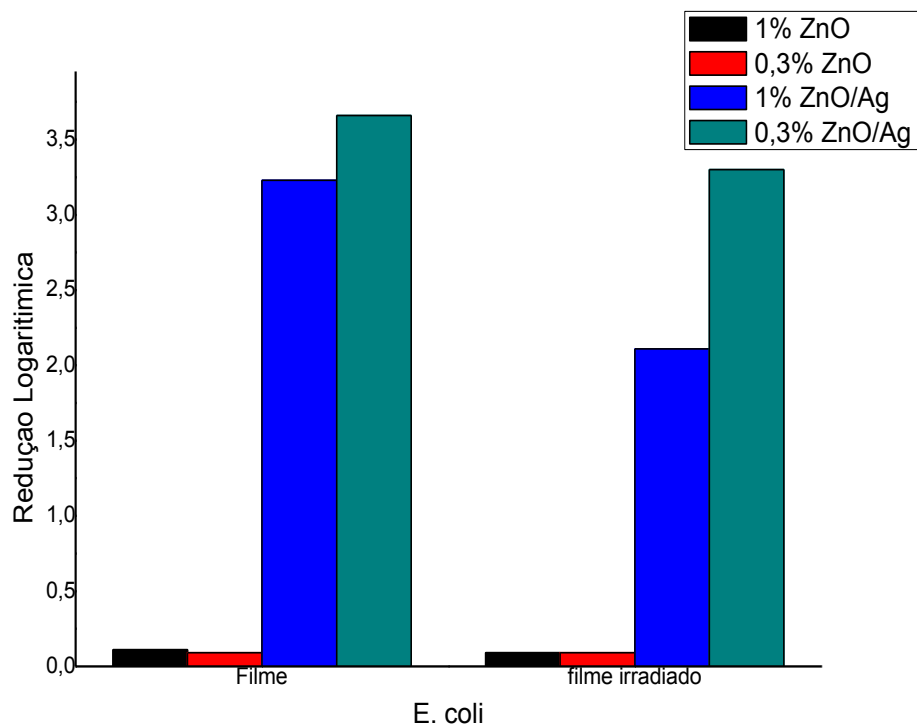
Tabela 11 - Valores de redução Logarítmica microorganismos *C. albicans* ATCC 10231 e *A. niger* ATCC 6275 nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas. Padrão de eficácia conforme a norma JIS 2801-10 ≥ 2

Amostra	Redução Logarítmica <i>C. albicans</i> ATCC 10231	Redução Logarítmica <i>C. albicans</i> ATCC 10231 (Filme irradiado)	Redução Logarítmica <i>A. niger</i> ATCC 6275	Redução Logarítmica <i>A. niger</i> ATCC 6275 (Filme irradiado)
1% ZnO	2,28	0,93	0,09	0,96
0,3% ZnO	1,36	0,87	0,09	1,02
1% ZnO/Ag	2,85	0,97	2,11	0,92
0,3% ZnO/Ag	3,69	0,89	3,3	0,98
	Padrão de eficácia ≥ 2		Padrão de eficácia ≥ 2	

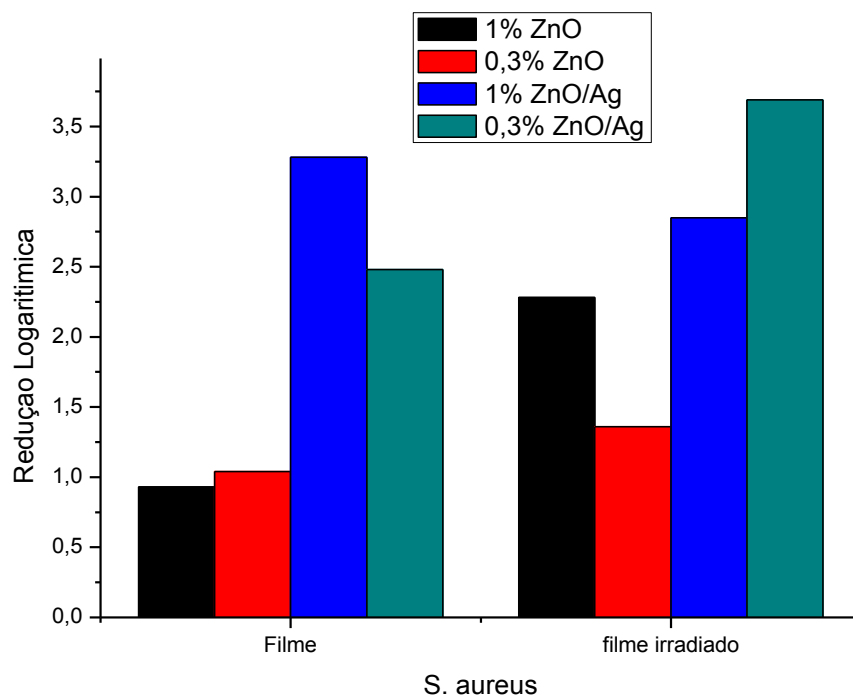
No microorganismo *C. Albicans* todos os filmes apresentaram atividade biocida, com o valor de redução logarítmica dentro do padrão da norma, com exceção do filme com 0,3% de ZnO que tem atividade biocida, no entanto um valor um pouco abaixo do padrão da norma. No entanto, após o processo de irradiação todos os filmes tiveram perda de propriedade, ou seja, os valores de redução logarítmica diminuiram.

Esta mesma constatação foi observada nos filmes com 1% de ZnO/Ag e 0,3% de ZnO/Ag no microorganismo *A. niger* onde, após o processo de irradiação houve uma diminuição dos valores de redução logarítmica. No entanto, antes do processo de irradiação, estes filmes apresentaram atividade biocida com os valores de redução logarítmica dentro do padrão de eficácia. Já nos filmes de 1% de ZnO e 0,3% de ZnO apresentaram uma melhora da atividade biocida após o processo de irradiação

Alguns resultados observados nos fungos como o aumento da atividade biocida em decorrência do processo de irradiação, também foi observado nos filmes quando submetidos aos testes com as bactérias, **Figura 28 e Tabela 12.**



(A) *S. aureus* ATCC 6538P



(B) *E.coli* ATCC8739

Figura 28 - Redução Logarítmica dos microorganismos nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas para as cepas: (A) *S.aureus* ATCC 6538P e (B) *E.coli* ATCC8739. Padrão de eficácia conforme a norma JIZ 2801-10 ≥ 2

Tabela 12 - Valores de redução Logarítmica dos microorganismos *S.aureus* ATCC 6538P e *E.coli* ATCC 8739 nos filmes de HMSPP/SEBS com as nanopartículas. Padrão de eficácia conforme a norma JIS 2801-10 ≥ 2

Amostra	Redução Logarítmica <i>S. aureus</i> ATCC 6538P	Redução Logarítmica <i>S. aureus</i> ATCC 6538P (Filme irradiado)	Redução Logarítmica <i>E. coli</i> ATCC 8739	Redução Logarítmica <i>E. coli</i> ATCC 8739 (Filme irradiado)
1% ZnO	0,93	2,28	0,11	0,09
0,3% ZnO	1,04	1,36	0,09	0,09
1% ZnO/Ag	3,28	2,85	3,23	2,11
0,3% ZnO/Ag	2,48	3,69	3,66	3,30
	Padrão de eficácia ≥ 2		Padrão de eficácia ≥ 2	

Observa-se que para a bactéria *S. aureus*, há um aumento da atividade biocida após o processo de irradiação onde os valores de redução logarítmica estão no padrão de eficácia, nos filmes de 1% ZnO e 0,3% de ZnO/Ag. É importante destacar que no caso do filme de 0,3% de ZnO/Ag já possuía uma atividade biocida antes do processo de irradiação dentro do padrão e após o processo irradiação este valor aumenta de forma significativa; e no caso do filme com 1% de ZnO, antes do processo de irradiação a sua atividade biocida era baixa e após o processo de irradiação a sua atividade biocida aumentou apresentando um valor de redução logarítmica dentro do padrão de eficácia. Já no filme com 1% de ZnO/Ag é observado uma atividade biocida alta em comparação com o mesmo após o processo de irradiação, vale ressaltar que tanto antes quanto após o processo de irradiação os valores de redução logarítmica estão dentro do padrão de eficácia. No filme com 0,3% de ZnO, há um aumento da atividade biocida após o processo de irradiação, no entanto não está dentro do padrão, mas mostra um aumento significativo.

Na bactéria *E. coli*, os filmes com as concentrações de 1% ZnO/Ag e 0,3% de ZnO/Ag apresentaram atividade biocida com valores significativos de redução logarítmica dentro do padrão de eficácia antes do processo de irradiação. No entanto, após o processo de irradiação há uma diminuição deste valor de redução logarítmica, mas ainda são valores elevados de redução e eficácia. Já nos filmes de 1% ZnO e 0,3% de ZnO, apresentaram uma atividade biocida muito baixa e mesmo após o processo de irradiação, não houve um aumento dos valores de redução logarítmica.

5.2.5.3. Discussão dos resultados dos ensaios biocidas e mecanismos associados

Com base nos resultados observados no item anterior, fica evidente que a adição de prata melhora as propriedades biocidas quando dopadas em óxidos metálicos. Observa-se que para cada microorganismo testado os valores de redução logarítmica alteram.

No caso dos fungos, estes foram escolhidos por serem muito comuns nos casos de colonização em eletrodomésticos como geladeiras e fogões. No entanto, estes tiveram somente atividade biocida em valores satisfatórios dentro da norma antes do processo de irradiação. Uma hipótese para este fato pode estar ligado ao que foi discutido no **ITEM 5.1.3**. Cada fungo possui uma forma de atuação ou absorção das partículas bem como a sua forma de se alojar e de se reproduzir quando em contato com uma superfície polimérica.

Esta hipótese também se aplica às bactérias. É reportado na literatura que ambas bactérias Gram (+) e Gram (-) possuem camadas de peptidoglican de naturezas distintas e também com mecanismos de absorção diferentes.

Após o processo de irradiação houve uma melhora nas propriedades biocidas dos filmes. Na literatura [78], sugere-se que o processo de irradiação possui grande efetividade na redução de íons metálicos e partículas metálicas. O processo de irradiação é uma das estratégias mais simples e uniformes para

a obtenção de nanopartículas através das camadas dos materiais devido a sua grande penetração da irradiação gama através dos materiais.

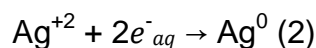
A dose de 12,5 kGy utilizada tanto para a obtenção do HMSPP e para o processo de irradiação dos filmes foi baseada em trabalhos anteriores e em experimentos prévios para o início do estudo [12 - 15]. Foi observado que com uma dose mais alta de irradiação, 20 kGy o polipropileno tende a ocorrer a formação de cisão de cadeias muito mais intensa, mesmo utilizando um elemento para promover o processo de reticulação, que no caso foi o acetileno.

Um fato este observado no estudo [78] e podemos confirmar observando as micrografias de MEV onde foi identificado no EDS que as partículas estavam dispersas na superfície do filme. Estes pontos podem ser de SEBS, uma vez que o SEBS possui a sua natureza de aglomerar as partículas. Pode-se partir de um modelo de raciocínio onde as partículas estão muito mais concentradas em um ponto, ou em pontos dispersos na superfície do filme, onde pode haver uma mobilidade das cadeias e também existe a presença de umidade, vinda do óleo de processamento e da própria umidade do polímero. Dessa forma, durante o processo de irradiação gama está ocorrendo possivelmente um segundo processo de síntese, onde a partícula mais nobre, que no caso é a Ag, reduz-se e fica na superfície da partícula menos nobre, o ZnO ou o TiO₂ ou em poros desses óxidos. Outra constatação, assim como foi visto no difratograma de DRX, do resíduo de AgNO₃ que não foi consumido durante o processo de síntese é consumido no processo de irradiação, que conduz a à formação de novas partículas de Ag e por fim melhorando as propriedades biocidas. É interessante observar que quando este material é irradiado, a irradiação gama ocasiona diversos processos, sendo um dos primários a radiólise e, em consequência as reações decorrentes dela.

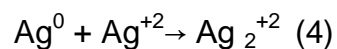
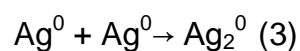
Durante a radiólise, paralelo à formação de elétrons solvatados e formação de radicais OH ocorre a criação de pares elétron- buraco (e⁻, h) nos poros de ZnO (ou TiO₂), cuja recombinação é fraca.

Os buracos da interface bem como os radicais antioxidantes $\cdot\text{OH}$ da matriz polimérica (provenientes da unidade desse sistema) são capturados pelo polipropileno ou íons formados. Então radicais formados do PP $(\text{CH}_3\text{C}\cdot\text{CH}_2\text{CH}_2)_n$ e radicais oxigenados são produzidos, os quais são capazes também de reduzir íons de Ag^{2+} bem como elétrons e elétrons solvatados. Esses fatores associados aumentam a formação de reações de redução na superfície irradiada.

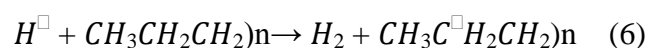
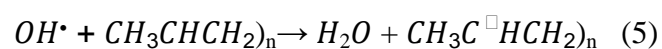
Os elétrons hidratados, e^-_{aq} , 183 ($E^\circ(\text{H}_2\text{O}/e^-_{\text{aq}}) = -2.87 \text{ V}_{\text{NHE}}$) and $\cdot\text{H}$ ($\text{H}^+/\cdot\text{H}) = -2.3 \text{ V}_{\text{NHE}}$) com forte propriedade de redução são agentes de redução de íons de prata a Ag^0 .

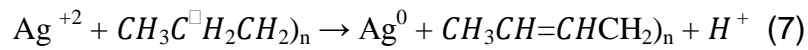


Durante a radiólise com reação da redução da prata pode ocorrer que átomos de Ag^0 sejam nucleantes e conduzam a formação de dímeros a partir de Ag^0 conforme equações 3 e 4.

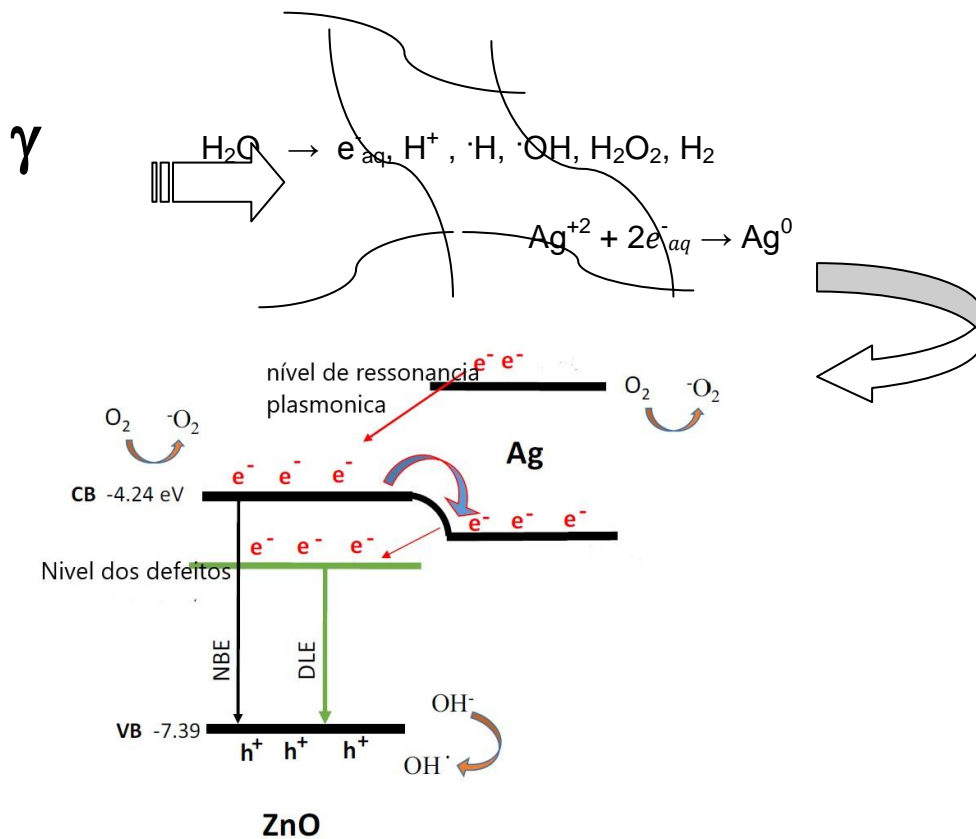


As reações de 4-7 são reações que ocorrem na matriz polimérica:





De modo geral então tem-se:



O primeiro passo é uma transferência direta de elétrons de Ag para ZnO, os elétrons na banda de condução das nanopartículas de Ag são excitados para o estado SPR, então os elétrons excitados serão transferidos para a banda de condução de ZnO. No segundo mecanismo, o elétron na banda de condução de ZnO podem ser transferidos para o estado de Fermi das nanopartículas de Ag. No terceiro mecanismo, a transferência de elétrons depende da posição dos níveis de energia de diferentes defeitos em ZnO, e os elétrons no estado de Fermi, as nanopartículas de Ag podem ser transferidas para os níveis de defeito de ZnO.

Na irradiação de filmes com nanopartículas algumas possibilidades para as mudanças induzidas pela irradiação são cisão ou reticulação das cadeias do

polímero e quebra das ligações covalentes. No caso da irradiação em atmosfera oxidante, o oxigênio reage com os radicais livres. Os radicais de peróxido formado no processo podem promover outras reações conduzindo à cisão de cadeias, reticulação, descoloração, a formação de hidroperóxidos, grupos carbonila, ácidos e produtos de baixo peso molecular [75]. :

Em um estudo estabelecido por Alcântara [75], foi realizado a síntese de hidrogéis poliméricos com nanopartículas de prata para aplicações médicas. Dentro das diversas e importantes contribuições deste estudo, destaca-se o estudo da incorporação de prata nos hidrogéis utilizando o método in-situ, por processo de irradiação gama em íons de prata. Obtêm-se as nanopartículas de prata concomitantemente à reticulação do polímero e formação do hidrogel. Destaca-se que os íons de Ag^+ podem ser eficientemente reduzidos por irradiação gama na presença de polímero PVP e água, sendo assim um processo eficaz para a preparação de hidrogéis por reticulação do polímero e com síntese simultânea de nanopartículas de prata in situ.

Um resultado semelhante foi observado no estudo de Marchini [76] onde foi realizada a incorporação de nanopartículas de prata no termoplástico elastomérico poliéster (TPE-E) por diferentes técnicas de processamento visando ação bactericida. Em um dos importantes resultados observados destaca-se a influência do processo de irradiação da superfície das amostras, que mesmo que discretamente alteraram positivamente a atividade biocida nos filmes prensados. Confirma a hipótese foi de que, com o processo de irradiação foi possível expor mais eficientemente as nanopartículas ao nível superficial com efeito de formação de irregularidades, assim como foi possível a formação de radicais livres que dificultam a adesão da bactéria à superfície. O processo de irradiação também pode ter gerado a redução de partículas da Ag.

6. Conclusões

A síntese e incorporação das nanopartículas de ZnO, ZnO/Ag e TiO₂, TiO₂/Ag na blenda de HMSPP tiveram um resultado satisfatório no que tange aos testes biocidas, com destaque as partículas dopadas com prata.

As análises de DLS e potencial Zeta permitiram que o processo de síntese e secagem das amostras fosse otimizado para obter um tamanho de partícula o mais próximo de 100 nm. No sistema TiO₂/Ag observou-se a eficiência do *core-shell* utilizando o PVP, pois obteve-se partículas menores de aproximadamente 20 nm.

Nos resultados de DRX constatou-se que os filmes de PP/SEBS/nanopartículas retiveram as nanopartículas em função de sua concentração e corroboraram com os resultados de EDS. As nanopartículas atuaram como agente nucleante modificando a cristalinidade dos filmes conforme evidenciado por DSC.

Já nos testes biocidas, as nanopartículas demonstraram excelentes atividade nos microorganismos *S. aureus* e *E.coli* em ambiente sem Luz. Com este resultado mostrou que no ZnO a possibilidade da presença de íons de Zn⁺² da geração de ROS causando a morte celular. Já nos sistemas ZnO/Ag e TiO₂/Ag a atividade biocida foi atribuída a presença de prata e também de íons de Ag⁰ na superfície das partículas. Entretanto não foi observado a atividade biocida no TiO₂, pois este necessita de uma fonte de luz UV para iniciar o processo de fotocatalise e dessa forma gerar os seus subprodutos e gerar a morte da bactéria. Entretanto estas nanopartículas de ZnO, ZnO/Ag e TiO₂, TiO₂/Ag não apresentaram ação fungicida *C.albicans* e *A.niger*.

Por outro lado, quando estas nanopartículas foram incorporadas na blenda de HMSPP/SEBS demonstraram atividade biocida com todos os microorganismos *C.albicans*, *A.niger*, *S.aureus* e *E.coli*. Podendo-se destacar o fato de que mesmo com uma baixa concentração 0,3 % foi possível fornecer propriedades biocidas na blenda. É interessante destacar a utilização da irradiação gama, que permitiu o aumento da atividade biocida por meio de algumas hipóteses: a formação de trincas na superfície do filme, formação de

hidroxilas na superfície do filme, redução de AgNO_3 a à forma de nanopartícula de Ag^0 potencializando a atividade biocida, a mínima concentração de água foi capaz de reduzir a prata residual e consumir os resíduos de nitrato de prata e dessa forma melhorar as propriedades biocidas.

A formação de hidroxilas que pode ser confirmada observando as imagens de MEV onde foi possível constatar que a superfície do filme não é totalmente lisa, ela possui algumas montanhas e que se assemelha ao conceito de *shark skin* da literatura. Foi possível identificar que as nanopartículas estão localizadas nas pontas do *shark skin*, corroborando assim os efeitos biocidas observados.

Trabalhos Futuros

- Estudo da influência da degradação ambiental e acelerada em estufa na atividade biocida dos nanocompósitos;
- Realização de ensaios mecânicos;
- Estudo da citotoxicidade dos filmes em meio natural e marinho.

Referências Bibliográficas

- 1- Roszek, B.; Jong, W.H.; Geertsma, R.E. Nanotechnology in medical applications: state-of-the-art in materials and devices. RIVM report 265001002. Bilthoven.
- 2- Shankar, S.; Rhim, J.W. Cap. : Polymer Nanocomposites for food packaging applications. In: Functional and Physical Properties of Polymer Nanocomposites. John Wiley & Sons. 2016.
- 3- Feldman, D. Review: Properties Elastomer Nanocomposites. Journal of macromolecular science, part A: Pure and applied chemistry 49. 784-793. 2012.
- 4- Hirota, K.; Sugimoto, M.; Kato, M.; Tsukagoshi, K.; Tanigawa, T.; Sugimoto, H. Preparation of zinc oxide ceramics with a sustainable antibacterial activity under dark conditions. Ceramics International, 36. 497-506. 2010.
- 5- Maronãs, M.E.; Damborenea, C. Efeito de Biocidas e Tolerância à exposição ao ar. Cap. 11. Efeito de biocidas e tolerância à exposição ao ar. In: Introdução a Biologia das Invasões. Cubo Editora. São Carlos. 2009.
- 6- Oliveira, R.; Aires, T. Resistência aos antibacterianos. Gazeta Médica, 3. 14 – 21. 2016.
- 7- Chien, H.W.; Chen, X.Y.; Tsai, W.P.; Lee, M. Inhibition of biofilm formation by rough shark skin-patterned surfaces. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 186. 2020.
- 8- Ferreira, E.S.B.; Pereira, C.H.O.; Araujo, E.M.; Bezerra, E.B.; Siqueira, D.D.; Wellen, R.M.R. Properties and Morphology of Polypropylene/BigBags Compounds. Materials Research, 22. 1 -8. 2019.
- 9- Perfil 2017. Associação Brasileira da Indústria Plástica. <http://www.abiplast.org.br/wp-content/uploads/2019/03/Perfil-2017.pdf> .
acesso em 16/11/2020.
- 10-Tjong, S.C.; Bao, S.P.; Liang, G.D. Polypropylene/Montmorillonite Nanocomposites Toughened with SEBS-g-MA: Structure-property Relationship. Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics. Vol 43, 3112-3126, 2005

- 11-Gotsis, A.D.; Zeevenhoven, B.L.F. The effect of long chain branching on the processability of polypropylene in thermoforming. *Polymer Engineering and science*, 5. 973 - 982. 2004.
- 12-Lugao, A.B.; Cardoso, E.C.L.; Lima, L.F.C.P.; Hustzler, B.; Tokumoto, S. Characterization study of gamma-irradiated high melt-strength polypropylene. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 208. 252-255. 2003.
- 13-Lugão, A.B.; Otaguro, H.; Parra, D.F.; Yoshinaga, A.; Lima, L.F.C.P.; Artel, B.W.H.; Liberman, S. Review on the production process and uses of controlled rheology polypropylene –Gama radiation versus electron beam processing. *Radiation Physics and Chemistry*, 76. 1688 – 1690. 2007.
- 14-Lugao, A.B.; Noda, L.; Cardoso, E.C.L.; Hustzler, B.; Tokumoto, S.; Mendes, A.N.F. Temperature rising elution fractionation, infrared and rheology study on gama irradiated HMSPP. *Radiation Physics and Chemistry*, 63. 509 – 512. 2002.
- 15-Komatsu, L.G.H.; Oliani, W.L.; Oliveira, C.B.; Rangari, V.K.; Parra, D.F. Application of ZnO an ZnO-doped-Ag in polymeric blend of HMSPP/SEBS for biocide activity. In: Li J. et al. (eds) *Characterization of Minerals, Metals, and Materials 2020. The Minerals, Metals & Materials Series*. Springer, Cham. DOI https://doi.org/10.1007/978-3-00-36628-5_41
- 16-Simões, D.N.; Pittol, M.; Ribeiro, V.F.; Tomacheski, D; Santana, R.M.C. Antimicrobial properties of SEBS Compounds with Zinc Oxide and Zinc Ions. *International Scholarly and Scientific Research & Inovation*, 10. 365 – 369. 2016.
- 17-Abreu, F.O.S.; Forte, M.M.C.; Liberman, S.A. Propriedades Mecânicas e Morfologia de Blendas de Polipropileno com TPEs. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, Vol. 16, n 1, p. 71-78, 2006.
- 18-Stricker, F.; Thomann, Y.;Mülhaupt, R. Influence of Rubber Particle Size on Mechanical Properties of Polyporpylene-SEBS Blends. *Journal of Applied Polymer Science*, vol 68, 1891-1901, 1998.
- 19-Drobny, J. G. *Handbook of Thermoplastic Elastomers. PDL Handbook Series*.

- 20-Simoes, D.N.; Pittol, M.; Tomacheski, D.; Ribeiro, V.F.; Santana, R.M.C. Thermoplastic elastomers containing zinc oxide as antimicrobial additive under thermal accelerated ageing. *Materials Research*, <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2016-0790>
- 21-Helal, E.; David, E.; Fréchette, M.; Demarquette, N.R. Thermoplastic elastomer nanocomposites with controlled nanoparticles dispersion for HV insulation systems: correlation between rheological, thermal, electrical and dielectric properties. *European Polymer Journal*, 94, 68-86. 2017.
- 22-Altan, M.; Yildirim, H. Effects of compatibilizers on mechanical and antibacterial properties of injection molded nano-ZnO filled polypropylene. *Journal of Composite Materials*, 46, 3189-3199. 2012. DOI: 10.1177/0021998312436999
- 23-Altan, M.; Yildirim, H. Mechanical and antibacterial properties of injection molded polypropylene/TiO₂ nanocomposites: effects of surface modification. *Journal of Materials Science & Technology*. 28. 686-692. 2012.
- 24-Bassani, A.; Pessan, L.A.; Hage, E. Toughening of polypropylene with styrene/ethylene-butylene/styrene tri-block copolymer: effects of mixing condition and elastomer content. *Journal of Applied Polymer Science*, 82. 2185-2193. 2001.
- 25-Melo, T.J.A.; Carvalho, L.H.; Calumby, R.B.; Brito, K.G.Q.; D'Almeida, J.R.M.; Spieth, E. Propriedades mecanicas e morfologia de uma blenda polimerica de PP/HIPS compatibilizada com SEBS. *Polimeros: Ciencia e Tecnologia*, 10. 82-89. 2000.
- 26-Vuluga, Z.; Panaitescu, D.M.; Radovici, C.; Nicolae, C.; Iorga, M.D. Effect of SEBS on morphology, thermal, and mechanical properties of PP/Organoclay nanocomposites. *Polymer Bulletin*. 69. 1073-1091. 2012.
- 27-Ghosh, A. *Technology of Polymer Packaging*. ISBN 978-1-56990-576-0, E-Book ISBN: 978-1-56990-577-7.
- 28-Nichols D. *Biocides in Plastics*. Rapra Review Reports. Vol 15. N 12. 2004.
- 29-Sirelkhathim, A.; Mahmud, S.; Seeni, A.; Kaus, N.H.M.; Ann, L.C.; Bakhori, S.K.M.; Hasan, H.; MOhamad, D. Review on Zinc Oxide nanoparticles:

- Antibacterial Activity and Toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7, 219-242. 2015.
- 30-Boxi, S.S.; Mukherjee, K.; Paria, S. Ag doped hollow TiO₂ nanoparticles as an effective green fungicide against *Fusarium solani* and *Venturiain aequalis* phytopathogens. *Nanotechnology*, 27, 85-103. 2016.
- 31-Macwan, D.P.; Dave, P.N.; Chaturvedi, S. A review on nano-TiO₂ sol-gel type synthesis and its applications. *Journal of Materials Science*, 46, 3669-3686. 2011.
- 32-Hebeish, A.A.; Abdelhady, M.M.; Youssef, A.M. TiO₂ nanowire and TiO₂ nanowire doped Ag-PVP nanocomposite for antimicrobial and self-cleaning cotton textile. *Carbohydrate Polymers*, 91, 549-559. 2013.
- 33-Seven, O.; Dindar, B.; Aydemir, S.; Metin, D.; Ozimel, M.A.; Icli, S. Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous suspensions with TiO₂, ZnO and Sahara desert dust. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 165, 103-107. 2004.
- 34-Kanjwal, M.A.; Barakat, N.A.M.; Sheikh, F.A.; Baek, W.; Khil, M.S.; Kim, H.Y. Effects of silver content and morphology on the catalytic activity of silver-grafted titanium oxide nanostructure. *Fibers and Polymers*, 11, 700-709. 2010.
- 35-Belver, C.; Bedia, J.; Gómes-Aviles, A.; Peñas-Garzón, M.; Rodriguez, J.J. Semiconductor Photocatalysis for water purification. *Nanoscale Materials in Water Purification*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813926-4.00028-8>. 2019
- 36-Macwan, D.P.; Dave, P.N.; Chaturvedi, S. A Review on nano-TiO₂ sol-gel type syntheses and its applications. *Journal of Materials. Science*. 46, 3669-3686. 2011.
- 37-Joe, A.; Park, S.H.; Shim, K.D.; Kim, D.J.; Jhee, K.H.; Lee, H.W.; Heo, C.H.; Kim, H.M.; Jang, E.S. Antibacterial mechanism of ZnO nanoparticles under dark conditions. *Journal of Industrial and engineering Chemistry*, 430-439, 45. 2017.
- 38-Li, Y.; Zhang, W.; Niu, J.; Chen, Y. Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxidative nanoparticles. *ACS Nano* 2012, 6, 6, 5164-5173

- 39-Hajipour, M.J.; Fromm K.M.; Ashkarran, A.A.; Aberasturi, D.J.; Larramendi, I.R.; Rojo, T.; Serpooshan, V.; Parak, W.J.; Mahmoudi, M. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, v 30,. 2012
- 40-Cabeen, M.T. and Jacobs-Wagner, C. (2005) Bacterial cell shape. *Nat. Rev. Microbiol.* 3, 601–610
- 41-Li, Y.; Tian, J.; Yang, C.; Hsiao, B.S. Nanocomposite Film containing fibrous cellulose scaffold and Ag/TiO₂ nanoparticles and its antibacterial activity. *Polymers*, 1052. Doi:10.3390/polym10101052.
- 42-Gasaymeh, S.S.; Radiman, S.; Heng, L.Y.; Saion, E.; Saeed, G.H.M. Synthesis and characterization of silver/polyvinilpirrolidone (Ag/PVP) nanoparticles using gamma irradiation techniques. *African Physical Review*, 31 – 41. 2010.
- 43-Nguyen, T.K.L.; Nguyen, T.A.T.; Dang, V.P.; Nguyen, N.D.; Le, A.Q.; Nguyen, Q.H. Synthesis of silver nanoparticles deposited on silica by γ -irradiation and preparation of PE/Ag nanocompound masterbatches. *Advances in Natural Sciences:Nanoscience and Nanotechnology*. 2013. Doi:10.1088/2043-6262/4/045004.
- 44-Belloni, J.; Marignier, J-L.; Mostafavi, M. Mechanisms of metal nanoparticles nucleation and growth studied by radiolysis. *Radiation Physics and Chemistry*. 169 – 177. 2020.
- 45-Zheng, J.; Clogston, D.; Patri, A.K. Handbook of Immunological Properties of Engineered Nanomaterials. Chapter 5 Sterilization Case Study 2: Effects of Sterilization Techniques on Silver Nanoparticles.
- 46-Hirota, K.; Sugimoto, M.; Kato, M.; Tsukagoshi, K.; Tanigawa, T.; Sugimoto, H. Preparation of zinc oxide ceramics with a sustainable antibacterial activity under dark conditions. *Ceramics International*, 36. 497-506. 2010.
- 47-Li, M.; Noriega-Trivino, M.E.; Nino-Martinez, N.; Marambo-Jones, C.; Wang, J.; Damoiseaux, R.; Ruiz, F.; Hoek, E.M.V. Synergistic Bactericidal activity of Ag-TiO₂ Nanoparticles in both light and dark conditions. *Environmental Science & Technology*. 45. 8989-8995. 2011. Dx.doi.org/10.1021/es201675m.

- 48-Seven, O.; Dindar, B.; Aydemir, S.; Metin, D.; Ozimel, M.A.; Icli, S. Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous with TiO₂, ZnO and Sahara desert dust. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 165. 103-107. 2004.
- 49-Gusatti, M., Rosário, J.A., Barroso, G.S., Campos, C.E.M., Riella, H.G., Kunhen, N.C. Synthesis of ZnO nanostructures in low temperature, *Chemical Engineering Transactions*, v. 17, 1017-1021 . 2009.
- 50-Ledwith, D.M.; Aherne, D.; Kelly, J.M. Approaches to the synthesis and characterization of spherical and anisotropic silver nanomaterials. In. *Metallic Nanomaterials*. Wiley-VCH.
- 51-Zhnag, Z.; Zhao, B.; Hu, L. PVP Protective Mechanism of Ultrafine Silver Powder Synthesized by Chemical Reduction Processes. *Journal of Solid State Chemistry* 121, 105-110. 1996.
- 52-Oliveira, G.M., Costa, L.M.M., Carvalho, A.J.F., Basmaji, P., Pessan, L.A. Novel LDPE/EVA nanocomposites with silver/titanium dioxide particles for biomedical applications. *Journal of Materials Science and Engineering B* 1 (2011) 516-522.
- 53-Nichols D. Biocides in Plastics. *Rapra Review Reports*. Vol 15. N 12. 2004.
- 54-Dizaj, S.M.; Lotfipour, F.; Barzegar-Jalali, M.; Zarrintan, M.H.; Adibkia, K. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering C*, 44. 278-284. 2014.
- 55-Kulshreshtha, N.M.; Jadhav, I.; Dixit, M.; Sinha, N.; Shrivastava, D.; Bisen, P.S. Nanostructures as Antimicrobial Therapeutcs.
- 56-Khan, S.T.; Al-Khedahairy, A.A.; *Metals and Metal Oxides: Important nanomaterials with antimicrobial activity*.
- 57-Wu, J.M.; Kao, W.T. Heterojunction Nanowires of Ag_xZn_{1-x}O-ZnO Photocatalytic and Antibacterial activities under Visible-Light and dark conditions. *Journal of Physical Chemistry C*. 119. 1433-1441. 2015.
- 58-Chen, P.; Gao, X.; Wang, Y.; Xu, T.; Fang, Y; Zhang, Z. Metal foam embedded in SEBS/paraffin/HDPE form-stable PCMs for thermal energy storage. *Solar Energy Materials & Solar Cells*, 149. 60 - 65. 2016.

- 59-Pierce, C.G.; Vila, T.; Romo, J.A.; Jauregui, M.D.; Wall, G.; Ramasubramanian, A.; Ribot, J.L.L. The *Candida albicans* Biofilm Matrix: Composition, Structure and Function. *Journal Fungi*, 3, 14 – 22. 2017.
- 60-Jaidev, L.R.; Narasinha, G. Fungal mediated biosynthesis of silver nanoparticles, characterization and antimicrobial activity. *Colloids and Surfaces* 81. 430 – 433. 2010..
- 61-Gotic, M.; ivanda, M.; Popovic, S.; Music, S.; Sekulic, A.; Turkovic, A.; Furic, K. Raman Investigation of nanosized TiO₂. *J. Raman Spectroscopy*. 28. 555-558. 1997.
- 62-Maria Terezinha C. Sansivieiro, Dalva Lucia A. de Faria. Influencia do tratamento térmico no nanocomposito fotocatalizador ZnO/TiO₂. *Quimica Nova*, vol 38, No.1, 55-59, 2015.
- 63-Kim, J.H.; Min, B.R.; Kim, C.K.; Won, J.; Kang, Y.S. Spectroscopic Interpretation of Silver Ion complexation with Propylene in Silver Polymer Electrolytes. *Journal Physical Chemistry B*. 106. 2786 – 2790. 2002.
- 64-Al-Shalalfeh, M.M.; Onawole, A.T.; Saleh, T.A.; Al-Saadi, A.A. Spherical silver nanoparticles as substrates in surface-enhanced Raman spectroscopy for enhanced characterization of ketoconazole. *Materials Science and Engineering C*, 76. 356-364. 2017.
- 65-Wang, Y.; Ruan, W.; Zhang, J.; Yang, B.; Xu, W.; Zhao, B.; Lombardi, J.R. Direct observation of surface-enhanced Raman scattering in ZnO nanocrystals. *Journal of Raman Spectroscopy*. 40. 1072 – 1077. 2009.
- 66-Sirelkhatim, A.; Mahmud, S.; Seeni, A.; Kaus, N.H.M.; Ann, L.C.; Bakhori, S.K.M.; Hasan, H.; Mohamad, D. Review on Zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*., 7. 219-242. 2015.
- 67-Bao, S.P; Tjong, S.C. Impact essential work of fracture of polypropylene/montmorillonite nanocomposites toughened with SEBS-g-MA elastomer. *Composites: Part A*, 38. 378 – 387. 2007.
- 68-Chen, P.; Gao, X.; Wang, Y.; Xu, T.; Fang, Y; Zhang, Z. Metal foam embedded in SEBS/paraffin/HDPE form-stable PCMs for thermal energy storage. *Solar Energy Materials & Solar Cells*, 149. 60 - 65. 2016.
- 69-Abutalib, M.M.; Rajeh, A. Influence of ZnO/Ag nanoparticles doping on the structural, thermal, optical and electrical properties of PAM/PEOI

- composite. *Physica B: Physics of Condensed Matter*, 578, 411 – 419. 2020.
- 70-Ubonchonlakate, K.; Sikong, L.; Saito, F. Photocatalytic disinfection of *P.aeruginosa* bacterial Ag-doped TiO₂ film. *Procedia Engineering* 32, 656-662. 2012.
- 71-Abedini, A.; Saraji, M.; Bakar, A.A.A.; Menon, P.S.; Shaari, S. Gamma-Radiation-Assisted Synthesis of Luminescent ZnO/Ag Heterostructure Core-Shell Nanocomposites. *Plasmonics* 13, 771-778. 2017
- 72-Tjong, S.C.; Bao, S.P.; Liang, G.D. Polypropylene/Montmorillonite nanocomposites toughened with SEBS-g-MA: Structure-Property Relationship. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, 43. 3112 – 3126. 2005.
- 73-Zheng, J.; Clogston, J.D.; Patri, A.K.; McNeil, S.E.; Dobrovolskaia, M.A. Sterilization case study 2: Effects of sterilization techniques on silver nanoparticles. In. *Handbook of Immunological Properties of Engineered Nanomaterials* 2016.
- 74-Prasad, S.G.; Lal, C.; Sahu, K.R.; Saha, A.; De, U. Spectroscopic investigation of degradation reaction mechanism in gamma-rays irradiation of HDPE. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11. 9405-9419. 2021.
- 75-Mara Tânia Silva Alcântara. Tese de Doutorado. Hidrogéis poméricos com nanopartículas de prata para aplicações médicas. Universidade de São Paulo. 2013.
- 76-Leonardo Guedes Marchini. Tese de Doutorado. Estudo da Incorporação de nanopartículas de prata na matriz polimérica de Termoplastico elastomérico poliéster (TPE-E) por diferentes técnicas de processamento visando ação biocida. Universidade de São Paulo. 2018.
- 77-Gugur, E.; Oluyamo, S.S.; Adetuyi, A.O.; Omotunde, O.I.; Okoronkwo, A.E. Green Synthesis of zinc oxide nanoparticles and zinc oxide-silver, zinc oxide-copper nanocomposites using *Bridelia ferruginea* as biotemplate. *SN Applied Sciences*, 2; 911 – 923. 2020. [HTTPS://doi.org/10.1007/s42452-020-2269-3](https://doi.org/10.1007/s42452-020-2269-3)
- 78- Svoboda, L.; Bednar, J.; Dvorsky, R.; Rybkova, Z.; Malachova, K.; Henych, J.; Matysek, D.; Nemeckova, Z. Novel synthesis of

Ag@AgCl/ZnO by different radiation sources including radioactive isotope ^{60}Co : Physicochemical and antimicrobial study. *Applied Surface Science*, 147 -156. 2020.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.
