Universidade Federal de Pelotas

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

Dissertação

Obtenção e aplicação biológica de nanocompósitos a base de óxido de grafeno

Ananda Morais Barbosa

Pelotas, 2013

ANANDA MORAIS BARBOSA

NANOCOMPÓSITOS A BASE DE GRAFENO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Área de Concentração Materiais Nanoestruturados da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr.Neftali L. V. Carreño

Co-Orientador: Profª. Drª. Margarete F. Gonçalves

Pelotas, 2013

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Neftali L. Villarreal Carreño (orientador) - UFPel - Eng. de Materiais

Profª. Drª.Margarete R. F. Gonçalves (co-orientadora) - UFPel - Eng. de Materiais

Profª. Drª. Márcia Foster Mesko - UFPel -Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

Profª. Drª. Daiane Dias - FURG - Escola de Química e Alimentos

Suplente:

Prof. Dr. Claudio M. P. Pereira - UFPel - Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

Aos meus amados pais, José Darci *(in memorian)* e Lindamir, irmão, Guilherme e ao sempre companheiro Rafael dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Obrigada Deus!

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais por viabilizar o curso mestrado e a execução desta dissertação.

À CAPES, CNPq e FINEP pelo auxílio financeiro que permitiu o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Professor Dr. Neftali Carreño pelos conhecimentos transmitidos, pela orientação e atenção durante a realização desta pesquisa.

À Professora Dr^{a}. Margarete Gonçalves pela atenção e todos os momentos de reflexão e apoio.

Ao Professor Dr. Darci Gatto pelo incentivo a me inscrever para seleção de mestrado.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, que certamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

À amiga Viviane Duarte, com a qual fico muito grata por ter convivido durante todo o mestrado e por toda força e dedicação que ajudaram a desenvolver este trabalho.

Às amigas desde o tempo de graduação Aline Machado e Thiara Santos por estarem ao meu lado em mais essa jornada.

Aos bolsistas de iniciação científica Gabriele Link e Gian Paganotto pela indispensável ajuda.

À Fernanda Nedel pelas análises, compreensão e simpatia e ao professor Flávio Demarco que permitiu os ensaios no Laboratórios do Núcleo de Biologia Celular e Tecidual – NCT-BIO da Faculdade de Odontologia da UFPel.

À Sonia Peralta pelas análises, disponibilidade e compreensão e ao professor Rafael Lund por permitir que os ensaios microbiológicos fossem realizados no laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia da UFPel.

À Alice Osório pelas análises realizadas no Laboratório de Materiais Cerâmicos – LACER do Departamento de Materiais da Escola de Engenharia da UFRGS.

À Cleni e Ricardo Marques pela grande amizade, pelo apoio e por me acolherem como filha.

A minha família pelo apoio e incentivo, principalmente a minha mãe por ser um grande exemplo.

Ao meu companheiro de todos os momentos, Rafael, pela compreensão, paciência e atenção a mim dedicadas.

Sem vocês a realização deste trabalho não seria possível. Muito obrigada!

Resumo

Barbosa, Ananda Morais. **Obtenção e aplicação biológica de nanocompósitos a base de óxido de grafeno.** 2013. 84f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O grafeno tem recebido grande atenção em diferentes áreas desde sua descoberta. Trata-se de um nanomaterial formado por átomos de carbono hibridizados na forma sp^2, configurados em uma rede cristalina conhecida como favos-de-mel. Neste trabalho, nanoestruturas de carbono foram obtidas por um método que utiliza serragem como biomassa. A obtenção das nanoestruturas carbonosas ocorreu por queima em forno tubular e foi utilizada uma lâmina de cobre como suporte. As nanoestruturas carbonosas obtidas na superfície do cobre foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia Raman demonstrando a formação de grafeno. Também foram desenvolvidos nanocompósitos poliméricos baseados em duas matrizes - uma biodegradável (baseado em Agar) e outra não-natural (baseada em Polidimetilsiloxano - PDMS) reforçados com partículas de óxido de grafeno recoberto por prata em diferentes concentrações. As partículas de óxido de grafeno foram obtidas pelo método de Hummers e Offeman e tiveram sua superfície modificada pela adição de um precursor de prata obtido pelo método Pechini. As partículas de óxido de grafeno recobertas por prata foram caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espectroscopia Raman. Nas matrizes poliméricas foram inseridas diferentes quantidades de partículas de óxido de grafeno recobertas por prata. Os nanocompósitos poliméricos tiveram sua atividade antibacteriana avaliada frente a bactéria Gram-positiva (G+) *Staphylococcus aureus* e a determinação da toxidade celular foi realizada em cultivo de células tipo fibroblastos de camundongos (NIH/3T3). Os resultados obtidos foram promissores e suportam futuras aplicações desses nanocompósitos poliméricos em uma grande variedade de pesquisas em saúde humana.

Palavras-chave: Óxido de grafeno. Serragem. Nanocompósito polimérico. Atividade antibacteriana. Citotoxidade.

Abstract

Barbosa, Ananda Morais. **Obtenção e aplicação biológica de nanocompósitos a base de óxido de grafeno.** 2013. 84p. Dissertation (Master) - Graduate Program in Materials Science and Engineering. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Graphene since its discovery has received great attention in many different areas. It is a single-atom-thick sheet of hexagonally arrayed sp^2-bonded carbon atoms. In this work, carbon nanostructures were obtained by method using sawdust as biomass. The obtaining of nanostructured carbon happened in tube furnace and used a copper foil as base. The carbon nanostructures obtained on copper were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and Raman spectroscopy demonstrated the formation of graphene. On the other hand, this study included the development of a polymer nanocomposites based on two matrix, one biodegradable (based on Agar) and other non-natural (PDMS) with graphene oxide previously functionalization with Ag nanoparticles fillers. The graphene oxide particles were obtained by Hummers and Offeman method and their surface was modified by addition of silver precursor obtained by Pechini method. The graphene oxide particles coated with silver were characterized by transmission electron microscopy (TEM) and Raman spectroscopy. In the polymer matrices were included different amounts of graphene oxide particles coated with silver. The polymer nanocomposites had antibacterial activity tested against Gram-positive (G+) *Staphylococcus aureus* and determination of cellular toxicity was performed in cell culture (mouse fibroblasts - NIH/3T3). The results were promising future applications and support these polymer nanocomposites in a wide variety of research on human health.

Keywords: Graphene oxide. Sawdust. Polymer nanocomposite. Antibacterial activity. Cytotoxicity.

Lista de Figuras

Figura 1 - Representação do alótropos do carbono: diamante (a), grafite (b), grafeno (c), carbono amorfo (d), fulereno C60 (e) e nanotubos de carbono de parede simples (f) (Adaptado de SUN; BARRON, 2010). 23
Figura 2 - Representação da dispersão das nanopartículas metálicas no óxido grafeno (Adaptado de VINODGOPAL et al., 2010). 33
Figura 3 - Ilustração da síntese das nanoestruturas de carbono em superfície da lâmina de cobre. 37
Figura 4 - Esquema do processo de síntese do óxido de grafeno. 38
Figura 5 - Esquema do processo de síntese do polímero a base de Agar. 40
Figura 6 - Imagem da solução à base de Agar sendo vertido em placa de petri. 41
Figura 7 - Esquema do processo aplicado na síntese do nanocompósito de matriz polimérica a base de Agar. 42
Figura 8 - Ilustração do preparo do polímero de ágar reforçado com nanopartículas de Ag/GO. 43
Figura 9 - Imagem do compósito de Agar com 1% de partícula após evaporação do solvente. 43
Figura 10 - Produto comercial Sylgard® 184 Silicone Elastomer utilizado na obtenção do polímero a base de PDMS. 44
Figura 11 - Esquema de preparo do polímero a base de PDMS. 45
Figura 12 - Esquema de preparo do nanocompósito de PDMS reforçado com partículas de Ag/GO. 46
Figura 13 - Esterilização dos polímeros em capela de fluxo laminar com luz UV (A); e amostras dos polímeros depositadas individualmente em tubos contendo TSB (B). 50
Figura 14 - Preparo das diluiões (A); diluições prontas e identificadas para serem plaqueadas em meio TSA (B); Após serem incubadas em estufa por 24 horas, placas prontas para contagem de unidades formadoras de colônias (ufc/cm2) das amostras que permaneceram 24 horas em estufa (C) e 120 horas (D). 51
Figura 15 - Espectro Raman das nanoestruturas de carbonona superfície de uma lâmina de cobre. 55
Figura 16 - Micrografia das nanoestruturas de carbono na superfície de lâmina de cobre obtida por MEV. 55

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Reagentes utilizados na obtenção da solução precursora prata. 39
Tabela 2 - Reagentes utilizados na obtenção do polímero a base de Agar. 41
Tabela 3 - Cronograma de execução 75

Lista de Abreviaturas e Siglas

Ácido cítrico - AC

Ácido desoxirribonucleico - DNA (*Deoxyribonucleic acid*)

Ácido sulfúrico - H_2SO_4

Ágar de soja trypticase - TSA (*Trypticase soy agar*)

Baixo peso molecular - LMW (*Low molecular weight*)

Brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio - MTT

Caldo de soja trypticase - TSB (*Trypticase soy broth*)

Centímetros - cm

Coleção de tipo de cultura americana- ATCC (*American type culture collection*)

Compósito de matriz polimérica - PMC (*Polymer matrix composite*)

Dimetilsulfoxido - DMSO

Dióxido de carbono - CO_2

Dióxido de titânio - TiO_2

Etilenoglicol – EG

Grafeno modificado quimicamente - CMG (*Chemically modified graphene*)

Gramas - g

Graus Celsius - ℃

Meio essencial modificado por Dulbecco - DMEM (*Dulbecco's modified eagle's medium*)

Metano - CH_4

Metro – m

Microlitro - µL

Micrometro - µm

Microscopia de força atômica - MFA (*AFM*)

Microscopia eletrônica de transmissão – MET (*TEM*)

Microscopia eletrônica de varredura – MEV (*SEM*)

Mililitro – mL

Milímetro - mm

Minuto - min.

Nanômetro - nm

Nanopartículas - NPs

Nanopartículas metálicas - MNPs (*Metal nanoparticles*)

Nitrato de prata - $AgNO_3$

Nitrato de sódio - $NaNO_3$

Nitrogênio gasoso - N_2

Núcleo de biologia celular e tecidual – NCT-BIO

Óxido de cobalto - Co_3O_4

Óxido de grafeno - GO

Óxido de grafeno reduzido - RGO (*Reduced graphene oxide*)

Partículas de óxido de grafeno recobertas por prata - Ag/GO

Partículas metálicas de prata - AgO

Permanganato de potássio - $KMnO_4$

Peróxido de hidrogênio - H_2O_2

Polidimetilsiloxano - PDMS - $(CH_3)_2SiO$

Prata - Ag

Seleneto de cádmio - CdSe

Soro fetal bovino - FBS (*Fetal bovine serum*)

Ultravioleta - UV

Unidades formadoras de colônias - UFC

Sumário

1 Introdução 14
2 Objetivos (Projeto de Pesquisa) 17
2.1 Objetivo Geral 17
2.2 Objetivos Específicos 17
3 Revisão de Literatura 18
3.1 Materiais Nanométricos 18
3.1.1 Materiais Nanoestruturados a Base de Carbono 21
3.1.1.1 Resíduos Madeireiros como Precursores de Carbono Nanoestruturado 23
3.2 Materiais Compósitos 26
3.2.1 Matriz Polimérica 26
3.2.1.1 Ágar 29
3.2.1.2 Polidimetilsiloxano (PDMS) 29
3.3 Nanocompósitos Poliméricos 31
3.4 Oxido de Grafeno Recoberto por Prata (Ag/GO) 32
4 Materiais e Métodos (Relatório do Trabalho de Campo) 36
4.1 Síntese de Nanoestruturas Carbonosas em Lâmina de Cobre 36
4.2 Síntese das Partículas de Óxido Grafeno Recobertas por Prata (Ag/GO) 37
4.3 Síntese do Polímero a Base de Agar 40
4.4 Síntese do Nanocompósito de Matriz Polimérica a Base de Agar 42
4.5 Síntese do Polímero a base de Polidimetilsiloxano (PDMS) 44
4.6 Síntese do Nanocompósito de Matriz Polimérica a Base de Polidimetilsiloxano 45
4.7 Técnicas de Caracterização 46
4.7.1 Microscopia Eletrônica 46
4.7.2 Espectroscopia Raman 47
4.7.3 Microscopia de Força Atômica (MFA) 48
4.7.4 Determinação da Atividade Antimicrobiana 49
4.7.5 Citotoxidade do Material 51
4.7.6 Morfologia Celular 53
5 Resultados 54
5.1 Caracterização das Nanoestruturas de Carbono na Superfície de Lâminas de Cobre 54

5.1.1 Espectro Raman 54
5.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 55
5.2 Artigo 57
6 Conclusões 71
7 Cronograma 75
8 Referências Bibliográficas 76

1 Introdução

As pesquisas em nanociência e nanotecnologia aumentaram ao longo dos últimos anos devido à possibilidade de desenvolvimento de materiais orgânicos, inorgânicos ou híbridos com um número infinito de arquiteturas e em diversas formas (NGO et al., 2009). Assim o desenvolvimento de matérias nanoestruturados tornou-se um tema de pesquisa muito amplo, no qual se tenta compreender e controlar os fenômenos físicos e químicos que influenciam a formação de diferentes morfologias. Esse avanço no desenvolvimento de nanomateriais é de fundamental importância pela interdisciplinaridade entre vários campos da ciência, e por permitir a obtenção de novos materiais com melhores propriedades, e aplicáveis em vários dispositivos modernos (RODRIGUES, 2010).

Tanto as propriedades físicas como as químicas de materiais em escala nanométrica são de imenso interesse e crescente importância para futuras aplicações tecnológicas. Materiais nanoestruturados, geralmente, exibem propriedades diferenciadas com relação aos demais materiais. Muitas das aplicações destes materiais estão diretamente relacionadas às suas propriedades estruturais. Em ciências de materiais, o tamanho das partículas figura como um parâmetro importante na explicação de vários fenômenos físicos e químicos, tais como propriedades elétricas, magnéticas e superficiais, entre outras, apresentadas por um determinado material (CARREÑO et al., 2008).

É crescente o interesse pelas nanoestruturas carbonosas devido suas propriedades químicas e físicas. Muitos estudos têm sido desenvolvidos para sua obtenção, caracterização e aplicação, devido ao seu enorme potencial e possibilidade de emprego nos mais variados setores em usos que envolvem nanocompósitos, armazenamento e produção de energia, armazenamento de hidrogênio, entre outros.

Métodos alternativos estão sendo desenvolvidos para obtenção de carbono nanoestruturado e materiais lignocelulósicos podem ser utilizados como biomassa. A serragem de madeira é um material lignocelulósico complexo que gera uma mistura heterogênea de nanoestruturas de carbono (SEVILLA et al., 2008). No presente trabalho propõem-se o desenvolvimento de um método para a obtenção de

nanoestruturas de carbono a partir de resíduos da indústria madeireira (serragem), funcionalizados na superfície do cobre.

O resíduo da indústria madeireira, que tem baixo valor agregado, representa neste estudo um material para obtenção de nanoestruturas carbonosas, com base na geração de uma atmosfera rica em carbono, para assim propiciar a formação das nanoestruturas de carbono e, dessa forma, gerar um material de alto valor agregado.

Este segmento inovador já vem sendo estudado por outros grupos de pesquisa, tendo a serragem como biomassa para obtenção de carbono nanoestruturado (SEVILLA et al., 2008; KORZENOWSKI et al., 2011).

Por outro lado, este estudo também propõe a aplicação de nanoestruturas como cargas (reforço) em duas matrizes poliméricas (Ágar e PDMS - Polidimetilsiloxano). Compósitos poliméricos com nanopartículas podem apresentar melhores propriedades mecânicas e funcionalidades únicas, possibilitando novos materiais funcionais, tais como polímeros antimicrobianos e implantes biocompatíveis (RAJA et al., 2013).

Embora nanocompósitos, com partículas bem dispersas em diversas matrizes poliméricas, tenham sido produzidos com graus variáveis de sucesso, as aplicações desses materiais estão ainda em fase inicial de estudo e algumas das questões fundamentais que envolvem a tecnologia dos nanocompósitos ainda precisam ser respondidas, a fim de que as propriedades e o comportamento desses materiais possam ser melhores controlados (MITTAL, 2009).

A adição de nanopartículas (cargas) em polímeros pode alterar profundamente as propriedades mecânicas, térmicas e ópticas do nanocompósito polimérico resultante devido a grande área superficial dessas nanopartículas. As nanopartículas podem ser de muitas formas diferentes, sendo as esféricas as mais amplamente estudadas (YANG, 2012).

Neste estudo, o material aplicado como reforço em matrizes poliméricas foram nanopartículas de óxido de grafeno recobertas com prata (nanopartículas Ag/GO). Óxido de grafeno (GO), um material de carbono bidimensional, tem atraído grande atenção. Além da estrutura em camadas com uma grande área de superfície,

o GO tem a capacidade de suportar grupos contendo oxigênio, tais como grupos hidroxilo, epóxido, carbonilo e grupos carboxilo em sua superfície. A presença de tais grupos não só permite que a boa dispersão em água que origina uma suspensão coloidal estável, mas também oferece a potencial aplicação como substratos em nanoescala para a fabricação de materiais compósitos flexíveis baseados em GO. Por exemplo, o GO tem sido utilizado como suporte de nanopartículas metálicas para aplicações catalíticas (MA etal., 2010).

A utilização do grafeno como suporte para prata possibilita a obtenção de um material com propriedades únicas no qual as melhorias podem ser ajustadas variando a quantidade de nanopartículas de prata sobre o óxido de grafeno (XU; WANG, 2009). Nanopartículas de prata apresentam eficiência antimicrobiana atribuída principalmente à ação de íons de prata (Ag^{+}) e nanopartículas metálicas de prata (AgO) (RHIM; WANG; HONG, 2013).

Neste trabalho foram realizados ensaios microbiológicos com o intuito de determinar a atividade antimicrobiana e a citotoxidade dos nanocompósitos poliméricos buscando investigar as possíveis aplicações do material desenvolvido.

Na próxima sessão são apresentados o objetivo geral e os objetivos específicos deste estudo. A seguir, é apresentada a revisão de literatura que deu embasamento teórico para o desenvolvimento deste trabalho, dividida em: Materiais Nanométricos, Materiais Nanoestruturados a Base de Carbono, Resíduos Madeireiros como Precursores de Carbono Nanoestruturado, Materiais Compósitos, Matriz Polimérica, Ágar, PDMS, Nanocompósitos Poliméricos e Óxido de Grafeno recoberto com Prata. Na seqüência, são detalhados os materiais e os métodos utilizados na obtenção e na caracterização das nanopartículas, dos polímeros a base de Ágar e PDMS e dos nanocompósito de matriz polimérica. Na sessão seguinte, são apresentados os resultados obtidos (artigo) e, posteriormente, a conclusão do trabalho.

2 Objetivos (Projeto de pesquisa)

2.1 Objetivo Geral

Obter e caracterizar nanoestruturas de carbono a partir de resíduos madeireiros. Potencializar o uso de derivados de óxido de grafeno em sistemas biocompátiveis com alto valor agregado.

2.2 Objetivos Específicos

- Revisão bibliográfica sobre a funcionalização de nanoestruturas de carbono, resíduos da indústria madeireira utilizados como biomassa na produção de carbono nanoestruturado, nanocompósitos poliméricos e nanopartículas de óxido de grafeno recobertas com prata;

- Obtenção do carbono nanoestruturado na superfície de uma lâmina de cobre e caracterizar as nanoestruturas obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia Raman;

- Obtenção de nanocompósitos de matriz polimérica (Ágar e PDMS) reforçados com nanopartículas de óxido de grafeno recobertas com prata e a caracterização das partículas por Espectroscopia Raman e Microscopia Eletrônica de Transmissão e a caracterização dos compósitos poliméricos por Microscopia de Força Atômica. Analisar a citotoxidade e atividade antimicrobiana dos polímeros e dos nanocompósitos.

3 Revisão de Literatura

3.1 Materiais Nanométricos

Nos últimos anos, os materiais obtidos em escala nanométrica de tamanho, os nanomateriais, tem despertado grande interesse O estudo de materiais cujos tamanhos das partículas que os constituem encontram-se na faixa dos nanômetros (chamados de nanomateriais) ganhou importância significativa no final do século XX, levando ao aparecimento e consolidação de toda uma área do conhecimento, hoje reconhecida como “Nanociência e Nanotecnologia” (ZARBIN, 2007).

A nanociência e nanotecnologia visam de maneira genérica à compreensão e o controle da matéria na escala nanométrica (SILVA, 2009) e são os ramos da ciência que mais se desenvolvem atualmente sendo fruto de altos investimentos em pesquisa (PASCHOALINO et al., 2010). Assim, a nanociência figura como uma das áreas mais atraentes e promissoras para o desenvolvimento tecnológico neste século (MACIEL; LONGO; LEITE, 2003).

Trata-se de um campo científico multidisciplinar que engloba o desenvolvimento de todo tipo de material dentro da escala nanométrica, isto é, numa dimensão muito pequena, onde 1nm corresponde a 10^{-9}m ou a bilionésima parte de um metro (RODRIGUES, 2010). É esperado que a nanotecnologia possa proporcionar a geração de novos produtos e novas oportunidades de mercado, através da integração da ciência e tecnologia (FERREIRA; RANGEL, 2009).

Na literatura científica são encontrados diversos termos relacionados à nanociência, dentre os quais se citam nanopartículas, nanocristais, nanofios, nanofitas, nanotubos, nanocompósitos, etc. Na realidade, todos estes são ou estão relacionados com materiais nanoestruturados, que apresentam características estruturais bem definidas (MACIEL; LONGO; LEITE, 2003).

Diferentes tipos de nanomateriais estão sendo descobertos a cada dia e, apresentam vantagens por viabilizarem produtos finais mais eficientes, leves, adequados e, principalmente, de baixo custo (PASCHOALINO; MARCONE; JARDIM, 2010). Os nanomateriais, em geral, são muito importantes porque se diferenciam de forma dramática dos seus precursores “*bulk*”. As propriedades destes

materiais são determinadas pelo tamanho e pela morfologia, originando uma fascinante sintonia em suas propriedades físico-químicas (FILHO; FAGAN, 2007).

Pode-se encontrar na literatura vários exemplos de como propriedades do tipo magnética, óptica, ponto de fusão, calor específico e reatividade de superfície podem ser afetadas pelo tamanho de partícula (MACIEL; LONGO; LEITE, 2003). As propriedades dos materiais, da maneira pela qual as conhecemos, são fortemente dependentes do tamanho das partículas deste material. Em outras palavras, todas as propriedades dos materiais (ópticas, elétricas, magnéticas, de transporte, catalíticas, etc.), da forma pela qual as conhecemos, manifestam-se a partir de um determinado tamanho, chamado de crítico. Quando as partículas deste material estão abaixo deste tamanho crítico, esta propriedade se torna diferenciada (ZARBIN, 2007).

Para um mesmo material, frequentemente o tamanho crítico é diferente para cada uma das suas propriedades (por exemplo, o tamanho crítico para propriedades ópticas de um determinado nanomaterial pode ser 20 nm, enquanto que para as propriedades magnéticas pode ser 80 nm). Para uma mesma propriedade, o tamanho crítico é diferente para diferentes materiais. Além disso, quando abaixo do tamanho crítico, as propriedades do material dependem também da forma das partículas, ou seja, nanopartículas esféricas com diâmetro de 5 nm têm propriedades diferentes daquelas encontradas para o mesmo material, mas com nanopartículas na forma de bastão com 5 nm de comprimento (ZARBIN, 2007).

As propriedades físicas e químicas de materiais em escala nanométrica são de imenso interesse e crescente importância para futuras aplicações tecnológicas. Materiais nanoestruturados geralmente exibem propriedades diferenciadas com relação aos demais materiais (MACIEL; LONGO; LEITE, 2003).

Todas as classes de materiais (metais, semicondutores, cerâmicas, polímeros, compósitos) podem ter suas propriedades moduladas sem que se altere sua composição química e/ou estrutura tridimensional, mas única e tão somente pelo controle do tamanho e formato de suas partículas. Para se obter a propriedade desejada deve-se procurar não só a composição química e a estrutura do material como também o tamanho e o formato de suas partículas (ZARBIN, 2007).

Desta forma, podemos definir nanomateriais como sendo materiais que possuem ao menos uma dimensão na faixa de tamanho nanométrica, abaixo do tamanho crítico capaz de alterar alguma de suas propriedades (ZARBIN, 2007).

Os avanços tecnológicos recentes têm fornecido meios e processos de fabricação que permitem reproduzir e estudar sistemas dimensionalmente reduzidos, para obtenção do controle na produção, visando aplicações diversas (SILVA, 2009). Praticamente todos os países no mundo tem se mobilizado para enfrentar as mudanças geradas por esta nova tecnologia através de programas nacionais, seja para apoiar pesquisas básicas (nanociência) ou para a exploração dos resultados no campo da nanotecnologia (ALENCAR, 2008).

Estudos recentes de materiais nanoestruturados têm projetado grande potencial em direção ao desenvolvimento de novos dispositivos e sensores com capacidades únicas e específicas. Para tal propósito, esses estudos levam em consideração as características elétricas e/ou químicas, a capacidade de alteração das propriedades eletrônicas do sistema em questão, se são quimicamente inertes ou não, se são biocompatíveis – quando usado como biossensores -, enfim o comportamento desses materiais nanoestruturados, no sistema a ser medido em questão (SILVA, 2009).

A descoberta e o avanço na produção de nanopartículas são de grande interesse em várias áreas de pesquisa, como a catálise, a microeletrônica, biosensores, indústria de cosméticos, medicina e novos fármacos (RODRIGUES, 2010), além do uso nos setores alimentício, eletrônico, farmacêutico, biotecnológico, agrícola e de segurança nacional (PASCHOALINO; MARCONE; JARDIM, 2010).

Para futuras aplicações tecnológicas, tornam-se de grande interesse as propriedades físicas e químicas de materiais nanoestruturas. Estes materiais apresentam propriedades bem diferenciadas com relação aos materiais de outras dimensões. Estas propriedades são resultantes do tamanho reduzido e da forma do material obtido. O domínio das propriedades, proveniente do controle da morfologia e constituição dos materiais, pode ser de grande utilidade, resultando em novas tecnologias (SILVA, 2009).

3.1.1 Materiais Nanoestruturados a Base de Carbono

O carbono é o quarto elemento mais abundante em massa no universo e possui uma incrível versatilidade em formar os mais diversos compostos que dão ao carbono o título, dentro da química, de o elemento base de toda vida terrestre. Mesmo o carbono sendo capaz de formar uma variedade de compostos, a maioria desses são pouco reativos sob condições normais de temperatura e pressão. Isto é uma tendência normal do elemento que possui em seus dois principais alótropos uma estabilidade química e física bastante acentuada. O grafite, apesar de ser uma das substancias mais maleáveis existentes, é extremamente estável juntamente com o diamante, que é a substância de maior dureza encontrada na natureza sob condições normais. Mesmo assim, o carbono possui uma incrível afinidade em formar ligações com todos os outros átomos através de ligações covalentes extremamente estáveis e ligações iônicas com metais (AGUIAR, 2008).

Toda a versatilidade do carbono esta relacionada ao fenômeno da hibridização, pois o carbono tem a capacidade química de se ligar de diferentes formas para criar estruturas com propriedades completamente diferentes, como, por exemplo, a grafita, o diamante, os fulerenos e os nanotubos. Isto ocorre porque no átomo de carbono, com a configuração eletrônica $1s^2\ 2s^2\ 2p^2$, os orbitais de valência 2s e 2p podem se misturar para formar três orbitais híbridos: sp^1, sp^2 e sp^3 (OLIVEIRA, 2009).

O carbono é capaz de se organizar em diferentes arquiteturas à escala nanométrica com um tempo de vida muito curto, originando uma variedade de estruturas estáveis com configurações poliatómicas diferentes, designadas como formas alotrópicas. Estas são estruturas bem diferenciadas, com um ordenamento espacial preciso dos orbitais em torno de um átomo central de carbono com distintos tipos de hibridação (sp^3, sp^2 e sp). O número e a natureza das ligações ao átomo de carbono determinam a geometria e as propriedades dos vários alótropos (MARTÍNEZ et al., 2013) .

Até ao início da década de 1920, as únicas estruturas organizadas conhecidas de carbono eram o diamante (hibridização sp^3) e a grafite (hibridização sp^2). Décadas mais tarde, o desenvolvimento de novos equipamentos de

caracterização (como espectroscópios e microscópicos eletrônicos) e o constante interesse na investigação das cadeias carbonadas, levaram à identificação de novas formas alotrópicas do carbono com hibridização do tipo sp^2 (MARTÍNEZ et al., 2013).

Dentre as estruturas de carbono em escala nanométrica estão os fulerenos, os nanotubos e o grafeno (OLIVEIRA, 2009). Em 1985 foi feita a primeira observação experimental do fulereno C60 e que em 1991, o pesquisador S. Iijima demonstrou a existência de outra família de formas elementares de carbono, os nanotubos de múltiplas camadas. Dois anos depois, em 1993, foi confirmada a existência de nanotubos de única camada. Em 2004, Geim e Novoselov observaram uma única folha formada por átomos de carbono, o grafeno (BARBOZA, 2008).

Uma única camada de átomos de carbono, densamente empacotados como um anel benzênico é denominada grafeno, este descreve um plano de grafite, ou seja, uma lâmina de carbono puro com a espessura de um único átomo. Os fulerenos constituem-se de moléculas esféricas ocas de carbono com uma superfície curva semelhante a uma folha de grafeno. As ligações químicas entre os átomos de carbono estabelecem configurações geométricas hexagonais e pentagonais. O nanotubo de carbono é uma forma alotrópica do carbono que possui uma estrutura formada por uma ou múltiplas folhas de grafeno enroladas de forma concêntrica e cilíndrica, com as extremidades fechadas. Estes podem ser de dois tipos: os de paredes simples, formados pelo enrolamento de uma única folha de grafeno e os de paredes múltiplas, onde várias folhas de grafeno se enrolam de forma concêntrica para formar os nanotubos de carbono (OSORIO, 2008). A Fig. 1 apresenta seis alótropos do carbono.

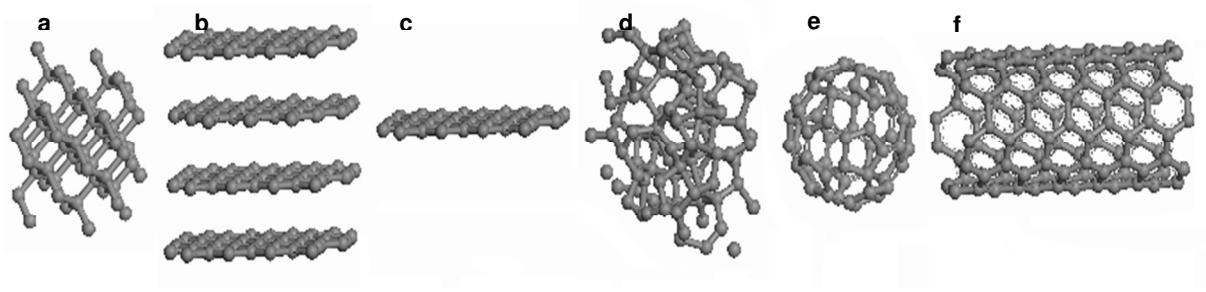


Figura 1 – Representação dos alótropos do carbono: diamante (a), grafite (b), grafeno (c), carbono amorfo (d), fulereno C60 (e) e nanotubos de carbono de parede simples (f). (Adaptado de SUN; BARRON, 2010).

O grafeno é um material muito interessante por apresentar grande área superficial específica (2630 m^2g^{-1}), alta mobilidade intrínseca (200000 $cm^2V^{-1}s^{-1}$), alto módulo de elasticidade (~1 TPa), condutividade térmica (~5000 $Wm^{-1}K^{-1}$), transmitância óptica (~97,7%) e boa condutividade elétrica possibilitando aplicações como eletrodos condutivos transparentes, entre muitas outras aplicações potenciais, tais como: transistores, sensores, filmes condutores transparentes, dispositivos de energia limpa e nanocompósitos polímero-grafeno (ZHU et al., 2010).

Os métodos mais comuns de obtenção de nanoestruturas de carbono são a descarga de arco, ablação a laser e deposição química de vapor. Estes procedimentos são complexos e normalmente requerem temperaturas muito altas (> 5000 °C), o que os torna caros e limitados em termos de escalabilidade. Por esta razão, existe um crescente interesse no desenvolvimento de processos simples e de baixo custo. Um método simples para a preparação de nanoestruturas de carbono é a carbonização a temperaturas moderadas (<1000 °C) de precursores de carbono. A serragem da madeira de pinus pode ser usada como precursor de carbono (SEVILLA et al., 2008).

3.1.1.1 Resíduos Madeireiros como Precursores de Carbono Nanoestruturado

A madeira é um material que vem sendo largamente utilizado pela humanidade ao longo da história (BIASI; ROCHA, 2006). Dentre os materiais de origem biológica, a madeira é sem dúvida o mais conhecido e utilizado, o lenho de uma árvore contém grande quantidade de substâncias que são utilizadas como matérias primas em quase todos os campos da tecnologia (KLOCK et al., 2005).

A madeira é heterogênea, sendo sua variabilidade estrutural e química refletida numa ampla gama de propriedades físicas. Como material, a madeira, é extremamente complexa, porosa e com características diferentes nos seus três sentidos de crescimento. A análise da composição química elementar da madeira de diversas espécies demonstra a seguinte composição percentual, em relação ao peso seco da madeira para os principais elementos: Carbono (49-50%), o Hidrogênio (6%), o Oxigênio (44-45%) e o Nitrogênio (0,1-1%). Além destes elementos encontram-se pequenas quantidades de Cálcio, Potássio, Magnésio e outros, constituindo as substâncias minerais existentes na madeira (KLOCK et al., 2005).

A produção florestal no Brasil destaca-se pela utilização de espécies de rápido crescimento, principalmente dos gêneros *Pinus e Eucalyptus*, nos seus mais variados setores. Espécies destes gêneros foram inicialmente implantadas para fornecer matéria prima principalmente aos segmentos de celulose e da siderurgia à base de carvão vegetal. No entanto, a evolução da indústria e o aumento da demanda, associadas à falta de uma política de utilização das florestas nativas e a pressão ambientalista levaram o setor florestal a uma diversificação no uso destas espécies. Dentre os segmentos que passaram a utilizar *Pinus e Eucalyptus* como fontes de matéria prima destacam-se as serrarias (ROCHA; TOMASELLI,2001).

Denomina-se serraria o local onde toras são armazenadas e processadas em madeira serrada, sendo posteriormente estocadas por um determinado período para secagem (BATISTA, 2006).

A produtividade da serraria é influenciada por diversos fatores, destacando-se a característica da matéria prima, a qualidade e o tipo de equipamento, o tamanho da planta e os tipos de produtos a serem produzidos (SOUZA et al., 2007). O rendimento volumétrico, também chamado de coeficiente de serragem, coeficiente de transformação ou ainda fator de rendimento é a relação entre volume produzido de madeira serrada e o volume de madeira utilizado na forma de tora, expresso em porcentagem (BIASE, 2005).

Diversos autores avaliaram o rendimento volumétrico em serrarias brasileiras, para madeiras de reflorestamento, permanecendo os resultados na faixa

de 35% a 45% (BRAND et al., 2002; BATISTA, 2006; JUNIOR et al., 2005).Por tanto, mais de 50% da matéria prima das serrarias tornam-se resíduos.

Considera-se os resíduos gerados pelo processo produtivo as cascas, costaneiras, refilos, aparas e serragem, sendo irracional não promover o aproveitamento máximo desses subprodutos do beneficiamento primário da madeira (JUNIOR et al., 2005).

Várias são as formas de aproveitamento de resíduos madeireiros, tais como o emprego na geração de energia para própria indústria ou o uso em painéis de madeira reconstituída. Porém, estudos vêm sendo desenvolvidos para o aproveitamento de resíduos de madeira visando à geração de nanoestruturas carbonosas.

O uso de resíduos da indústria madeireira como matéria-prima para obtenção de nanoestruturas é de extrema importância, pois propõem a geração de um material de alto valor agregado a partir de um resíduo que, na maioria das vezes, não possui destinação adequada. O resíduo madeireiro, por ser originário de uma fonte renovável, é ambientalmente correto além de apresentar baixo custo.

O aquecimento ou queima da madeira na ausência de oxigênio, conduz a pirólise, a qual produz uma grande variedade de produtos, deixando como resíduo o carvão. A madeira é estável a 100 ºC exceto pela eliminação da umidade. Entre 100 e 250 ºC a madeira escurece e perde sua resistência embora mantenha sua estrutura. A altas temperaturas (500 ºC) ocorre a carbonização e desprendem-se mais substâncias voláteis. A reação (na ausência de ar) torna-se exotérmica entre 275~280 ºC (KLOCK et al., 2005). Durante a pirólise da madeira, ocorre a síntese de carbono e a emissão de CO_2, CO e CH_4 (KORZENOWSKI et al., 2011).

A madeira quando impregnada com sais de metal de transição e calcinada, na ausência de ar, à temperaturas entre 800-1000 ºC, garantem a formação de carbono grafítico. As partículas de metal catalisam a conversão do carbono não organizado em carbono grafítico de acordo com um mecanismo de dissolução-precipitação. Este método sintético permite um controle preciso e independente da porosidade e da ordem grafítica. Deste modo, uma via sintética para obtenção de

nanoestruturas de carbono baseia-se na grafitização catalítica de um material lignocelulósico (serragem)(SEVILLA et al., 2007).

A utilização de serragem como matéria-prima para a síntese de nanoestruturas de carbono tem duas vantagens importantes: é um material barato e abundante, e o processo de síntese é curto e fácil porque pode ser realizado em simples e poucos passos (SEVILLA et al., 2007).

3.2 Materiais Compósitos

Muitas tecnologias modernas exigem materiais com combinações não-usuais de propriedades, as quais não podem ser atendidas pelas ligas metálicas, cerâmicas e materiais poliméricos convencionais. As combinações e as faixas das propriedades dos materiais foram, e continuam sendo, ampliadas pelo desenvolvimento de materiais compósitos (CALLISTER, 2008).

Um compósito pode ser considerado como qualquer material multifásico que exibe uma proporção significativa das propriedades de ambas as fases que o constituem, de tal modo que é obtida uma melhor combinação de propriedades (CALLISTER, 2008).

Em compósitos, as propriedades e a fração volumétrica de cada fase são importantes; também a extensão da conectividade entre fases deve ser conhecida. Normalmente a fase matriz é a fase contínua e a outra é chamada de fase dispersa. A conectividade descreve como as duas ou mais fases são unidas no compósito (ASKELAND E PHULÉ, 2008).

As propriedades dos compósitos são uma função das propriedades das fases constituintes, das suas quantidades relativas e da geometria da fase dispersa. Nesse contexto, por “geometria da fase dispersa”, subentende-se a forma das partículas, seu tamanho, sua distribuição e sua orientação (FARINA, 2012).

3.2.1 Matriz Polimérica

Os materiais poliméricos são constituídos por macromoléculas, produzidas pela união de moléculas menores. A maioria dos polímeros, sólidos ou líquido, possui carbono como base, porém eles também podem ser inorgânicos como os silicones baseados na estrutura de Si-O (ASKELAND E PHULÉ, 2008).

Os polímeros convencionais ou polímeros do tipo *commodity* têm amplo uso comercial, pois são materiais resistentes à corrosão e permitem produzir componentes leves e de pequena rigidez (ASKELAND E PHULÉ, 2008).

Os polímeros naturais, aqueles que são derivados de plantas e animais, têm sido usados há muitos séculos. Esses materiais incluem a borracha, o algodão, o couro. Proteínas, amidos, enzimas e celulose também são polímeros naturais. Ferramentas modernas de investigação científica tornaram possível a determinação das estruturas moleculares e o desenvolvimento de numerosos polímeros, os quais são sintetizados a partir de moléculas pequenas (CALLISTER, 2008).

Para melhorar as propriedades dos materiais poliméricos podem ser adicionadas cargas. Essas cargas incluem inúmeros materiais, tais como pó de madeira, pó e areia de sílica, vidro, calcário e o tamanho das partículas é variável entre dimensões nanométricas até macroscópicas. Polímeros que contêm cargas são classificados como materiais compósitos (CALLISTER, 2008).

Os compósitos são materiais multifásicos em que, geralmente, uma fase (a matriz) é contínua e envolve completamente a outra fase (a fase dispersa). Os compósitos com matriz polimérica (PMC - *Polymer Matrix Composites*) consistem em uma resina polimérica como a matriz, com fibras como o meio de reforço (CALLISTER, 2008).

Partículas (orgânicas e inorgânicas) são usadas para aumentar as propriedades físico-químicas dos materiais poliméricos, pois mantem suas vantagens de processamento e ainda ampliam o leque de aplicações tecnológicas. Exemplos de partículas incluem a adição de partículas de sílica ou nanotubos para melhorar o desempenho mecânico dos hospedeiros poliméricos (OJHA et al., 2013).

Os polímeros também apresentam aplicação biológica e têm sido extensivamente estudados em campos biomédicos como biossensores, na engenharia de tecido neural e em eletrodos neurais (LUO et al., 2013).

Os biopolímeros são exemplos bem conhecidos de materiais oriundos de fonte renovável e ambientalmente correto. Estes incluem polissacáridos, tais como celulose, amido, alginato, quitina / quitosano, polímeros de hidratos de carbono

produzidos por bactérias e fungos e biopolímerosde animais à base de proteínas, tais como lã, seda, colagénio e gelatina. Polímeros de origem natural oferecem propriedades interessantes de biocompatibilidade e biodegradabilidade (OKAMOTO; JOHN, 2013).

Uma das vantagens dos polímeros naturais é o reconhecimento biológico que pode apoiar positivamente a adesão e função celular, no entanto, muitos desses polímeros possuem propriedades mecânicas pobres e também estão limitados na oferta, podendo se tornar caros (OKAMOTO; JOHN, 2013).

Por outro lado, um aspecto importante na elaboração de polímeros são os plastificantes que podem ser adicionados aos polímeros para torná-los mais flexíveis. Os plastificantes são pequenas moléculas lubrificantes que podem alterar as propriedades e processabilidade dos polímeros (RABEK et al., 2013).

A formação de filmes depende da solubilização da macromolécula no solvente (água, etanol, ácido acético, outros), da adição de plastificante e/ou adição de agente reticulante ou outro aditivo que se deseja, para a obtenção de um gel. Para atenuar a alta rigidez de um polímero é necessário adicionar ao filme um plastificante, a fim de torná-lo mais manuseável, menos quebradiço e mais flexível (TURBIANI, 2007).

A escolha do plastificante a ser adicionado aos filmes poliméricos depende da compatibilidade deste com o polímero e o solvente utilizados, isto é, deve ser miscível no polímero e no solvente, de forma a evitar a separação prematura no decorrer do processo de secagem, causando uma diminuição na flexibilidade do filme (TURBIANI, 2007). O sorbitol é utilizado como plastificante em filmes poliméricos (PRAKASH et al., 2013), outros exemplos de agentes plastificantes são o glicerol (BERGO et al., 2013) e os poliisobutenos (NASCIMENTO et al., 2013).

O uso de agentes reticulantes também apresenta importante papel na melhoria de aspectos funcionais de polímeros. Alguns trabalhos na literatura mostram que a reticulação (formação de ligações cruzadas) pode melhorar as propriedades no estado gel, limitar o fenômeno de retrogradação e ainda aumentar a resistência mecânica do material formado (DELVILLE et al., 2003).O glutaraldeído e

epicloridrina são exemplos de materiais utilizados para melhorar a adesão na matriz polimérica (OLIVEIRA et al.,2013).

3.2.1.1 Ágar

O ágar é um biopolímero abundante derivado de algas vermelhas e constituídos por agarose e agaropectina. O componente mais predominante é um polímero linear, o dissacarídeo D-galactosee 3,6-anidro-L-galactopiranose (SKELHON et al,. 2013).

Em seu estado natural ocorre como carboidrato da parede celular de algas agarófitas, existindo na forma de sais de cálcio ou uma mistura de sais de cálcio e magnésio. É um complexo arranjo de polissacarídeos composto por duas frações principais: a agarose, um polímero neutro, que é a fração geleificante, e a agaropectina, um polímero com carga sulfatada (BASTIOLI, 2001).

O mecanismo de gelificação depende da formação da dupla hélice da cadeia polimérica da agarose na temperatura de gelificação. Estas hélices agregam assim rapidamente o sistema, promovendoa gelificação (SKELHON et al,. 2013).

O agar é um hidrocolóide que é amplamente utilizado na indústria de alimentos e farmacêutica. Entre as suas propriedades destacam-se o seu alto poder geleificante em baixas concentrações, baixa viscosidade em solução, alta transparência, gel termo-reversível e temperaturas de fusão/geleificação bem definidas (BASTIOLI, 2001).

Polímeros obtidos de fontes naturais são gradativamente mais valorizados por representarem uma nova categoria de materiais ambientalmente seguros para explorar suas aplicações (SIMKOVIC, 2008).

3.2.1.2 Polidimetilsiloxano (PDMS)

O polímero polidimetilsiloxano (PDMS) $(CH_3)_2SiO$, é um polímero linear de alta massa molar (≈ 1.000.000 g/mol). O PDMS é eficiente como matriz polimérica devido a algumas características, tais como: em temperatura ambiente este polímero é um fluido altamente viscoso, o que favorece a incorporação das cargas sem a

necessidade de aquecimento; a condutividade iônica do PDMS é muito baixa, assim qualquer mudança nas características de condutividade dos compósitos deve ser causada pelas cargas; o PDMS é também um polímero bastante inerte a ataques químicos por agentes oxidantes (MORAES; SARON, 2011).

Apesar de uma grande gama de propriedades interessantes e úteis, os polissiloxanos têm dois inconvenientes principais: propriedades mecânicas pobres e custos elevados. Existem duas principais abordagens para minimizar estas desvantagens: (a) a inserção de sequências de químicos orgânicos nosiloxano, seja na cadeia principal ou em cadeias pendentes e (b) a incorporação de pós inorgânicos, em geral de sílica, como material de enchimento na matriz de polissiloxano (ALEXANDRU et al., 2009).

Os compósitos de polidimetilsiloxano têm sido estudados por sua boa estabilidade térmica e oxidativa, baixa temperatura de transição vítrea, boas propriedades elétricas, baixa energia livre de superfície, resistência às intempéries, baixa toxicidade e baixa reatividade química. E, assim, eles têm sido usados como selantes, adesivos, elastômeros, agentes de acabamento e membranas de separação na área automotiva, indústria da construção civil, área de microeletrônica, indústria têxtil, indústria de tratamento de água (CHEN; HUANG; HU, 2013).

Mesmo sem cargas, o PDMS tem boa flexibilidade, boa resistência à degradação termo-oxidativa e térmica, porém apresenta fracas propriedades mecânicas e não pode atender ao requisito de serviço na indústria da borracha. Para ultrapassar este defeito, a literatura relata que uma variedade de cargas de reforço estão sendo introduzidana matriz PDMS por mistura física ou polimerização *insitu*. A sílica coloidal pirogenada é um exemplo de material amplamente utilizado como carga de reforço para melhorar as propriedades mecânicas dos materiais a base de PDMS na indústria de elastômeros. Até agora, grandes progressos foram feitos no sentido de reforçar as propriedades mecânicas de compósitos de PDMS (CHEN; HUANG; HU, 2013).

Uma série de esforços têm sido propostos para a construção de polissiloxano de alto desempenho reforçado com enchimentos sólidos em nanoescala, como a nanosílica, a argila, a alumina e o carbonato de cálcio. Embora os mecanismos de

reforço não sejam completamente compreendidos, existe um consenso geral de que eficazes ligações cruzadas adicionais decorrentes da interacção do enchimento nopolissiloxano na estrutura da rede desempenham um papel primordial no que diz respeito às propriedades dos compósitos. Além disso, a interacção carga-polissiloxano depende altamente das características específicas, tais como o tamanho das partículas, a química da superfície e da estrutura do material de enchimento. Tipicamente, o reforço é prontamente obtido com tamanhos de partículas inferiores a 100 nm e osemireforço com tamanhos de partículas menores do que 1000 nm (FANG et al., 2010).

3.3 Nanocompósitos Poliméricos

Nanocompósitos poliméricos são definidos como compostos com uma matriz polimérica e agentes de enchimento (cargas) que possuem menos de 100 nm, em pelo menos uma dimensão. Já nos estágios iniciais de desenvolvimento, nanocompósitos poliméricos exibem combinações únicas de propriedades não alcançáveis em outros sistemas compostos. Por exemplo, polímeros transparentes altamente condutores ou compósitos com melhoria simultânea em resistência e ductilidade. Esta multifuncionalidade é possível porque: (1) algumas nanopartículas têm propriedades únicas (como os nanotubos de carbono), (2) nanopartículas são pequenos defeitos ópticos, elétricos e mecânicos que fornecem a oportunidade de adicionar funcionalidade, sem diminuir a transparência resistência e ductilidade e (3) nanopartículas têm maior área de superfície do que enchimentos tradicionais, o que leva a uma região interfacial maiores com propriedades diferentes das do polímero (CHEN et al., 2013).

O interesse em aditivos nanoparticulados deriva da possibilidade de se conseguir uma melhoria nas propriedades desejadas com adição de baixas concentrações do material de enchimento, mantendo as outras propriedades do polímero, tais como transparência óptica e fácil processamento. Essa vantagem no uso de nanopartículas depende da capacidade para controlar a dispersão das partículas (OJHA et al., 2013).

O papel da microestrutura sobre as propriedades dos nanocompósitos poliméricos tem sido amplamente avaliado na literatura, e muitas vezes a dispersão

de partícula uniforme é considerada como a morfologia mais favorável para alcançar aperfeiçoamentomáximo das propriedades (OJHA et al., 2013).

As nanopartículas têm uma área de superfície elevada pelo que quando dispersas em matrizes poliméricas promovem alterações nas propriedades da matriz, relacionadas com a interação química específica entre as cargas e o polímero. Este tipo de interações pode influenciar a dinâmica molecular do polímero resultando em alterações significativas nas suas propriedades físicas, nomeadamente no seu comportamento térmico e/ou mecânico (ESTEVES et al., 2004).

Para obtenção de compósitos com distribuição uniforme e boa adesão na interface entre os componentes, usualmente utiliza-se um dos seguintes métodos (ESTEVES et al., 2004):

- Polimerização *"in situ"*: as nanocargas são adicionadas ao monômero líquido e posteriormente inicia-se a polimerização através do uso do calor, iniciador ou catalisador;

- Intercalação em solução: um solvente é utilizado para promover a dispersão das cargas e solubilização do polímero, posteriormente este solvente é evaporado e o nanocompósito é formado;

- Intercalação no estado fundido: consiste em misturar polímero e nanocarga numa temperatura superior ao ponto de fusão do polímero.

Outro aspecto importante é a afinidade química entre as cargas e o polímero. Na preparação dos nanocompósitos poliméricos existem duas estratégias principais para estabelecer interações químicas e físicas entre os componentes deste material. Uma das estratégias é o tratamento orgânico da superfície das partículas inorgânicas e a outra consiste na inserção prévia de um monômero hidrofílico na cadeia polimérica (PASSOS et al., 2011).

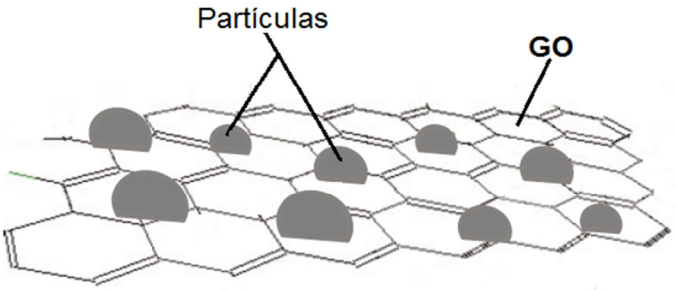
3.4 Oxido de Grafeno Recoberto por Prata (Ag/GO)

Como uma membrana robusta e flexível, o grafeno fornece infinitas possibilidades para modificação ou funcionalização de sua cadeia de carbono. Dentre os materiais que possibilitam a obtenção de grafeno, esta o óxido

de grafite, que oferece potencial para a produção de CMG (grafeno modificado quimicamente) com favorável custo-benefício, possibilitando a produção em larga escala de materiais baseados em grafeno (ZHU etal., 2010).

Materiais compósitos à base de grafeno têm atraído muita atenção, estudos recentes têm mostrado a sua utilidade em eletrônica, fotocatálise e dispositivos fotovoltaicos. O grafeno é capaz de aumentar o transporte de carga em uma infinidade de dispositivosdevido à sua estrutura única: uma abundância de elétrons deslocados dentro de sua rede carbono grafite, ligado por sp_2, possibilitam ao grafeno excelente condutividade (NG etal., 2010).

O grafeno pode ser usado como suporte para fixar nanopartículas metálicas (Au, Pt) e/ou semicondutoras (ZnO, TiO_2). Existem relatos na literatura da produção de compósitos de óxido de grafeno-metal e compósitos de óxido de grafeno-semicondutor (MARTÍNEZ et al., 2013). A Fig. 2 apresenta a dispersão das nanopartículas metálicas no óxido grafeno.



Partículas / Óxido de Grafeno (GO)

Figura 2 - Representação da dispersão das nanopartículas metálicas no óxido grafeno (Adaptado de VINODGOPAL et al., 2010).

O grafeno é atraente, em nanoescala, como bloco de construção para novos materiais. Nanopartículas metálicas (NPs) podem decorar folhas de grafeno formando nanocompósitos de grafeno com partículas metálicas. A integração do grafeno e das partículas funcionais resulta em novos híbridos com características especiais, com aplicações na óptica, elétrica catálise e em sensores (XU etal., 2008).

Várias partículas de metais-RGO (óxido de grafeno reduzido) e nanocompósitos de metal óxido de RGO incluindo paládio, prata, ouro, TiO_2, Co_3O_4

e partículas de CdSe tem sido desenvolvidas. Normalmente, estas são sintetizadas utilizando GO como o precursor, seguido pela sua redução para restaurar parcialmente a condutividadedo grafeno puro. Estes métodos de redução de GO são em grande parte dominados por redução química, utilizando a altamente tóxica hidrazina e seus derivados, a redução térmica, a redução eletroquímica, a redução solvotérmica e a redução sonolytic. Embora eficazes, alguns desses métodos tem elevado gasto de energia, utilizam substâncias tóxicas e necessitam de altas temperaturas (NG et al., 2010).

As pesquisas realizadas para produzir partículas de compósitos grafite-metal envolvem os métodos de deposição electroquímica, evaporação de metal, e redução de hidrogênio metálico composto de sais de grafite. No entanto, a dificuldade na síntese em grande escala destes compósitos torna-se um obstáculo na sua aplicação (XU etal., 2008).

O método bastante utilizado para obtenção de nanocompósitos de partículas de grafeno-metal, empregado também neste trabalho, é o método desenvolvido por Hummers e Offeman no qual a oxidação de grafite para óxido de grafite é realizada tratando o grafite com uma mistura livre de água, com ácido sulfúrico concentrado, nitrato de sódio e permanganato de potássio (HUMMERS; OFFEMAN, 1957).

Por outro lado, os avanços na preparação e caracterização do grafeno e do oxido de grafeno possibilitaram a recente exploração deste material em sistemas biológicos, demonstrando potencial emprego em biosensores, engenharia de tecidos e "*drug delivery*". Até o momento, os estudos que avaliam a biocompatibilidade do grafeno e do oxido de grafeno foram inconclusivos, com alguns relatos demonstrando que dependendo da dose ocorre grave toxicidade, enquanto outros indicam que esses nanomateriais podem aumentar o crescimento celular (LUO et al., 2013).

Adicionalmente, a prata (Ag) tem sido estudada a muito tempo como um agente antibacteriano. As nanopartículas de Ag apresentam a capacidade de liberar íons capazes de inativar o microorganismo por destruição da membrana celular, de replicação do DNA e podem causar danos na membrana celular bacteriana

levando a um aumento da permeabilidade, e, eventualmente, resultar na morte da célula (MA et al., 2011).

Nanopartículas de prata com base em sais de prata ou prata metálica podem ser facilmente incorporadas em polímeros termoplástico à base de petróleo, tais como polietileno, polipropileno, poliestireno e nylon, como também em biopolímeros, tais como quitosana e amido. A eficiência antimicrobiana destes nanocompósitos é muito influenciada por vários fatores, tais como: tamanho de partícula, distribuição de tamanho, grau de aglomeração de partículas, conteúdo de prata e interação da superfície da prata com a base polimérica. A fim de explorar plenamente as propriedades das nanopartículas de prata, elas devem ser bem dispersas na superfície da matriz polimérica sem a formação de aglomeração ou pode ocorrer a redução do do efeito antimicrobiano das nanopartículas de prata (RHIM et al.,2013).

A deposição de nanopartículas de Ag sobre a superfície do óxido de grafeno possibilita melhoria na atividade antibacteriana devido o efeitosinérgico das nanopartículas de Ag e GO (MA et al., 2011).

Existem crescentes preocupações com o efeito de nanomateriais sobre a saúde humana. Alguns nanomateriais foram relatados como citotoxicicos. Estudos recentes têm mostrado que as nanopartículas podem facilmente passar através das membranas de células e mesmo barreiras biológicas e interagir com sistemas biológicos, o que pode criar toxicidade para as células (KAWATA; OSAWA; OKABE, 2009). Ao mesmo tempo, os relatos sobre a biocompatibilidade e atividade antimicrobiana do óxido de grafeno são conflitantes (RUIZ et al., 2011). A fim de investigar usos biológicos dos polímeros reforçados com nanocargas de Ag/GO foram realizados ensaios de citotoxidade e atividade antibacteriana.

4 Materiais e Métodos (Relatório do Trabalho de Campo)

Este capítulo expõe a descrição da metodologia e dos meios materiais utilizados no presente trabalho, a fim de permitir uma melhor compreensão e a reprodução dos experimentos realizados.

4.1 Síntese de Nanoestruturas Carbonosas em Lâmina de Cobre

A lâmina de cobre foi o material escolhido como substrato de deposição e crescimento do carbono nanoestruturado obtido a partir da queima da serragem. A literatura relata o cobre como um bom substrato por proporcionar o crescimento do carbono nanoestruturado em uma área grande e com um tamanho de grão satisfatório (LI et al., 2009).

Inicialmente os substratos de cobre foram cortados, pois se encontravam em forma de chapa, e as amostras adquiriram as dimensões 50 x 10 x 1 mm, aproximadamente. Após serem lavados, para remoção de impurezas que pudessem prejudicar a deposição, e secos os substratos estavam prontos para próxima etapa em que foram posicionadas sobre barquinhas para o tratamento térmico junto com a serragem em forno tubular.

A serragem de *Pinus elliottii* utilizada neste trabalho é oriunda do desdobramento primário em uma serra fita. Foi realizado o peneiramento para se obter uniformidade no tamanho das partículas, sendo a serragem utilizada a passante pela peneira com abertura 2,36 milímetros (mesh 8) e posteriormente a serragem foi seca em estufa para eliminação da chamada "água livre" da madeira, até que atingisse peso constante, no qual a umidade da madeira fica em torno de 12%. Para o tratamento térmico a serragem foi colocada em barquinhas.

Por fim, para obtenção das nanoestruturas de carbono na superfície do cobre, ocorreu a calcinação da serragem, num forno tubular da marca Maitec/INTI, modelo FT-1200 a 700 ℃ por 60 minutos com uma taxa de aquecimento de 10 ℃ por minuto e com fluxo de metano. O resfriamento se deu em atmosfera de nitrogênio para que não ocorresse a oxidação da amostra. Para realização do tratamento térmico, foi inserido um grama de serragem em uma barquinha cerâmica, própria para calcinação em fornos tubulares, e a lâmina de cobre foi posicionada sobre outra

barquinha cerâmica. As duas barquinhas foram introduzidas no forno tubular. O forno e a disposição dos materiais utilizados para obtenção das nanoestruturas carbonosas em lâmina de cobre estão representados na Fig. 3.

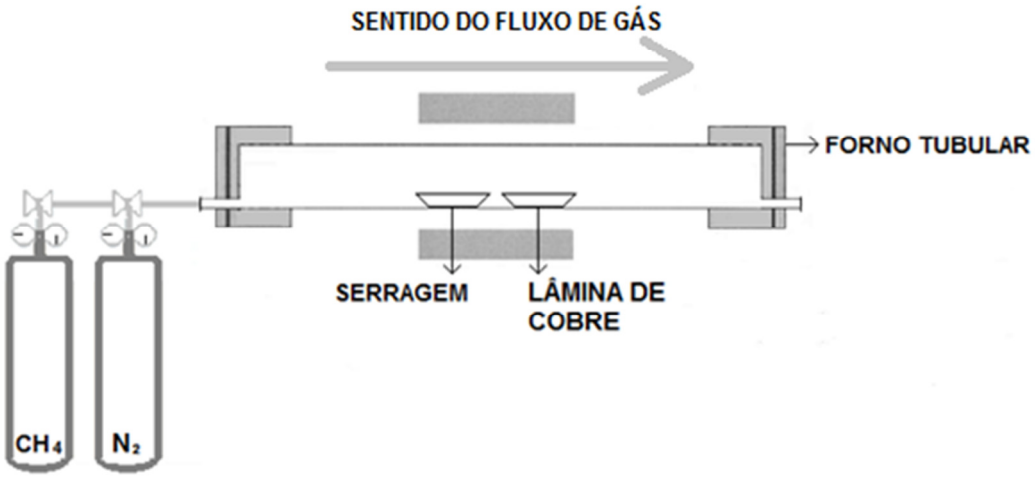


Figura 3 - Ilustração da síntese das nanoestruturas de carbono em superfície da lâmina de cobre.

4.2 Síntese das Partículas de Óxido Grafeno Recobertas por Prata (Ag/GO)

O óxido de grafeno foi obtido pelo método de Hummers e Offeman. Este método vem sendo bastante citada pela literatura como um processo viável para obtenção de GO (OH et al., 2010; SUGIMOTO; KIMURA, 2013) .

Grafite é feito de camadas de grafeno, que é uma estrutura bidimensional condutora. Se é oxidado no ar, CO e CO_2 são produzidos. No entanto, se a oxidação é cuidadosamente controlada em laboratório, pode-se isolar o GO. O GO tem atraído muita atenção pelo baixo custo e aplicações já que pode ser usado na obtenção de nanopartículas metálicas (LEE et al., 2010).

Primeiramente, 1 g de pó de grafite, pesado em balança analítica e foi adicionado a 23 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, sob agitação e resfriadoa 0 ℃ em banho de gelo.

Nesta mistura adicionou-se 0,5 g de nitrato de sódio ($NaNO_3$), seguido pela adição cuidadosa de 3 g de permanganato de potássio ($KMnO_4$). Durante esta etapa, a velocidade de adição foi cuidadosa de modo a manter a temperatura abaixo

dos 20 °C. Após a adição, o banho de gelo foi removido e a mistura agitada durante 30 minutos nas condições ambientes.

Posteriormente, elevou-se a temperatura para cerca de 100 °C e 46 mL de água deionizada foram adicionados. Depois de mais 15 minutos, adicionou-se 140 mL de água deionizada e 10 mL de solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 30%. O precipitado produzido foi separado e lavado com água deionizada por centrifugação, antes de ser seca sob vácuo a 50 °C. Na fig. 4 ilustra-se esquematicamente o processo de síntese do óxido de grafeno.

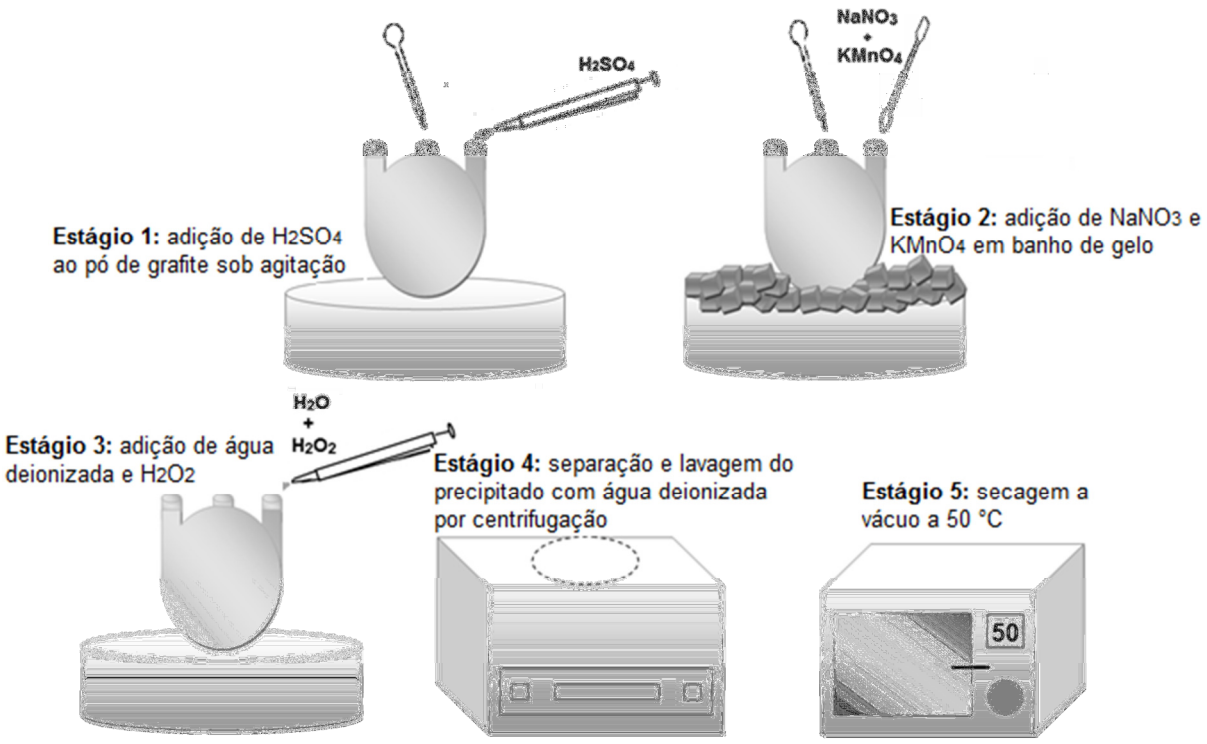


Figura 4 - Esquema do processo de síntese do óxido de grafeno.

Para modificação superficial do GO com prata foi realizada a redução de um precursor de prata ($AgNO_3$) pelo método Pechini. O método Pechini se baseia na síntese de um poliéster a partir de uma reação de condensação de um polihidroxi-álcool, geralmente etilenoglicol (EG), com um alfa-hidroxicarboxílico, como o ácido cítrico (AC). Para isso, é formada uma solução contendo AC, EG e a quantidade estequiométrica de metal ou metais desejados. Nesta solução espera-se que a mistura de sais metálicos (cloretos, carbonatos, nitratos) reaja com o ácido carboxílico, formando citratos metálicos que, quando submetidos a agitação e aquecimento moderado (entre 70 e 100 °C) passam por reações de condensação e

poliesterificação (decorrente da adição de EG) com a formação de uma molécula de água. Sucessivas reações de poliesterificação podem ocorrer entre o AC e o EG formando um polímero. O objetivo deste método é promover uma distribuição homogênea dos diferentes íons metálicos ao longo do polímero formado (KROLOW, 2010). O material resultante dessa síntese química é então calcinado para a eliminação da parte orgânica, resultando no óxido dos elementos desejados (ZAMPIERI, 2009). Ocorre a formação do chamado "*puff*", que depois poderá sofrer tratamentos térmicos diferenciados, conforme aplicação desejada (KROLOW, 2010).

Os reagentes utilizados na síntese da solução precursora de prata, bem como suas fórmulas, procedência e quantidades estão descritas na tab. 1.

Tabela 1 - Reagentes utilizados na obtenção da solução precursora de prata.

Reagente	***Fórmula Molecular***	***Fornecedor***	***Pureza (%)***
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$	Aldrich	99,50
Etilenoglicol	$C_2H_4(OH)_2$	Aldrich	99,69
Nitrato de prata	$AgNO_3$	Synth	-

A solução precursora de prata foi obtida com a adição do Ácido Cítrico a solução 1% de nitrato de prata (50 mL), mediante aquecimento (85 °C) e agitação, até que o sal do metal estivesse completamente dissolvido.

Logo após, como agente polimerizante, o Etilenoglicol foi acrescentado, na proporção 20/80 de Etilenoglicol em relação ao Ácido Cítrico, mantendo o aquecimento e a agitação. Tendo em vista a obtenção de uma solução liquida e pouco viscosa, esperou-se apenas o tempo necessário para que houvesse a total homegeneização da solução, 90 minutos. Em recipiente aberto e sob agitação obteve-se como produto a solução precursora.

Para obtenção das partículas de óxido de grafeno recoberto por prata, 0,4g de óxido de grafeno foram adicionados e agitados a 80°C por uma hora. As partículas foram retiradas por filtração e secas mediante vácuo a 50°C por 12 horas.

Posteriormente, o material resultante (um pó preto) foi calcinado a 450°C por duas horas em atmosfera de N_2.

4.3 Síntese do Polímero a Base de Agar

Para obtenção do polímero, o Agar foi pesado em balança analítica (1,50 g) e colocado em copo de béquer com o volume de água destilada necessário para cobrir o fundo do recipiente utilizado como molde, uma placa de Petri de 13 cm de diâmetro, para o qual se estabeleceu um volume de 50 mL de água destilada. O béquer contendo Agar e água foi colocado sob agitação e aquecimento a temperatura de 100 °C, até total dissolução do Agar. Tanto o agente plastificante quanto o agente reticulante foram adicionados à mistura ainda sob aquecimento e agitação até completa homogeneização. Por fim, a solução foi vertida em placa de Petri e permaneceu em temperatura ambiente (20 °C) até evaporação do solvente e formação do filme polimérico. A fig. 5 ilustra esquematicamente o processo de síntese do polímero a base de Agar.

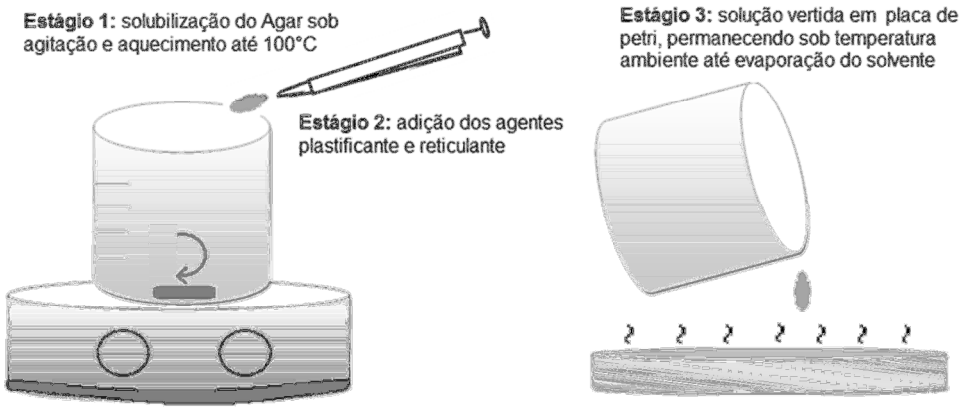


Figura 5 - Esquema do processo de síntese do polímero a base de Agar.

Os reagentes utilizados na obtenção do polímero, bem como suas fórmulas moleculares, fabricante, pureza e quantidades utilizadas estão descritas na Tab.2.

Tabela 2 - Reagentes utilizados na obtenção do polímero a base de Agar.

Reagente	***Fórmula molecular***	***Fabricante***	***Pureza (%)***	***Quantidade*** *
Agar	$(C_{12}H_{18}O_9)_n$	Sigma-Aldrich	-	1,50 g
Sorbitol	$C_6H_{14}O_6$	Synth	70%	1,50 mL
Glutaraldeído	$C_5H_8O_2$	Vetec	50%	150 µL

* Quantidade de reagentes estabelecida para um volume de 50 mL de água destilada.

A solução formada foi vertida ainda quente (100 ℃) em placa de petri que serviu de molde para o filme como esta apresentado na fig. 6.

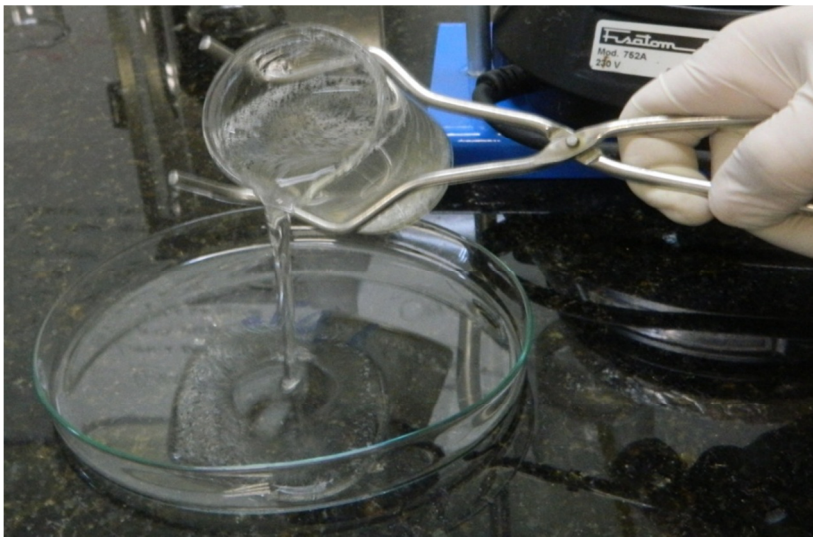


Figura 6 - Imagem da solução à base de Agar sendo vertido em placa de Petri.

4.4 Síntese do Nanocompósito de Matriz Polimérica a Base de Agar

A Fig. 7 ilustra esquematicamente o processo de síntese do nanocompósito de matriz polimérica à base de Agar.

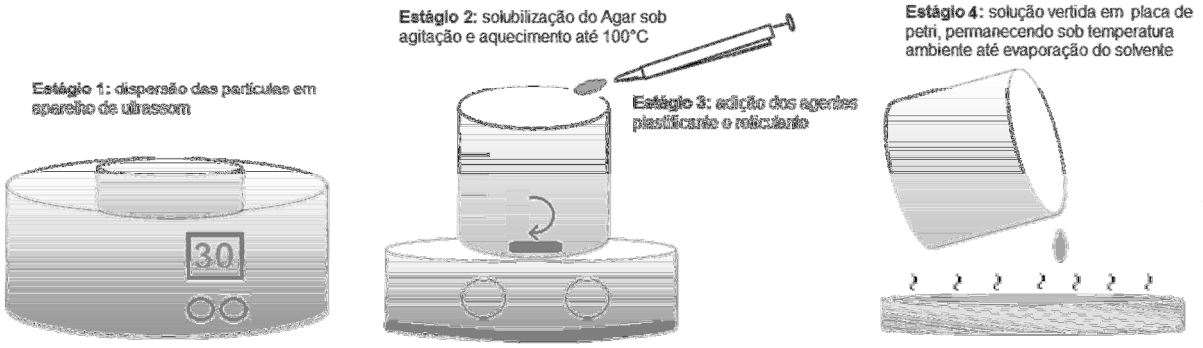


Figura 7 - Esquema do processo aplicado na síntese do nanocompósito de matriz polimérica a base de Agar.

As partículas foram pesadas e adicionou-se água destilada para se proceder sua dispersão em aparelho de ultrassom de banho pelo período de 30 minutos para ambas as concentrações de partículas usadas. As concentrações utilizadas foram de 0,5% e 1% de partículas de Ag/GO em relação a massa de Agar utilizada para obtenção do polímero. Após dispersão das partículas de Ag/GO no volume de água destilada que será utilizado para obter o polímero, procedeu-se a pesagem do Agar e adição deste à mistura, sob agitação e aquecimento até temperatura de 100 ℃. Então, acrescentou-se o agente plastificante e reticulante, nas mesmas quantidades demonstradas no item anterior. A fig. 8 apresenta a síntese do polímero de ágar reforçado com nanopartículas de Ag/GO.

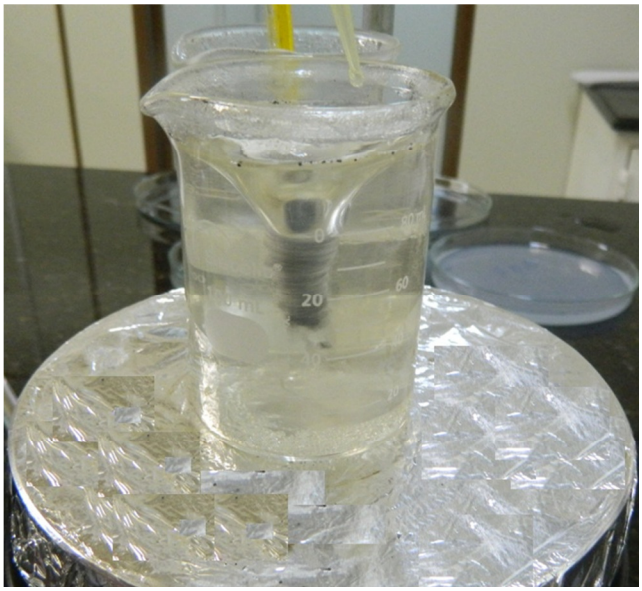


Figura 8 – Ilustração do preparo do polímero de ágar reforçado com nanopartículas de Ag/GO.

A solução formada foi vertida ainda quente (100 ℃) emplaca de petri que serviu de molde para o compósito. O material permaneceu a temperatura ambiente, em local plano e ao ar livre até completa evaporação do solvente, como ilustrado na fig. 9.

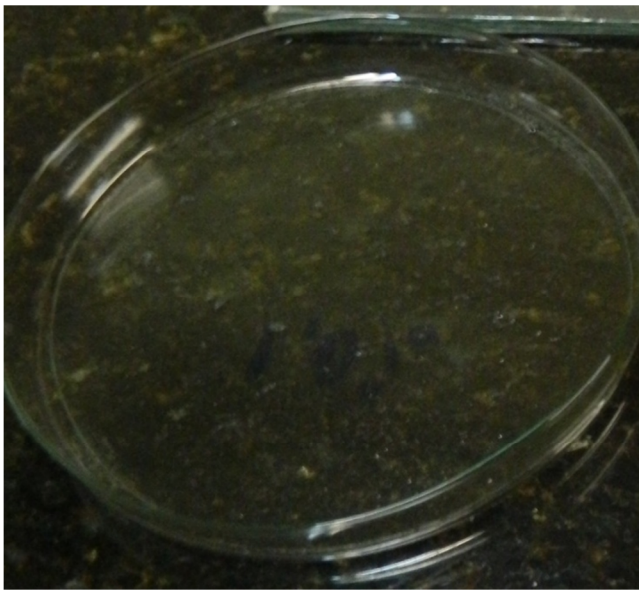


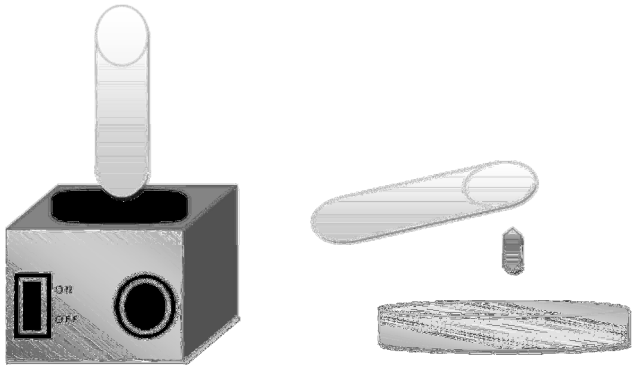
Figura 9 - Imagem do compósito de Agar com 1% de partícula após evaporação do solvente.

4.5 Síntese do Polímero a Base de Polidimetilsiloxano (PDMS)

O polímero a base de Polidimetilsiloxano (PDMS) foi obtido a partir do produto comercial *Sylgard*® 184 Silicone Elastomer, constituído de duas partes: o polidimetilsiloxano e o elastômero (Fig. 10), com uma relação de mistura de 10:1. Ambos os produtos são líquidos e transparentes.

Figura 10 - Produto comercial Sylgard® 184 Silicone Elastomer utilizado na obtenção do polímero a base de PDMS.

O método de preparo empregado foi o descrito pelo fabricante, em que a relação de mistura é de 10:1. Adicionou-se 3 g de polidimetilsiloxanoa 0,3 g do elastômero em tubo falcon, agitado em agitador tipo vortex até a obtenção de uma mistura homogenea (três minutos), sendo posteriormente vertido em placa de Petri (Fig. 11).



Estágio 1: adição de 3 g de PDMS a 0,3 g de elastômero em tubo falcon e posterior agitação em vortex.

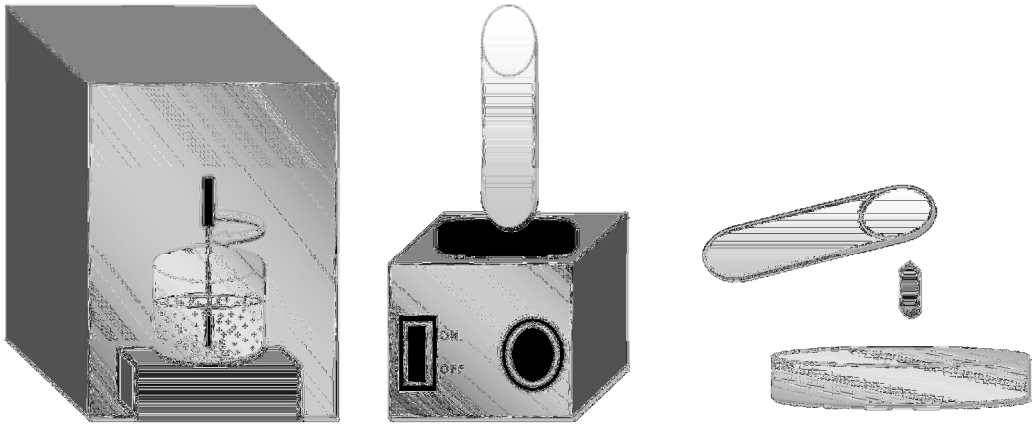
Estágio 2: solução sendo vertida em placa de Petri.

Figura 11 - Esquema de preparo do polímero a base de PDMS.

O material permaneceu a temperatura ambiente, em dessecador sob vácuo por dois dias para evaporação do solvente e cura do material.

4.6 Síntese do Nanocompósito de Matriz Polimérica a Base de Polidimetilsiloxano

As partículas de Ag/GO foram pesadas (8 mg) e adicionou-se etanol (10 mL) para se proceder sua dispersão em aparelho de ultrassom pelo período de 5 minutos. As concentrações utilizadas foram de 0,5 mL, 1 mL e 2 mL retirados dos 8 mg de partículas dispersas em etanol. Após a dispersão, as partículas em etanol foram adicionadas ao polidimetilsiloxano (3 g), em tubo falcon, para posterior agitação em vortex por três minutos e adicão do elastômero (0,3 g), prosseguindo a agitação por um minuto. Após, o compósito foi vertido em placa de petri (Fig. 12).O material permaneceu a temperatura ambiente, em dessecador sob vácuo por dois dias para evaporação do solvente e cura do material.



Estágio 1: partículas de Ag/GO dispersas em etanol em aparelho de ultrassom de ponta

Estágio 2: adição de 3 g de PDMS a 0,3 g de elastômero em tubo falcon e posterior agitação em vortex

Estágio 3: solução sendo vertida em placa de Petri

Figura 12- Esquema de preparo do nanocompósito de PDMS reforçado com partículas de Ag/GO.

4.7 Técnicas de Caracterização

4.7.1 Microscopia Eletrônica

O microscópio eletrônico é capaz de ampliações de até 10^9 vezes. Uma imagem da estrutura investigada é formada usando feixes de elétrons no lugar de radiação luminosa. De acordo com a mecânica quântica, um elétron a alta velocidade tem características ondulatórias, possuindo um comprimento de onda que é inversamente proporcional a sua velocidade. Quando acelerado através de grandes voltagens, os elétrons podem adquirir comprimentos de onda da ordem de 0,003 nm. As grandes ampliações e poderes de resolução desses microscópios são consequências dos curtos comprimentos de onda dos feixes de elétrons. O feixe de elétrons e focado e a imagem é formada por lentes magnéticas. Os microscópios eletrônicos podem ser operados por feixes de transmissão e de reflexão (CALLISTER, 2008).

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) é uma técnica para a formação de imagens e análise de microestruturas que utiliza feixes de elétrons de alta energia (ASKELAND; PHULÉ, 2008). A imagem é formada por um feixe de elétrons que passa através da amostra. Os contrastes da imagem são produzidos por diferenças na dispersão ou difração do feixe entre os vários elementos ou

defeitos na microestrutura. A amostra deve ser preparada na forma de uma folha muito fina (isso assegura a transmissão através da amostra de uma fração apreciável do feixe incidente). As ampliações por MET se aproximam de 1.000.000 de vezes (CALLISTER, 2008).

Na microscopia eletrônica de varredura (MEV) a superfície de uma amostra a ser examinada é varrida com um feixe de elétrons e o feixe de elétrons refletido é coletado e, então, exibido, na mesma taxa de varredura, sobre um tubo de raios catódicos. A superfície do material a ser analisado deve ser condutora de eletricidade (um revestimento metálico muito fino deve ser aplicado sobre materiais não-condutores). As ampliações por MEV variam entre 10 e mais de 50.000 vezes (CALLISTER, 2008).

A microestrutura da lâmina de cobre recoberta com nanoestruturas carbonosas foi analisada no laboratório de microscopia da UFPel empregando-se um Microscópio Eletrônico de Varredura marca SHIMADZU e modelo SSX-550. A corrente do feixe utilizado foi de 1PA e a potência do feixe de 15kv.

A microestrutura das partículas de óxido de grafeno recobertas por prata foi análizada no *Nano-Electronics Centre*, *Advanced Technology Institute (ATI)*, da Universidade de Surrey, Guildford, Reino Unido num Microscópio Eletrônico de Transmissão marca Philips e modelo CM200 TEM.

4.7.2 Espectroscopia Raman

Espectroscopia é a ciência que trata da interação da matéria com vários tipos de radiação eletromagnética. Nesta técnica ocorre o levantamento de dados físico-químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente em uma amostra (OSORIO, 2008).

Raman (1928), estudando o efeito de espalhamento de luz, observou que usando um feixe de luz monocromática a radiação sofria espalhamento (mudança de direção) após atingir a amostra;examinando com um espectrógrafo esta radiação verificou que além da linha da radiação incidente havia outras, com pequenos deslocamentos do comprimento de onda em relação a esta. Em outras palavras, havia um espalhamento elástico, onde os fótons da radiação incidente somente

mudavam de direção, e outro inelástico,onde além da mudança de direção ocorria variação do comprimento de onda, ou seja, da energia. Este espalhamento inelástico é conhecido como espalhamento Raman e o espalhamento elástico,como espalhamento Rayleigh (SALA, 2008).

Quando uma molécula é irradiada, a energia pode ser transmitida, absorvida, ou espalhada. A espectroscopia Raman é baseada na detecção da luz espalhada, ou seja, no exame da luz dispersada por um material ao incidir com um feixe de luz monocromática. Esta luz permite pequenas trocas de frequência específicas do material que esta sendo analisado.

A espectroscopia Raman é uma técnica amplamente utilizada para a caracterização de materiais carbonosos, identificando os tipos de ligações e fornecendo informações sobre o grau de desordem da rede cristalina. Com recursos de microfocalização, as investigações são bastante precisas, identificando as diferentes formas cristalinas e amorfas que podem compor as amostras (LOBO et al., 2005).

Os espectros Raman de todos os materiais carbonosos exibem picos característicos na região entre 1000 e 1800 cm^{-1} para energia de excitação no visível e infravermelho (LOBO et al., 2005).

As análises de Espectroscopia Raman da superfície da lâmina de cobre recoberta com nanoestruturas carbonosas foram realizadas no Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER), do Departamento de Materiais da Escola de Engenharia da UFRGS. O equipamento utilizado pertence à marca é Renishaw e modelo in Via Spectrometer System que apresenta dois lasers (785 e 514nm).

As partículas de oxido de grafeno recobertas por prata foram submetidas a análise de Espectroscopia Raman no equipamento com sistema de 2.000 micro *Renishaw* com laser a 514nm, no *Nano-Electronics Centre, Advanced Technology Institute (ATI)*, da Universidade de Surrey, Guildford, Reino Unido.

4.7.3 Microscopia de Força Atômica (MFA)

O microscópio de força atômica (MFA) foi inventado por Binnig e Quate em 1986. Ele gera imagens, quase ao nível da resolução atômica, medindo

o contorno da amostra. A imagem é criada por meio da quantificação das forças entre a sonda (ponta do cantilever) e a superfície da amostra, podendo fornecer imagens de altíssima resolução por usar uma sonda muito pequena na extremidade de um braço de suporte (CHATTERJEE; GADAD; KUNDU, 2010).

O microscopio de força atômica faz varredura da amostra e faz medições em três dimensões, permitindo a apresentação de imagens tridimensionais da superfície da amostra. Isso proporciona uma grande vantagem sobre qualquer microscópio disponível anteriormente. Com boas amostras (limpa e sem grandes características superfícias), a resolução no plano xy varia de 0,1 a 1,0 nm e na direção z é de 0,01 nm (resolução atômica). O MFA não requer um ambiente à vácuo e não necessita de preparação especial da amostra (BLANCHARD, 1996).

As partículas de oxido de grafeno recobertas por prata foram submetidas a análise de Microscopia de Força atômica no equipamento no *Nano-Electronics Centre, Advanced Technology Institute (ATI)*, da Universidade de Surrey, Guildford, Reino Unido.

4.7.4 Determinação da Atividade Antimicrobiana

Esta é uma metodologia utilizada para avaliar a atividade antimicrobiana de filmes poliméricos através do tempo de imersão no meio de crescimento microbiano (GALET et al., 2012).

Este experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, com o intuito de determinar o efeito antimicrobiano da incorporação das partículas de Ag/GO nos polímeros a base de ágar e nos polímeros a base de PDMS.

As cepas bacterianas utilizadas foram a Gram-positiva *Staphylococcus aureus.* As cepas foram cultivadas em meio TSA estéril (Trypticasesoy Agar), por um período de 24 horas em ambiente de aerobiose à 37 ºC.

Para o crescimento bacteriano, as bactérias foram cultivadas em meio de cultura sintético, que fornece nutrientes essenciais ao desenvolvimento celular. Essas exigências nutritivas estão relacionadas à fonte orgânica de energia, carbono, nitrogênio e íons orgânicos.

As cepas utilizadas foram de *Staphylococcus aureus* (ATCC 19095) que estavam armazenadas a – 80 ℃ e foram reativadas, sendo transferidas 100 µl para um tubo estéril contendo 9 ml de LMW + 1 ml de glicose e incubadas por 18 horas em estufa de CO_2. Após este período 10 µl da mistura foram transferidos para uma placa de ágar e se realizou um *streak* no ágar. A placa foi incubada por 24 horas em estufa e a partir do crescimento registrado na placa foram coletadas colônias isoladas e transferidas para tubo estéril contendo 9ml de LMW + 1 ml de glicose que foram incubados por 18 horas em estufa.

Para avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizados dois grupos poliméricos, o polímero a base de PDMS com quatro concentrações de partículas de Ag/GO (0, 0,5 mL, 1 mL e 2 mL)e o polímero a base de ágar com três concentrações de partículas de Ag/GO (0, 0,5% e 1%). Todos os materiais testados tiveram dimensões de 0,5 cm x 1,0 cm e foram esterilizadas com luz UV em capela de fluxo laminar, representado na Fig.13 A, e depositadas individualmente em tubos rosqueados contendo 4 mL de meio TSB, representado na Fig.13B. As amostras permaneceram incubadas em estufa a temperatura de 37 ° C sendo avaliadas em dois períodos de tempo, um dia (24 horas) e 5 dias (120 horas).

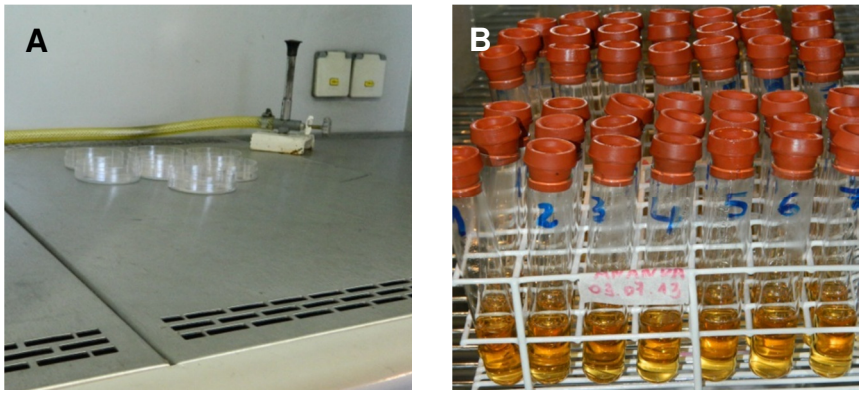


Figura 13 - esterilização dos polímeros em capela de fluxo laminar com luz UV (A); e amostras dos polímeros depositadas individualmente em tubos contendo TSB (B).

Após os períodos de incubação correspondentes (24 e 120 horas) os polímeros foram retirados do meio e acrescentou-se em cada tubo uma alíquota de 40µL de inóculo da bactéria *Staphylococcus aureus*, (padronizado em espectofotômetro, em fase exponencial 10^7 bactérias). Os materiais foram incubados a 37 ° C por 24 horas. Em solução salina foram realizadas 7 diluições seriadas, seguidamente, 20 µl de cada diluição foram plaqueadas em meio TSA e incubadas

em estufa por 24 h, após este período foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (ufc/cm^2). Esta metodologia esta ilustrada na Fig. 14.

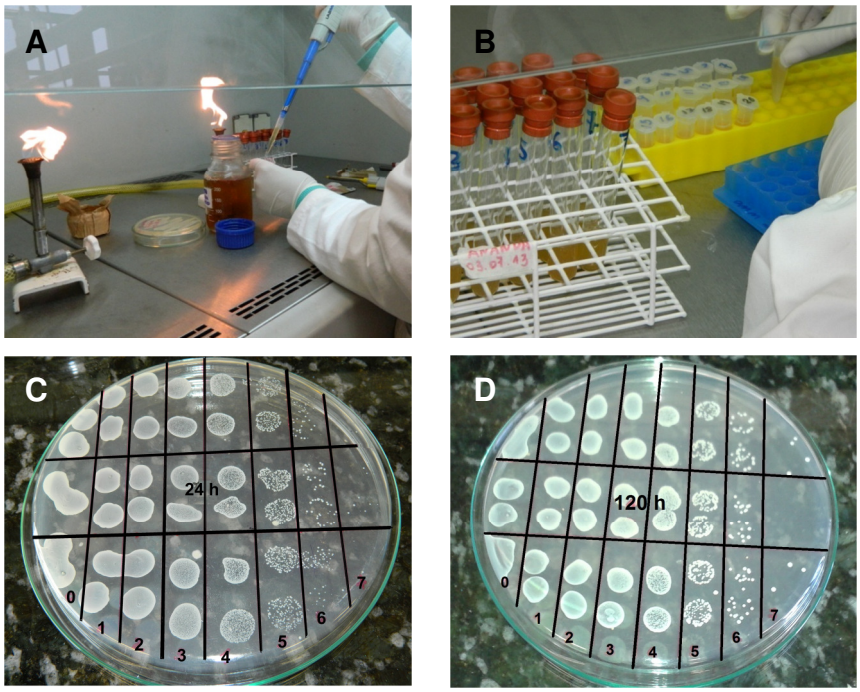


Figura 14 – Preparo das diluições (A); diluições prontas e identificadas para serem plaqueadas em meio TSA (B); Após serem incubadas em estufa por 24horas, placas prontas para contagem de unidades formadoras de colônias (ufc/cm2) das amostras que permaneceram 24 horas (C) e 120 horas (D).

A análise dos dados da atividade microbiologica foi realizada usando o Kruskal Wallis, ANOVA e teste complementar de Student Newman Keuls para comparaçãos multiplas. A significância considerada foi de $p < 0,03$ e $p < 0,05$ respectivamente nas análises. Os dados estão expressos como médias ± SEM.

4.7.5 Citotoxidade do Material

Este experimento foi realizado no Laboratório do Núcleo de Biologia Celular e Tecidual (NCT-BIO) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas. A linhagem celular imortalizada de fibroblastos de camundongos (NIH/3T3) utilizada foi obtida no Banco de Células do Rio de Janeiro (PABCAM da Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil). As células foram cultivadas em meio de *Eagle* modificado por Dulbecco (DMEM), suplementado com 10% de sorofetal bovino (FBS), adquirido a partir da Cultilab (Campinas, Brasil) e Gibco (*Grand Island, NY, USA*), respectivamente. As células foram cultivadasa 37℃ numa

atmosfera de 95% de ar humidificado e CO_2 a 5%. Os experimentos foram realizadas com células em fase logarítmica de crescimento.

Na determinação da citotoxidade dos polímeros, amostras dos polímeros a base de PDMS (puro, 0,5, 1 e 2 mL) e a base de ágar (puro, 0,5 e 1%) foram preparados em uma proporção de 91,6 mm^2 de área superficial por mL de meio de cultura celular seguindo as recomendações da norma ISO10993 (KRIFKA et al., 2012). As amostras foram então esterilizadas por exposição a luz UV (ultra-violeta) germicida durante 40 minutos, para cada face do polímero, e pré-incubados em meio de cultura DMEM suplementado com 10% de FBS a 37 ℃ e pH 7,2, durante 24 h, sob condições estáticas, para a formação dos eludatos. As células foram semeadas a uma densidade de 2x 10^4 células por poço num volume de100µL em placas de 96 poços e incubadas a 37℃ numa atmosfera humidificada de 95%e CO_2 a 5% durante 24 horas. Os corpos de prova de cada material polimérico foram mantidos no meio de cultivo celular por 24 horas a 37℃ numa atmosfera de 95% de ar humidificado e CO_2 a 5%. Após a retirada dos corpos de prova do meio de cultivo e a remoção do meio pré-existente nos poços, aliquotas de 200µl/poço dos eludatos foram acrescidos e incubados durante 24 e 48 horas. Para o ensaio colorimétrico utilizou-se o brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (*Sigma Chemical Company, St. Louis, MO*), um composto solúvel que é reduzido a cristais insolúveis de formazan (NEDEL et al., 2012). Adicionou-se 20 µL da solução de MTT (5 mg/mLPBS) em cada poço e as placas foram incubadas durante 4 horas. Em seguida, desprezou-se o líquido contido nos poços, adicionou-se 200 ul de dimetilsulfóxido (DMSO) e colocou-se as placas em um *shaker* por 5 minutos a 150 rpm. Realizou-se então a leitura da absorbância em espectofotômetro (*ThermoPlacaTP-Reader, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA*) em um comprimento de onda de 450 nm. Todas as observações foram realizadas em triplicata em dois momentos distintos.

Nas análises dos dados de citotoxidade foram utilizados o teste two-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey para comparações múltiplas. A significância considerada foi de $p < 0,05$ em todas as análises. Os dados estão expressos como médias ± SEM.

4.7.6 Morfologia Celular

Este experimento foi realizado no Laboratório do Núcleo de Biologia Celular e Tecidual (NCT-BIO) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

As células foram semeadas em uma densidade de 2 x 10^4 células por poço num volume de 100 µL em placas de 96 poços e cultivadas a 37℃ numa atmosfera humidificada de 95% e CO_2 a 5% durante 24 horas. Após este período o meio de cultivo pré-existente foi removido e 200 µl/poço dos eludatos, descritos anteriormente, foram acrescentadose incubados durante 48 horas. Então as células foram visualizadas e fotografadas em um microscópio invertido TS100 TS100-F da Nikon (Nikon, Tokyo, Japan).

5 Resultados

5.1 Caracterização das Nanoestruturas de Carbono na Superfície de Lâminas de Cobre

A metodologia descrita no item 4.1 foi empregada para obtenção de nanoestruturas de carbono na superfície de lâminas de cobre.

5.1.1 Espectroscopia Raman

A Fig. 15 apresenta o espectro Raman das nanoestruturas de carbono na superfície de uma lâmina de cobre. Observam-se os dois picos característicos das nanoestruturas de carbono em 1330 e 1570 cm $^{-1}$, que correspondem as bandas D e G, respectivamente.

A banda D é atribuída às arestas, outros defeitos e carbono desordenado, esses defeitos estão relacionados com a conversão deum átomo de carbono com hibridação sp^2 para um átomo de carbono com hibridação sp^3. A banda G é atribuída à vibração da ligação sp^2 do carbono e é atribuída ao modo E2g (BORA; DOLUI, 2012).

A forma, intensidade e posições das bandas D e G permitem distinguir entre os materiais nanoestruturados a base de carbono (FERRARI, 2007). Essas bandas com picos em aproximadamente 1350 e 1580, são atribuídas ao grafeno (FERRARI et al., 2006; STANKOVICH et al., 2007; ROBERTSON; WARNER, 2011; BORA; DOLUI, 2012).

Todos os tipos de materiais de carbono sp^2 exibem um pico no intervalo de 2500-2800 cm^{-1} no espectro de Raman. Combinado com a banda G, esta é a assinatura do espectro Raman de materiais grafíticos sp^2, sendo chamado de banda 2D (YAN; BARRON, 2010).

A banda 2D pode ser usada para determinar o número de camadas de grafeno. Em grafeno de multi-camadas a forma da banda 2D é diferente do grafeno de camada única. A banda 2D no grafeno de camada única é muito mais intensa e nítida quando comparada com a banda 2D em multi-camada de grafeno (YAN; BARRON, 2010).

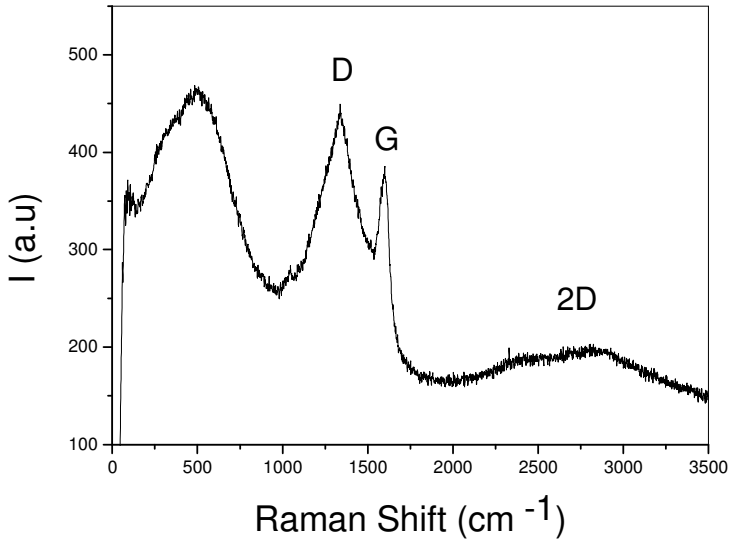


Figura 15 - Espectro Raman das nanoestruturas de carbono na superfície de uma lâmina de cobre.

5.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Fig. 16 apresenta uma microscopia eletrônica de varredura demonstrando a morfologia de nanoestruturas de carbono na superfície de lâmina de cobre.

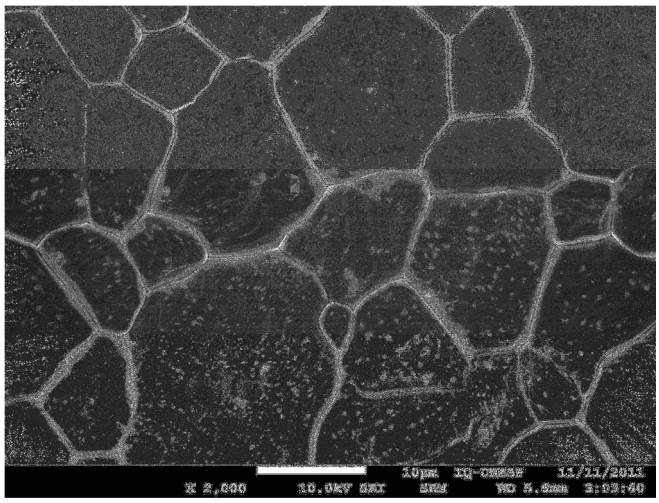


Figura 16 - Micrografia das nanoestruturas de carbono na superfície de lâmina de cobre obtida por MEV.

Estudos desenvolvidos obtiveram, em folha de cobre, grafeno hexagonal em forma de domínios de cristal único de poucas camadas e a análise por microscopia eletrônica de varredura demonstrou que os domínios do grafeno tem uma forma hexagonal e são aleatoriamente orientados sobre a folha de cobre (ROBERTSON; WARNER, 2011).

Na Fig. 16 observa-se que o grafeno formado não apresenta uma forma hexagonal e sua orientação é aleátoria sobre a folha de cobre. A formação de grafeno deste tipo é atribuída as condições do experimento.

A deposição do grafeno na superfície catalisada não é um processo simples e depende das condições experimentais estudadas que podem afetar a configuração de crescimento (LI et al., 2010; WOFFORD et al., 2010).

5.2 Artigo

Polymeric nanocomposite film modified with silver-functionalised graphene oxide; a one-step synthetic route to highly biocompatible Ag/GO

N. L. V. Carreño[1,*], A. M. Barbosa[1], C. O. Avellaneda[1], F. F. Demarco[2], F. Nedel[2], S. L. Peralta[2], V. Stolojan[3], M. Beliatis[3], R. Rhodes[3], F. L. M. Sam[3] and S. R. P. Silva[3]

[1]Material Engineering, Technology Development Center, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, CEP 96010-610, Brazil

[2] Nucleus of Cellular and Tecidual Biology (NCTBio), Post-Graduate Program in Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

[3]Nano-Electronics Centre, Advanced Technology Institute (ATI), University of Surrey, Guildford, GU2 7XH, UK

*E-mail: neftali@ufpel.edu.br

Abstract

The silver-modified graphene oxide nanosheets (Ag/GO) were prepared by a new method and inserted in a PDMS matrix. Different ratios of Ag/GO particles were used in order to evaluate the bactericidal properties and the cytotoxicity of PDMS films loaded with Ag/GO nanoparticles. Interestingly, these nanoparticles possess a carbonaceous shell that appears to play an important role in stabilizing the silver core and aiding interaction between the particle and graphene oxide surface. The goal was to determine the antimicrobial activity of nanocomposites against the Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*) after 24 and 120 hours, as well as the cytotoxic effect on cultures of the fibroblast cell line NIH/3T3. The films were produced by solution casting PDMS, during which the material could be easily modified through the introduction of Ag/GO nanoparticles. The promising results shown here support future investigations of our polymer nanocomposite, particularly in applications that exploit their favorable mechanical properties and biocompatibility due the good cell viability, cell morphology for all samples. The best antimicrobial effect in films with 0.5 and 2 mL Ag/GO nanoparticles.

As a material, graphene oxide (GO) has demonstrated promising physical and chemical properties across a wide range of applications, including the development of novel catalysts and bioactive surfaces. Previous investigations into GO-derived materials (including those functionalized with metal nanoparticles) have shown potential in its use within biosensors, water treatment, and advanced drug delivery systems (1-3). It has been known since antiquity that silver nanoparticles (and salts) are highly toxic to microbial organisms (4), and recent investigations into GO has indicated that the pristine material can inhibit the growth of bacterial colonies (5). As a result, it is reasonable to assume that a combination of the two into a GO-nanoparticle composite would create a highly effective, yet ultra-thin antimicrobial coating that can be subsequently applied to any given surface.

The poly(dimethylsiloxane) (PDMS) (Sylgard® 184 Silicone Elastomer) was chosen as a scaffold layer for its many desirable characteristics. PDMS possesses good thermal and oxidative stability, low glass transition temperature, low surface free energy, low toxicity, hydrophobic surface, and low chemical reactivity (6-8). Additionally, a comparative study in the literature (9) shows that when graphite and GO filler are used on siloxane material, only the PDMS suspension filled with the GO showed a drastic change in the viscoelastic properties for weight. This change is directly related to the concentration of GO in the PDMS, and is attributed to the sheets aggregation/agglomeration within the film. As a result, PDMS has potential as a scaffold for biomedical applications with a flexible and functional surface.

Here, Ag/GO nanocomposites were incorporated into PDMS at different concentrations. The antibacterial activities of Ag/GO polymeric hybrid nanocomposites were investigated using Gram-positive (G+) bacteria *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). The effects of different Ag/GO dosages on the antibacterial activity of the nanocomposites are systematically investigated. The biocompatibility of the nanocomposites was also assessed, using a mouse fibroblast cell line (NIH/3T3) in a cytotoxicity assay.

The synthesis of the Ag/GO composite was carried out in two stages: firstly, GO was synthesized from graphite powder via the Hummers and Offeman process, described elsewhere (10), followed by the thermal reduction of a polymeric silver precursor to incorporate silver-carbonaceous core-shell nanoparticles into the GO sheets, as illustrated schematically in Figure 1.

The Ag nanoparticles have been produced directly on the surface of GO from a reduction of metal-citrate-polymeric complex solution. Initially, a 50 mL solution of citric acid (CA) (Aldrich) and a 1% solution of silver nitrate was created. To this, ethylene glycol (EG) a polyalcohol, was added at a ratio of 20: 80 EG: CA, resulting in the formation of a stable complex as described in the literature (11-13). This occurs via a subsequent condensation reaction between available carboxylic and hydroxilic groups present on the EG and CA, respectively. To this mixture, 0.4g of GO flakes were added and the system allowed to stir at 80^{o}C for 1 hour.

The GO flakes were then filtered and dried under vacuum at 50^{o}C for 12 hours, resulting in a dark powder. This powder was subsequently calcined at 450^{o}C for 2 hours under an N_2 stream, promoting the decomposition of the organic component (the resin) and the reduction of the silver salt resulting in the formation of silver metal nanoparticles on the surface of the GO flakes. Throughout the synthesis, the concentrations of resin used were kept low in order to reduce the concentration of residual amorphous carbon on the final Ag/GO composite. Despite this, it is currently believed that the presence of a low concentration of amorphous carbon plays an important role in the formation and stabilization of Ag particles, and also promotes a strong interface between the nanoparticles and with the GO layer.

Figure 2 shows HRTEM (measurements performed on Hitachi HD2300A STEM and Philips CM200 TEM) micrographs showing Ag nanoparticles on a GO sheet. This is corroborated by EDAX analysis, (see supplementary information). It can be observed that there is a thin, ultrathin carbonaceous shell surrounding each nanoparticle. This can be attributed to residual organic material arising from the thermal decomposition step of citrate-polymeric complex, and may contribute to the dispersion and attachment of Ag nanoparticles across the surface of the GO sheet (see scheme in Figure 1).This residual carbon could have potential material advantages: high stability (e.g., acid and alkali resistance), nontoxicity (14), and, as has been suggested previously, enhanced integration of Ag nanoparticles with the GO surface.

Figure 2 also shows AFM (Veeco Dimension) micrographs of a pristine PDMS sample and a sample modified by the addition of the Ag/GO nanocomposite. It can be seen that there is a significant change in the surface morphology between the pristine polymeric matrix and the hybrid material. This is shown by the progressive alteration of roughness (4.7, 4.1, 11.7 and 54.9 nm in the PDMS film base samples containing 0, 1.0, 1.5 and 2.0 mL of

Ag/GO solution, respectively). This fact is attributed to the successful incorporation of the Ag/GO and the possible saturation of the surface layer as well throughout the modified PDMS film. This composite surface can help explain the posterior bioactivity observation of our polymeric hybrid material. Allied to the friction force and soft characteristics of the PDMS elastomer (8,15) this improved the material application opportunity.

The PDMS polymer nanocomposite was prepared at ratio of 10:1 (base polymer:crosslinker) to which the Ag/GO ethanol solution (8g in 10mL) was added at the appropriate volume (0.5, 1.0 and 2.0 mL, respectively) and dispersed via vortex mixing and ultrasonication.

The immortalized mouse fibroblast cell line (3T3/NIH) was obtained from the Rio de Janeiro Cell Bank (PABCAM, Federal University of Rio de Janeiro, RJ, Brazil). The cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), purchased from Cultilab (Campinas, Brazil) and Gibco (Grand Island, NY, USA), respectively. Cells were grown at 37°C in an atmosphere of 95% humidified air and 5% CO_2 as previously described (16,17). The experiments were performed with cells in the logarithmic phase of growth. The results are shown in Figure 3.

Determination of cytotoxicity of films

In order to determine the cytotoxicity of the films, samples of the polymer matrix nanocomposites containing differing concentrations of Ag/GO were cut into sections with a surface area of 91.6 mm^2 per milliliter cell culture medium following the recommendations of ISO 10993-12 (18). The samples were then sterilized by UV irradiation for 40 min for each side of the film, and pre-incubated in DMEM culture medium supplemented with 10% FBS at 37°C and pH 7.2 for 24 hours under static conditions as described previously (19, 20). The viability of the NIH/3T3 cells was determined by measuring the reduction of soluble MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide] to water-insoluble formazan (20).

In brief, cells were seeded at a density of 2×10^4 cells per well in a volume of 100 µL in 96-well plates and grown at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO_2/95% air for 24 hours. The pre-existing medium was removed from each well and 200 µL aliquots of the extract were incubated for a further 24 and 48 hours. After incubation the extract was removed and 180 µL of DMEM and 20 µL MTT (5 mg MTT/mL solution) was added to each

well. The plates were incubated for an additional 4 hours and the medium was discarded. 200 µL of DMSO was added to each well, and the formazan was solubilized on a shaker for 5 min at 100rpm. The absorbance of each well was read on a microplate reader (Thermo TP-plate reader, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) at a wavelength of 450 nm. All observations were performed in triplicate and validated by at least two independent experiments.

Morphology observation

Cells were cultured in 96 well culture plates at a density of 2 x 10^4 cells per well and grown at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO_2/95% air for 24 hours. After this period the pre-existent medium was removed and 200 µL/well of extracts, described above, were added and incubated for 48 hours. After incubations the cells were viewed and photographed with an inverted microscope TS100 TS100-F Nikon (Nikon, Tokyo, Japan).

Bacterial culture

The bacterium used was *Staphylococcus aureus* (ATCC19095). This strain is a Gram-positive human pathogen that can cause problems ranging from minor skin infections to life-threatening conditions (21). All bacteria were stored at −80°C until required. For experimental use, the stock cultures were reactivated using the following method: 100 µL was transferred into a sterile tube containing 9 ml of LMW + 1 mL glucose and incubated for 18 hours in CO_2 incubator. After this period, 10 µL of mixture was transferred to agar plate and held a streak on agar. The plate was incubated for 24 hours and growth recorded as above. Isolated colonies were collected and transferred to a sterile tube containing 9 mL of LMW + 1 mL glucose and incubated for 18 hours.

Cytotoxicity measurements

Figure 3 shows that there is an increase in cell viability within control and unseeded samples of PDMS over the course of 24 and 48 hours. It can also be seen that PDMS matrices containing Ag/GO exhibit no significant differences in cell viability compared to the control group in all concentration tested (0, 0.5, 1 and 2mL) over this time period.

Cell Morphology

The morphology of a cell is an important indicator of its status. Figure 4 shows the comparative morphology of untreated and treated cells seeded on PDMS surface (0, 0.5, 1 and 2mL Ag/GO) and allowed to grow for 48 h. When compared to the control group, cells seeded on samples of PDMS containing 2, 1 and 0.5 mL of Ag/GOdid not exhibit any morphologies alterations. These results corroborate with the data obtained in the MTT assay.

Antibacterial activity

For the evaluation of antimicrobial activity the following polymeric groups were used: the PDMS-based polymer particles with four concentrations of Ag/GO (0, 0.5, 1 and 2mL). All materials tested had dimensions of 0.5 cm x 1.0 cm and were sterilized with UV light as before.

The polymer samples were deposited individually in threaded tubes containing 4 mL of TSB. The specimens were incubated at 37° C and sampled at two time periods of 24 hours and 120 hours. At this point, the samples were removed from the solution and a 40 μL inoculum of *Staphylococcus aureus (standardized in a spectrophotometer at a* 10^7 CFU/mLexponential phase) and it was added the tubes, prior to incubation at 37 °C for 24 h.

Once the samples were fully incubated, they were diluted 7 times with 20 mL saline. A sample from each dilution was plated on TSA and incubated at 37°C for 24 hours before being analyzed for the presence and number of Colony Forming Units (CFU) (22).

Statistical analysis of microbiological activity was performed using T-test, Kruskal Wallis, and ANOVA. The significance was considered at $p < 0.05$ respectively in analyzes. Data are expressed as mean ± SEM.

Antibacterial activity of nanocomposites

Figure 5A shows PDMS samples after 24 hours: it can be seen that the sample of PDMS containing 1mL Ag/GO demonstrates the weakest antibacterial effect, while the sample of PDMS containing 0.5mL Ag/GO is the most effective.

Figure 5B shows all samples after 120 hours. It can be seen that samples that contained 0.5 and 2mL Ag/Go perform more effectively than samples with 1 mL Ag/GO ($p<0,001$).

Within this paper we have shown the cytotoxic and antibactericial effect of Ag-loaded GO within PDMS matrix, an area which is still, to date, not well understood. The biocompatibility of the PDMS was promising and indicates its suitability for use as a platform for biological materials with or without further modification. The poor antibacterial effect of PDMS containing 1mL Ag/GO is currently attributed to the fact that the particles are embedded deeply within the polymer matrix and are not released as readily as we had hoped.

We conclude that these polymeric hybrid nanocomposites prepared from GO treatment with a metal citrated-polymeric intermediated precursor by a single route bottom up process, have a great potential as an antibacterial and biocompatible coating, and believe that they are highly suited for use in biotechnological fields. Additional investigations on the cellular scaffold engineering system and rheological properties, as well of the thin role of ultrathin carbonaceous shell and analytic characterization of Ag phase exposition on Ag/GO composite to subsequence applications are in progress.

Acknowledgments

The authors are grateful to the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development for financial support through CNPq (# 555674/2010-0) and CAPES (# 9766-11-1).

Figure Captions

FIGURE 1- Synthesis and mechanism of Ag/GO.

FIGURE 2 - HRTEM of Ag nanoparticles on GO thin surface. In detail (top to bottom): carbonaceous core shell Ag around nanoparticles, typical Raman Spectra GO composite, roughness AFM of original PDMS matrix and modified GO hybrid material.

FIGURE 3 - Effect of nanocomposites on the viability of NIH/3T3 cells after exposure to different hybrid nanocomposites for 24 and 48 hours. Data are expressed as the means ± SEM. Uppercase letters indicate significant differences between times of exposure and lowercase letters indicate significant differences between the period test and particles concentrations used. A p-value < 0.05 was considered significant (Tukey test).

FIGURE 4 - Comparative morphology of untreated and treated cells (200 x magnification) exposed for 48 hours. A (PDMS), B (PDMS 2 mL Ag GO), C (PDMS 1 mL Ag/GO), D (PDMS 0.5 mL Ag GO), E (control).

FIGURE 5 - Mean viable bacteria (CFU cm^{-2}plate) in 24 and 120 h (n= 7). Within a panel, group values that were identified using similar lower case letters were not significantly different ($p > 0.05$).

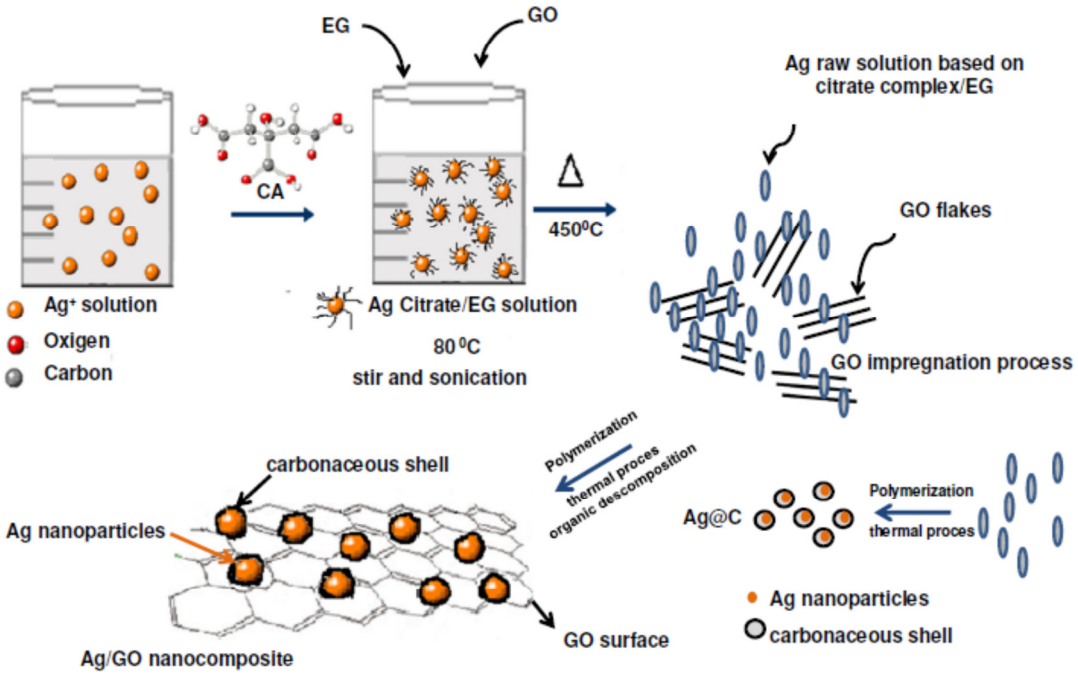

EG
GO
CA
Ag raw solution based on citrate complex/EG
GO flakes
450⁰C
Ag⁺ solution
Oxigen
Carbon
Ag Citrate/EG solution
80 ⁰C
stir and sonication
GO impregnation process
Polymerization
thermal proces
organic descomposition
carbonaceous shell
Ag nanoparticles
Ag@C
Polymerization
thermal proces
Ag nanoparticles
carbonaceous shell
GO surface
Ag/GO nanocomposite

Figure 1

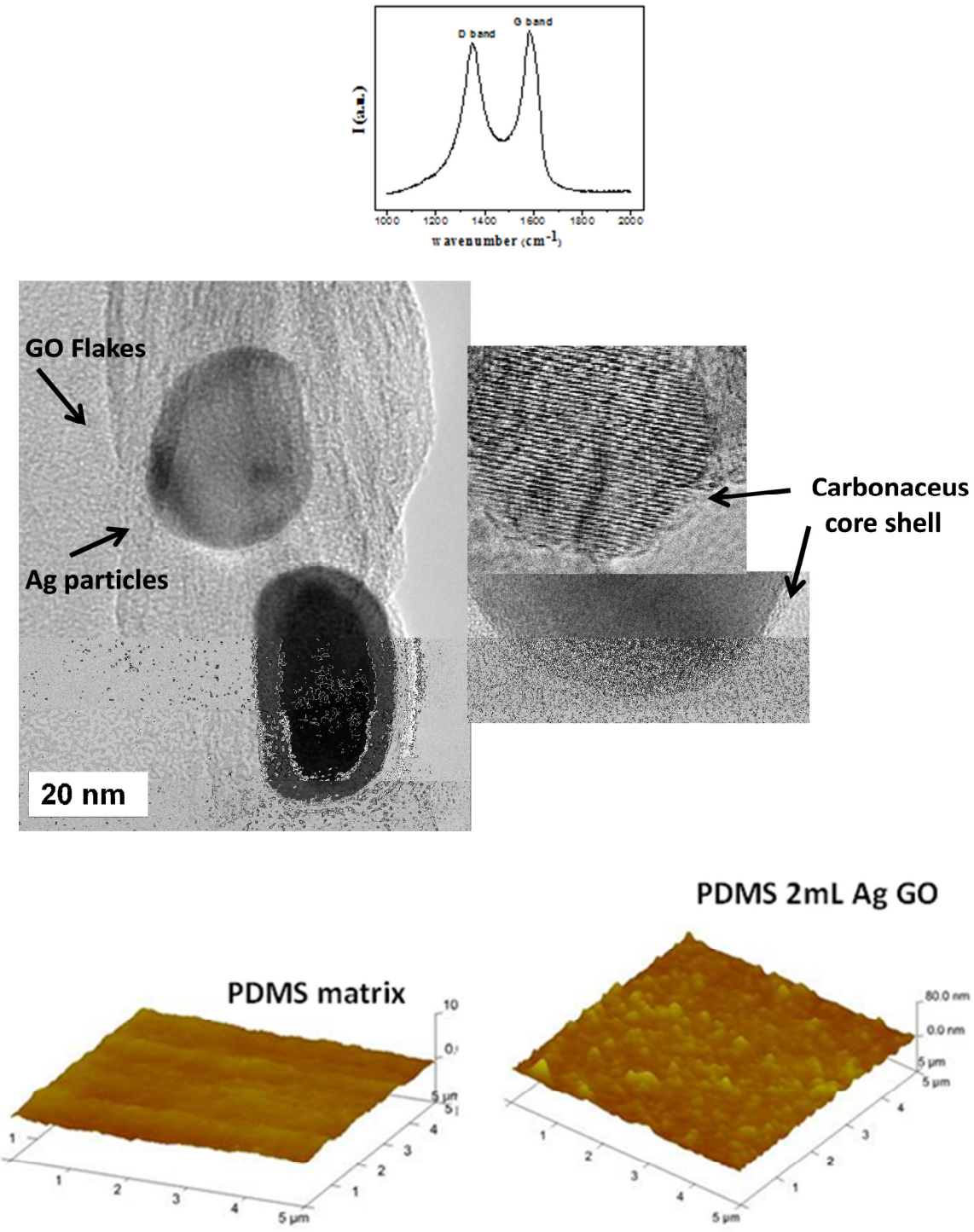

D band
G band
I (a.u.)
1000
1200
1400
1600
1800
2000
wavenumber (cm-1)
GO Flakes
Ag particles
20 nm
Carbonaceus
core shell
PDMS matrix
PDMS 2mL Ag GO
80.0 nm
0.0 nm
5 µm
5 µm

Figure 2

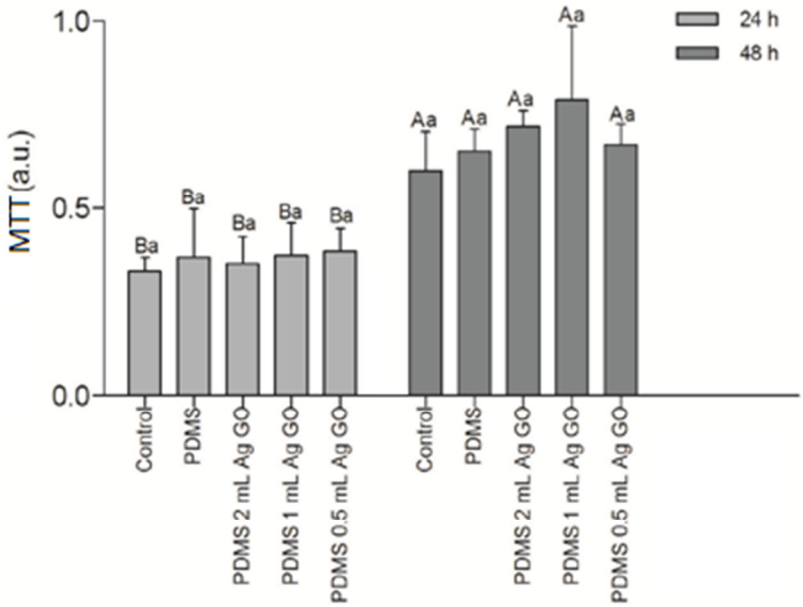

1.0
0.5
0.0
MTT (a.u.)
24 h
48 h
Ba
Ba
Ba
Ba
Ba
Aa
Aa
Aa
Aa
Aa
Control
PDMS
PDMS 2 mL Ag GO
PDMS 1 mL Ag GO
PDMS 0.5 mL Ag GO
Control
PDMS
PDMS 2 mL Ag GO
PDMS 1 mL Ag GO
PDMS 0.5 mL Ag GO

Figure 3

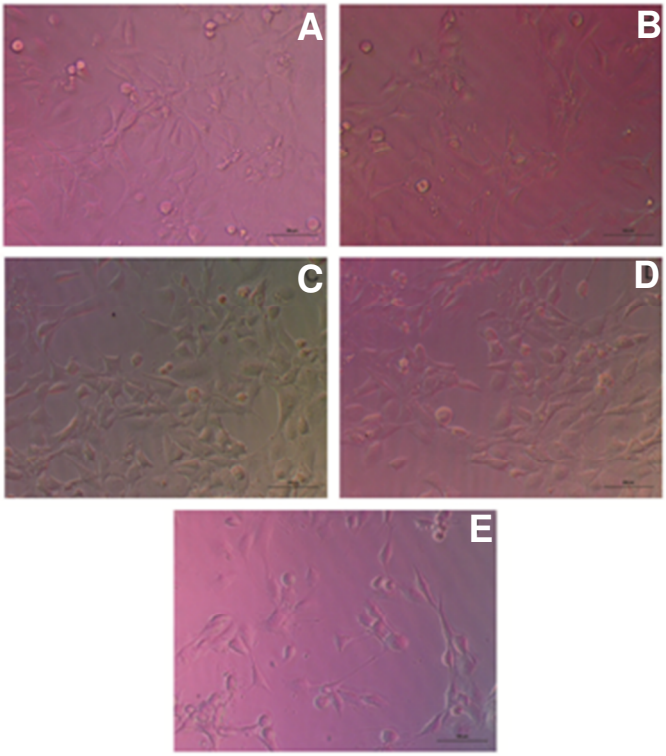
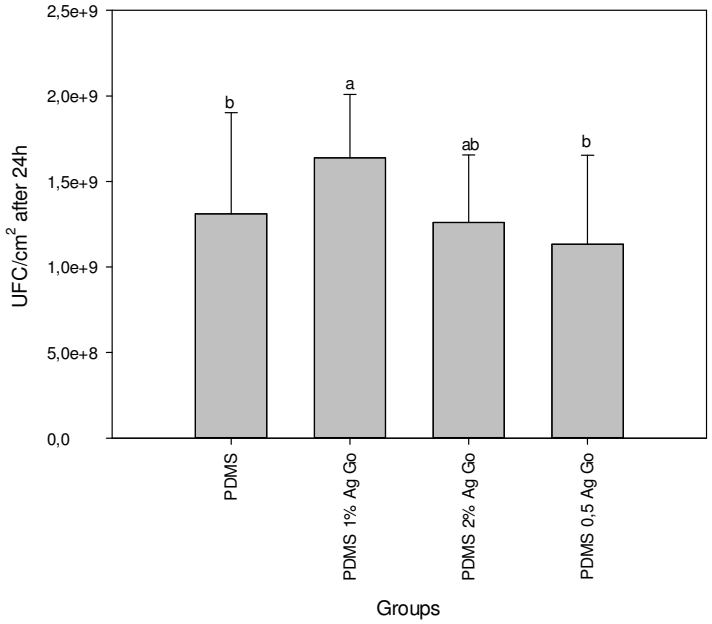


Figure 4


2,5e+9
2,0e+9
1,5e+9
1,0e+9
5,0e+8
0,0
UFC/cm2 after 24h
b
a
ab
b
PDMS
PDMS 1% Ag Go
PDMS 2% Ag Go
PDMS 0,5 Ag Go
Groups

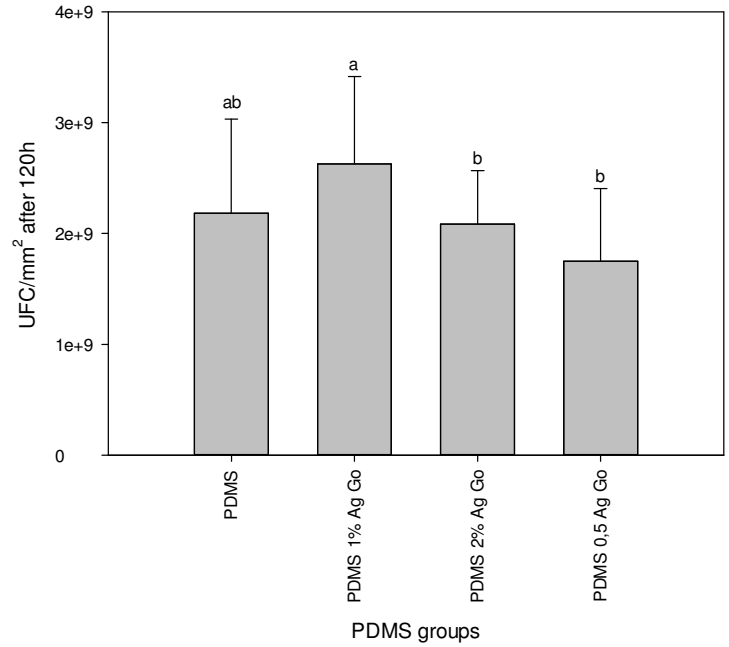

4e+9
3e+9
2e+9
1e+9
0
UFC/mm2 after 120h
ab
a
b
b
PDMS
PDMS 1% Ag Go
PDMS 2% Ag Go
PDMS 0,5 Ag Go
PDMS groups

Figure 5

References

1 P. P. Zuo, H. F. Feng, Z. Z. Xu, L. F. Zhang, Y. L. Zhang, W. Xia and W. Q. Zhang, Chemistry Central Journal, 2013, **7**, 1-11.

2 W. Yuan,Y. Gu and L. Li, Applied Surface Science, 2012, **26**, 753–758.

3 J. Ma, J. Zhang, Z. Xiong, Y. Yong and X. S. Zhao, Journal of Materials Chemistry, 2011, **21**, 3350–3352.

4 J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu, J.H. Kim, S. J. Park, H. J. L., S. H. Kim, Y. K. Park, Y. H. Park, C. Y. Hwang, Y. K. Kim, Y. S. Lee, D. H. Jeong and M. H. Cho, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2007, **3**, 95-101.

5 O. Akhavan and E. Ghaderi, ACS Nano, 2010, **4**, 5731-5736.

6 S. Chakrabarty, X. Zhang, P. Bharti, Y. Chujo, J. Miyake, K. J. Wynnea and V. K. Yadavall, Polymer, 2010, **51**, 5756-5763.

7 D. Chen, C. Huang and X. Hu, Society of Plastics Engineers, 2013, **34**, 1041–1050.

8 N.S. Tambe and B. Bhushan, J. Vac. Sci. Technol. A 2005, **23**, 830-835.

9 A. Guimont, E. Beyou, G. Martin, P. Sonntag and P. Cassagnau, Macromolecules, 2011, **44**, 3893–3900.

10 W. S. Hummers Jr. and R. E. Offeman, J. Am. Chem. Soc., 1958, **80**, 1339–1339.

11 X. C. Jiang, C. Y. Chen, W. M. Chen and A. B. Yu, Langmuir, 2010, **26**, 4400–4408.

12 M. Tsuji, S. Gomi, Y. Maeda, M. Matsunaga, S. Hikino, K. Uto, T. and H. Kawazumi, Langmuir, 2012, **28**, 8845−8861.

13 E. R. Leite, N. L. V. Carreno, E. Longo, F. M. Pontes, A. Barison, A. G. Ferreira, Y. Manietteand J. A. Varela, Chemistry of Materials, 2002, **14,** 3722-3729.

14 H. Wang, Q. Jin, L. Yang and Y. Liu, J Nanopart Res, 2013, **15**, 1803-1812.

15 B. R. Prasad, M. A. Brook, T. Smith, S. Zhao, Y. Chen, H. Sheardown, R. D`souza, and Y. Rochev, Colloids Surf B Biointerfaces, 2010, **78**, 237-242.

16 F. Nedel, K. Begnini, P. H. Carvalho, R. G. Lund, F. T. Beira and F. A. Del Pino, Journal of Medicinal Food, 2012, **15**, 955-958.

17 S. Henn, F. Nedel, R. V. de Carvalho, R. G. Lund, M. S. Cenci, T.Pereira-Cenci, F.F. Demarco and E. Piva, J MaterSciMaterMed 2011, **22**, 1797-1802.

18 S. Krifka, C. Seidenader, K.A. Hiller, G. Schmalz andH.Schweikl, Clin Oral Investig, 2012, **16**, 215-224.

19 B.P. Santana, G. F. R. Paganotto, F. Nedel, E. Piva, R.V. de Carvalho, J. E. Nör, F. F. Demarco and N.L. VillarrealCarreño, Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2012, **100**, 3051-3058.

20 F. Nedel, V. F. Campos, D. Alves, A. J. McBride, O. A Dellagostin, T. Collares, L. Savegnago and F. K. Seixas, 2012, **91,** 345-352.

21 S. M. Yerushalmi, M. E. Buck, D. M. Lynn, G. Lemcoff and M. M. Meijler, Chem. Commun.,2013, **49**, 5177-5179.

22 V. M. Galet, G. L. Carballo, R. Gavara and P. H. Muñoz, International Journal of Food Microbiology, 2012, **157**, 239-244.

6 Conclusões

- A obtenção do carbono nanoestruturado na superfície de uma lâmina de cobre se deu na forma de grafeno. A caracterização do moterial obtido foi realizada por meio de Espectroscopia Raman e Microscopia Eletrônica de Varredura. Esse resultado demonstra a possibilidade do emprego de um resíduo madeireiro (serragem) na obtenção de nanoestruturas carbonosas;

- As nanopartículas de óxido de grafeno recobertas por prata foram caracterizadas por Espectroscopia Raman e Microscopia Eletrônica de Transmissão. Os nanocompósitos de matriz polimérica reforçados com nanopartículas de óxido de grafeno recobertas com prata foram caracterizados por Microscopia de Força Atômica. A análise da citotoxidade revelou que os nanocompósitos poliméricos não demonstraram toxidade celular, sendo os resultados obtidos para os nanocompósitos a base de PDMS os mais promissores. A avaliação da atividade antimicrobiana demonstrou resultado positivo para os nanocompósitos a base de ágar reforçados com partículas de Ag/GO e para os nanocompósitos a base de PDMS reforçados com 0,5 e 2 mL de Ag/GO. Todos os materiais apresentaram atividade antibacteriana mais eficiente após o período de 24 horas. Os resultados obtidos foram promissores e suportam futuras aplicações desses nanocompósitos poliméricos em uma grande variedade de pesquisas em saúde humana, que requerem materiais altamente flexíveis e biocompatíveis.

7 Cronograma

Tabela 3 - Cronograma de execução

Atividade	**Semestre**			
	1°	**2°**	**3°**	**4°**
Revisão bibliográfica	*x*	*x*	*x*	*x*
Definição do substrato de crescimento das nanoestruturas	*x*			
Obtenção das nanoestruturas carbonosas na superfície de laminas de cobre	*x*	*x*	*x*	
Análise e caracterização do material obtido	*x*	*x*	*x*	
Síntese do polímero e nanocompósitos			*x*	
Caracterização do polímero e nanocompósito			*x*	
Ensaios de citotoxidade			*x*	
Ensaios microbiológicos			*x*	
Exame de qualificação		*x*		
Desenvolvimento da dissertação			*x*	*x*
Entrega da dissertação para banca				*x*
Apresentação de trabalho em evento	*x*		*x*	*x*
Preparação e envio de artigo				*x*
Defesa da dissertação				*x*
Correções propostas pela banca examinadora				*x*
Entrega final				*x*

8 Referências Bibliográficas

AGUIAR, A. L. **Estudo da interação da benzonitrila com nanoestruturas de carbono (grafeno, nanotubos e fulerenos).** 2008. 136p. Dissertação (Mestrado em Física)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

ALENCAR, M. S. M. **Estudo de futuro através da aplicação de técnicas de prospecção tecnológica: o caso da nanotecnologia.** 2008. 193f. Tese (Doutorado em Ciências)-Escola de Química, Universidade Federal do Rio deJaneiro, Rio de Janeiro.

ALEXANDRU, M.; CRISTEA, M.; CAZACU, M.; IOANID, A.; SIMIONESCU, B. C. Composite Materials Based on Polydimethylsiloxaneand In Situ Generated Silica by Using the Sol–Gel Technique. **Polymer Composites**, p. 751-759, 2009.

ASKELAND. D. R.; PHULÉ, P. P. Ciência e engenharia dos materiais. São Paulo: Cengage Learning, 2008. 594p.

BARBOZA, A. P. M. **Estudo da injeção de carga em nanotubos de carbono por microscopia de força elétrica.** 2008. 85p. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BASTIOLI, C. **Global status of the production of biobased packagin materials**. **Starch,** n. 53, p.351–355, 2001.

BATISTA, D. C. **Avaliação do desempenho operacional de uma serraria através de estudo do tempo, rendimento e eficiência: estudo de caso em Piraí-RJ.** 2006. 64p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade FederalRural do Rio de Janeiro, Seropédica.

BERGO, P.; MORAES,I. C. F.; SOBRAL,P.J.A. Infrared spectroscopy, mechanical analysis, dielectric properties and microwave response of pigskin gelatin films plasticized withglycerol.**Food Bioscience,** v. 1, p. 10–15, 2013.

BIASE, C. P. **Rendimento e eficiência no desdobro de três espécies tropicais.** 2005. 73p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federaldo Paraná, Curitiba.

BIASI, C. P.; ROCHA, M. P. Rendimento em madeira serrada e quantificação deresíduos para três espécies tropicais. **Floresta**, v. 37, n. 1, p. 95-108, 2007.

BLANCHARD, C. R. Atomic Force Microscopy. **The chemical educator**, v. 1, n. 5, p. 1-8, 1996.

BORA, C; DOLUI, S.K. Fabrication of polypyrrole/graphene oxide nanocomposites by liquid/liquid interfacial polymerization and evaluation of their optical, electrical and electrochemical properties. **Polymer**, v. 53, p. 923-932, 2012.

BRAND, M. A.; MUÑIZ, G. I. B.; SILVA, D. A.; KLOCK, U. Caracterização do rendimento e quantificação dos resíduos gerados em serrarias através do balanço de materiais. **Floresta,** v.32, n.2, p.247-259, 2002.

CALLISTER, JR; M. D. **Ciência e engenharia de materiais**: uma introdução. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 705p.

CASTAÑEDA L.; ALONS, J. C.; ORTIZ, A.; ANDRADE, E.; SANIGER, J.; RAÑUELOS, M. Spray pyrolysisdepositionandcharacterizationoftitanium oxide thinfilms. **MaterialsChemistryandPhysics**, v. 77, p. 938-944, 2002.

CARREÑO, N. L. V.; GARCIA, I. T. G.; SANTOS, L. P. S; FABRO, M. T.; KEYSON, D.; LEITE, E. R.; LONGO, E.; FAJARDO, H. V.; PROBST, L. F. D. Nanocompósitos cerâmicos a partir do processo de moagem mecânica de alta energia. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 962-968, 2008.

CHATTERJEE, S.; GADAD, S. S.; KUNDU, T. K. Atomic Force Microscopy. **Resonance,** v. 15, n.7, p. 622- 642, 2010.

CHEN,D.; HUANG,C.; HU, X. Preparation and Characterization of Novel Polydimethylsiloxane Composites used POSS as Cross-Linker and Fumed Silica as Reinforcing Filler. **Polymer Composites**, v. 34, p. 1041–1050,2013.

CHEN, L.; RENDE, D.; SCHADLERB, L. S.; OZISIKB, R. Polymer nanocomposite foams.**Journal of Materials Chemistry A**, v. 1, p. 3837–3850, 2013.

DELVILLE, J.; JOLY, C.; DOLE, P.; BLIARD, C. Influence of photocrosslinking on the retrogradation of wheat starch based films. **CarbohydratePolymers**, v. 53, n.4, p. 373-381, 2003.

ESTEVES, A. C. C.; BARROS-TIMMONS, A.; TRINDADE, T.Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos.**Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 798-806, 2004.

FARINA, M. Z.; SOARES, T. E.; CHILOMER, S. K.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA,D. A. K. Análise da aplicação de resíduos do corte de palmito pupunha (*Bactrisgasipaes*H.B.K.) em compósitos de matriz poliéster com diferentes proporções. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 7, n. 2, p. 131-138, 2012.

FANG,X.; HUANG,X.; LU,Z.; CHEN,L.; CHEN, S. Synthesis of New SuperhydrophobicNanosilica andInvestigation of Their Performance in Reinforcementof Polysiloxane. **Polymer Composites**, p. 1628- 1636, 2010.

FERRARI, A. C.Raman spectroscopy of graphene and graphite: Disorder, electron–phononcoupling, doping and nonadiabatic effects. **Solid State Communications**, v. 143, p. 47–57, 2007.

FERRARI, A. C.; MEYER, J. C.; SCARDACI, V.; CASIRAGHI, C.; LAZZERI, M.; MAURI, F.; PISCANEC,S.; JIANG,D.; NOVOSELOV,K. S.; ROTH,S.; GEIM, A. K. Raman Spectrum of Graphene and Graphene Layers.**Physical Review Letters**, v. 97, p. 187401(1 - 4), 2006.

FERRARI, A.C.; ROBERTSON, J. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon. **Physical Review B**, v.61, n.20, p.14095-14107, 2000.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. C.Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1860-1870, 2009.

FILHO, A. G. S.; FAGAN, S. B. Funcionalização de nanotubos de carbono. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1695-1703, 2007.

GALET, V. M.; CARBALLO, G. L.; GAVARA, R.; MUÑOZ, P. H. Antimicrobial food packaging film based on the release of LAE from EVOH. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, p. 239–244, 2012.

GONÇALVES JR, P. R. G.;RANGEL, J. H. G.; OLIVEIRA,M. M.; AZEVEDO,E.; SANTOS,L. P. S.; LONGO, E. Síntese de pigmentos pretos à base de Fe, Co e Cr pela rota dos precursores poliméricos. **Cerâmica**, v.52, n.324, p. 293-297, 2006.

HUMMERS, W. JR.; OFFEMAN, R. E. Preparation of Graphitic Oxide. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, n. 6, p. 1339–1339, 1958.

JUNIOR,M. I. M.; ROCHA, M. P.; JUNIOR, R. T. Rendimento em madeira serrada dePinus taeda para duas metodologias de desdobro. **Floresta,** n.3, p.473-483, 2005.

KAWATA , K .; OSAWA , M .; OKABE, S . In Vitro Toxicity of Silver Nanoparticles at Noncytotoxic Doses to HepG2 Human Hepatoma Cells. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n. 15, p. 6046–6051, 2009.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B.; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A.S. **Química da madeira.** 3.ed. Curitiba, 2005. 81p.

KROLOW, M. Z. **Síntese de nanocompósitos magnéticos porosos com potencial aplicação nos processos de encapsulamento de hidrogênio e separação imunomagnética.** 2010. 68p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

KRIFKA, S; SEIDENADER, C; HILLER, K. A; SCHMALZ, G.; SCHWEIKL, H. Oxidative stress and cytotoxicity generated by dental composites in human pulp cells. Clin Oral Investig, v. 16, n. 1, p. 215-24, 2012.

KORZENOWSKI, C.; SEBAG, M. G.; RIBEIRO, M. V. B.; HECK, N.; SILVA FILHO, L. C. P.Uso de serragem como biomassa paraobtenção de Nanotubos de carbono (NTC). In: Encontro sobre diamante, carbono amorfo, nanotubos e materiais relacionados, 9., 2011, Pelotas. **Anais do...** Pelotas: UFPel, 2011. p.31.

LAACHACHI A.; FERRIOL M.; COCHEZ M.; RUCH D.; LOPEZ-CUESTA JM. The Catalytic Role of Oxide in the Thermooxidative Degradation of Poly(methyl mehacrylate)-TiO2 Nanocomposites.**Polymer Degradation and Stability**, v.93, n.6, p.1131-1137, 2008.

LEE, D. W.; SANTOS, L. V.; SEO, J. W.; FELIX, L. L.; BUSTAMANTE, A. D.; COLE, J. M.; BARNES, C. H. W. The structure of graphite oxide: Investigation of its surface chemical groups. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n.17, p. 5723–5728, 2010.

LI, X.; CAI, W.; AN, J. KIM, S.; NAH, J.; YANG, D.; PINER, R.; VELAMAKANNI, A.; JUNG, I.; TUTUC, E.; S. BANERJEE, K.; COLOMBO, L.; RUOFF, R. S. Large-Area Synthesis of High-Quality and Uniform Graphene Films on Copper Foils. **Science,** v. 324, p. 1312 - 1314, 2009.

LI, X.; MAGNUSON, C. W.; VENUGOPAL, A.; AN, J.; SUK, J. W.; HAN, B.; BORYSIAK, M.; CAI, W.; VELAMAKANNI, A.; ZHU, Y.; FU, L.; VOGEL, E. M.; VOELKL, E.; COLOMBO, L.; RUOFF, R. S. Graphene Films with Large Domain Size by a Two-Step Chemical Vapor Deposition Process. **Nano Letters**, v. 10, n. 11, p. 4328–4334, 2010.LOBO, A. O.; MARTIN, A. A.; ANTUNES, E. F.; TRAVA-AIROLDI, V. J.; CORAT, E. J. Caracterização de materiais carbonosos por espectroscopia Raman.**Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, v. 24, n. 2, p.98-103, 2005.

LUO, X.; WEAVER, C. L.; TAND, S.; CUI, X. T. Puregraphene oxide dopedconductingpolymernanocomposite for bio-interfacing. Journal **of Materials Chemistry B**, v. 1, p. 1340–1348, 2013.

MA,J.; ZHANG, J.; XIONG, Z.; YONG, Y.; ZHAO, X. S. Preparation, characterization and antibacterial properties of silver-modified graphene oxide. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, p. 3350–3352, 2011.

MARTÍNEZ, L. M.P.; TORRES, S.M.; GOMES, H. T.; SILVA, A. M. T. NanotuboseGrafeno: Osprimosmaisjovensna família do carbono. **Química**, v. 128, p. 21-27, 2013.

MITTAL, V. Polymer Layered Silicate Nanocomposites: A Review. **Materials**, v. 2, p.992-1057, 2009.

MORAES, M. E.; SARON, C. Condutividade iônica e propriedades mecânicas de compósitos de polidimetilsiloxano com argilas bentonitas e cargas reforçantes. **CADERNOS UniFOA,** Ano VI - Edição Especial,p. 71 - 78, 2011.

MOURAO, HENRIQUE A. J. L.; RIBEIRO, CAUE. TiO(2) and SnO(2) Magnetic Nanocomposites: Influence of Semiconductors and Synthetic Methods on Photoactivity. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 11, n. 9, p. 7876-7883, 2011.

NASCIMENTO,U. A.; G. TIMÓTEO,A. V.; RABELLO, M. S. Efeito de Plastificantes à base de Poliisobutenos nas Propriedades Físicas e Mecânicas do Polipropileno. **Polímeros**, v. 23, n. 2, p. 257-261, 2013.

NEDEL, F.; CAMPOS, V. F; ALVES, D.; MCBRIDE, A.J.; DELLAGOSTIN, O.A.;, COLLARES, T.; SAVEGNAGO, L.; SEIXAS, F. K. Substituted diaryl diselenides: cytotoxic and apoptotic effect in human colon adenocarcinoma cells. **Life Sciences**, v. 91, n. 9-10, p. 345-352, 2012.

NIESSEN, A. M. A. **Mapas por Microscopia de Raman**. 2010. 73f. Dissertação (Mestrado em Conservação e Restauro) – Faculdade de ciências e tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Monte de Caparica.

NG, Y. H.; IWASE, A.; BELL, N. J.; KUDO, A.; AMAL, R. Semiconductor/reduced graphene oxide nanocomposites derived from photocatalytic reactions. **Catalysis Today**, v. 164, p. 353–357, 2011.

NGO, V. G.; BRESSY, C.; LEROUX, C.; MARGAILLAN, A. Synthesis of hybrid TiO2 nanoparticles with well-defined poly(methylmethacrylate) and poly(tert-butyldimethylsilyl methacrylate)via the RAFT process. **Polymer,** v.50, n.14, p. 3095-3102, 2009.

OH, W. C.; CHEN, M. L.; ZHANG, K.; ZHANG, F. J. The Effect of Thermal and Ultrasonic Treatment on the Formation of Graphene-oxide Nanosheets. **Journal of the Korean Physical Society**, v. 56, n. 4, p. 1097-1102, 2010.

OJHA, S.; DANG, A.; HUI,C. M.; MAHONEY,C.; MATYJASZEWSKI,K.; BOCKSTALLER,M. R. Strategies for the Synthesis of Thermoplastic Polymer Nanocomposite Materials with High Inorganic Filling Fraction. **Langmuir**, v. 29, p. 8989–8996, 2013.

OLIVEIRA, B. L. **Síntese de nanotubos de carbono (NTC) por deposição química de vapor empregando Fe/CaCO3 e Fe/NTC como catalisador.** 2009. 117p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

OLIVEIRA, R. M**. Desenvolvimento de elementos sensores de cerâmicas porosas de ZrO_2-TiO_2 para aplicação no monitoramento do conteúdo de água em solos**. 2010. 176f. Tese (Doutorado em Materiais e Sensores) – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos.

OLIVEIRA, J. E.; CONSOLIN-FILHO, N.; PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S. Uso de Polímeros Condutores em Sensores. Parte 3: Biossensores. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.8, n.1, p.1–11, 2013.

OSORIO, A.G. **Funcionalização de nanotubos de carbono e sua utilização como reforço em matriz de hidroxiapatita**. 2008. 74f. Dissertação (Mestrado em Engenharia)- Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PASCHOALINO, M. P.; MARCONE, G. P. S.; JARDIM, W. F. Os nanomateriais e a questão ambiental. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 421-430, 2010.

PASSOS,A. A.; TAVARES,M. I. B.; NETO,R. C. P.; MOREIRA,L. A.; FERREIRA, A. G.Obtenção de nanocompósito de EVA/sílica e caracterização por ressonância magnética nuclear no estado sólido. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 21, n. 2, p. 98-102, 2011.

PENA, E. Q.; VIEIRA, C. B.; SILVA, C. A.; SESHADRI, V.; ARAÚJO, F. G. S. Caracterização dos parâmetros de porosidade de concentrados de minérios de ferro pelo método de adsorção de nitrogênio. **Tecnologia em Metalurgia e Materiais**, v.4, n.4, p. 53-57, 2008.

PRAKASH, Y.; SOMASHEKARAPPA, H.; MAHADEVAIAH; SOMASHEKAR, R. Structure-property relation in HPMC polymer films plasticized with Sorbitol. International Conference On Recent Trends In Applied Physics And Material Science. Bikaner, India. **Anais do**...RAM, 2013.p. 493-494.

RABEK,C. L.; STELLE,R. V.; DZIUBLA, T. D.; PULEO, D. A. The effect of plasticizers on the erosion and mechanical properties of polymeric films. **Journal of Biomaterials Applications,** 2013.

RAJA,S. N.; OLSON,A. C. K.; THORKELSSON,K.; LUONG,A. J.; HSUEH, L.; CHANG,G.; GLUDOVATZ,B.; LIN, L.; XU,T.; RITCHIE,R. O.;Alivisatos, A. P. Tetrapod Nanocrystals as Fluorescent Stress Probes of Electrospun Nanocomposites. **NanoLetters**, 2013.

RHIM, J.W.; WANG, L.F.; HONG,S.I. Preparation and characterization of agar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, v.33, p.327-335, 2013.

ROBERTSON, A. W.; WARNER, J. H. Hexagonal Single Crystal Domains of Few-Layer Graphene on Copper Foils. **NanoLetters**, v. 11, p. 1182–1189, 2011.

ROCHA, M. P.; TOMASELLI, I. Efeito de modelo de corte nas dimensões de madeiraserrada de Eucalyptusgrandis E Eucalyptusdunnii. **Floresta e Ambiente**,v. 8, n.1, p. 94-103, 2001.

RODRIGUES, A. **Desenvolvimento de nanoestruturas de ZnO para aplicação em um biosensor de glicose.** 2010. 76f. Dissertação (Mestrado em Física)-Instituto de Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RUIZ, O. N.; FERNANDO, K. A. S.; WANG, B.; BROWN, N. A.; LUO, P. G.; MCNAMARA, N. D.; VANGSNESS, M.; SUN, Y. P.; BUNKER, C. E. Graphene Oxide:A Nonspecific Enhancer of Cellular Growth.**ACS Nano**, v. 5, n. 10, p. 8100–8107, 2011.

SALA, O. I_2- Uma molécula didática. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 914-920, 2008.

SEVILLAA, M.; SANCHÍS, C.; VALDÉS-SOLÍS, T.; MORALLÓN, E.; FUERTES, A. B. Direct synthesis of graphitic carbon nanostructures fromsaccharides and their use as electrocatalytic supports. **Carbon**, v.46, p.931–939, 2008.

SEVILLAA, M.; SANCHÍS, C.; VALDÉS-SOLÍS, T.; MORALLÓN, E.; FUERTES, A.B. Synthesis of Graphitic Carbon Nanostructures from Sawdust and Their Application as Electrocatalyst Supports. **Journal of Physical Chemistry C**, v.111, p. 9749-9756, 2007.

SILVA, G. R. **Materiais micro e nanoestruturados para sensores de íons do tipo EGFET.** 2009. 163f. Tese (Doutorado em Ciências)-Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SIMKOVIC, I. What could be greener than composites made from polysaccharides? **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 759-762, 2008.

SOUZA, A. N.; OLIVEIRA, A. D.; SOLFORO, J. R. S.; MELLO, J. M.; CARVALHO, L. M. T. Modelagem do rendimento no desdobro de toras de eucaliptp cultivado em sistema agroflorestal. **Cerne**, v.13, n.2, p.222-238, 2007.

STANKOVICH, S.; DIKIN, D. A.; PINER ,R. D.; KOHLHAAS, K. A.; KLEINHAMMES, A.; JIA, Y.; WU, Y.; NGUYEN, S. T.; RUOFF, R. S. Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. **Carbon**, v. 45, p. 1558–1565, 2007.

SUGIMOTO, T.; KIMURA, K. Stability of Graphene Oxide Film to Electron Beam Irradiation and Possible Thickness Dependence of Electron Attenuation. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 86, n. 3, p. 333–338, 2013.

SUN, Z.; BARRON, A. R. TEM Imaging of Carbon Nanomaterials. **Connexions Project**, v.1, n.5, p.1-7, 2010.

TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Principais métodos de caracterização de porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p.808-818, 2001.

TURBIANI, F. R. B.**Desenvolvimento E Caracterização De Filmes Ativos De Alginato De Sódio Reticulados Com Benzoato De Cálcio.** 2007. 126f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

VINODGOPAL, K.; NEPPOLIAN, B.; LIGHTCAP, I. V.; GRIESER, F.; ASHOKKUMAR, M.; KAMAT,P. V. Sonolytic Design of Graphene-Au Nanocomposites. Simultaneous and Sequential Reduction of Graphene Oxide and Au(III). **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 1, n. 13, p. 1987–1993, 2010.

WOFFORD, J. M.; NIE, S.; MCCARTY, K. F.; BARTELT, N. C.; DUBON, O. D. Graphene Islands on Cu Foils: The interplay between Shape, Orientation, and Defects. **Nano Letters**, v. 10, n. 12, p. 4890–4896, 2010.

XU, C.; WANG, X. Fabrication Of Flexible Metal-Nanoparticle Films Using

Graphene Oxide Sheets As Substrates. **Small-Journal**, v. 5, n. 19, p. 2212–2217, 2009.

XU, C.; WANG, X.; ZHU, J. Graphene-Metal Particle Nanocomposites. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 50, p.19841–19845, 2008.

YAN, Z.; BARRON, A. R. Characterization of Graphene by Raman Spectroscopy. Disponível em: <http://cnx.org/content/m34667/1.2/>. Acesso em 30 out. 2013.

YANG, J. Glassy Viscoelasticity Of Dense Suspensions Of Soft Colloids And Structure & Miscibility Of Soft Filler Polymer. **Nanocomposites,** 2012. 219f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade de Illinois, Illinois.

ZAMPIERI, M. **Peparação dos eletrodos óxidos cerâmicos para aplicação em filmes finos do tipo $Pb_{1-x}Ca_xTiO_3$**. 2009. 121f. Tese (Doutorado em Ciências)- Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

ZARBIN, A. J. G. Química de (nano) materiais. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1469-1479, 2007.

ZHONG, B. Z.; YIN, Y.; GATES,B.; XIA, Y. Preparation of Mesoscale Hollow Spheres ofTiO_2 and SnO_2 by Templating AgainstCrystalline Arrays of Polystyrene Beads. **Advanced Materials**, v. 12, n.3 p. 206-209, 2000.

ZHU, Y.; MURALI, S.; CAI, W.; LI , X.; SUK , J. W.; POTTS, J. R.; RUOFF, R. S. Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications. **Advanced Materials,** v. 22, n. 35, p. 3906–3924, 2010.