

## NANOCOMPÓSITOS DE PVA/GO E PVA/RGO: AJUSTES DAS CARACTERÍSTICAS DE SUPERFÍCIE E ANÁLISE BIOLÓGICA

Michelle Cristina Corrêa dos Santos (IC) e Guilhermino José Macêdo Fachine (Orientador)

Apoio: PIBIC Mackenzie

### RESUMO

Este trabalho refere-se à preparação e caracterização de compósitos (micro e nano) a base de álcool polivinílico - PVA e óxido de grafeno (GO), tendo como meta principal controlar propriedades de superfícies a fim de se obter materiais com elevado desempenho mecânico e biológico. Este trabalho também teve como objetivo a redução *in situ* do GO incorporado na matriz de PVA a fim de se obter compósitos PVA/rGO. O óxido de grafeno foi obtido usando, primeiramente, a metodologia conhecida como Método de Hummers, para produzir o óxido de grafite (Gr-O). Em seguida, água foi adicionada ao Gr-O e essa mistura foi submetida a intensas ondas mecânicas (ultrassom), produzindo uma dispersão de óxido de grafeno. Os filmes finos dos compósitos PVA/GO foram preparados por evaporação de solvente, pela mistura da solução aquosa de PVA e dispersão de GO em água. A concentração final de GO nos compósitos variou de 0,5 a 25% em massa. A redução *in situ* do GO foi realizada por meio da exposição dos filmes PVA/GO ao vapor de hidrazina. Os compósitos PVA/GO, antes e após exposição a hidrazina, foram caracterizados usando espectroscopia Raman, difração de raios-X (DRX), medidas de ângulo de contato e microscopia de força atômica (AFM). Os dados Raman e difração de raios X mostraram que o GO foi reduzido por toda extensão. Medidas de ângulo de contato indicaram a mudança na energia de superfície dos filmes de PVA após a redução de GO. O ensaio biológico foi realizado em Agar nutriente com dois tipos de bactérias, *S. Aureus* e *E. Coli*. Por meio de análise visual, constatou-se que os compósitos não demonstraram atividade antibacteriana.

Palavras chave: Nanocompósito. Óxido de grafeno. PVA. Biomaterial

### ABSTRACT

This work deals with the preparation and characterization of polyvinyl alcohol - PVA and graphene oxide (GO) based composites (micro and nano), with the main goal of controlling surface properties in order to obtain materials with high mechanical and biological. This work also aimed at the *in situ* reduction of GO incorporated in the PVA matrix in order to obtain PVA / rGO composites. Graphene oxide was obtained using, first, the methodology known as the Hummers Method, to produce graphite oxide (Gr-O). Then, water was added to the GrO and this mixture was subjected to intense mechanical waves (ultrasound bath), producing a

dispersion of graphene oxide. The thin films of the PVA / GO composites were prepared by evaporation of solvent, by mixing the aqueous solution of PVA and dispersing GO in water. The final GO concentration in the composites ranged from 0.5 to 25% (w/w). The in situ reduction of the GO was performed by exposing the PVA / GO films to the hydrazine vapor. The PVA / GO composites, before and after exposure to hydrazine, were characterized using Raman spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), contact angle measurements and atomic force microscopy (AFM). The Raman data and X-ray diffraction showed that the GO was reduced all extension. Contact angle indicated the change in surface energy of PVA films after GO reduction. The biological test was performed on nutrient agar with two kinds of bacteria, *S. aureus* and *E. coli*. By means of visual analysis, it was verified that the composites did not demonstrate antibacterial activity.

Keywords: Nanocomposite. Graphene oxide. PVA. Biomaterial

## 1 INTRODUÇÃO

O grafeno foi isolado pela primeira vez em 2004 por Geim e Novoselov (NOVOSELOV et al, 2004) e é uma estrutura bidimensional composta por carbono distribuído em forma de favo de mel, conectado via ligações  $sp^2$ . Como resultado de sua estrutura, o grafeno tem uma alta área de superfície, alta mobilidade eletrônica e alto módulo de elasticidade, muito maior do que os materiais tradicionais, próximo de 1 TPa. Estas propriedades superlativas tornam o grafeno um candidato a ser aplicado em vários campos tais como eletrônica, comunicações e um nanocarga de reforço ao polímero, promovendo novas propriedades, mecânica e elétrica.

Para o desenvolvimento de um nanocompósito polimérico é essencial uma boa dispersão das nanopartículas na matriz. Usando o grafeno como reforço, é natural gerar aglomerados devido à sua área superficial específica elevada (GILJE et al, 2008). Baixas concentrações de cargas de grafeno são necessárias para alcançar as propriedades desejáveis do nanocompósito poliméricos quando comparado as demais cargas (DAS; PRUSTY, 2013), no entanto, uma dispersão de enchimento extraordinária é um pré-requisito para isso. O óxido de grafeno (GO) e o óxido de grafeno reduzido (rGO) são também bons candidatos para serem utilizados como cargas em nanocompósitos poliméricos, uma vez que também podem ser obtidos numa quantidade relativamente grande em comparação com a esfoliação mecânica (SHAH et al, 2015). Possibilidade de melhorias na interface polímero-carga no caso de GO devido à presença de grupos carbonila, hidroxila e ácidos carboxílicos na estrutura (LOH et al, 2013). Os grupos oxidados tornam o GO facilmente disperso em solventes polares e podem formar nanocompósitos intercalados com polímeros polares através de fortes interações secundárias (VERDEJO et al, 2015).

O Álcool polivinílico (PVA) é um dos vários polímeros utilizados em aplicações médicas por sua excelente biocompatibilidade, baixa toxicidade e absorção de água

(DEMERLIS; SCHONEKER, 2003). Também é amplamente utilizado na engenharia de tecidos moles, colágeno artificial para reparar ou substituição da cartilagem (KARIMI; NAVIDBAKHS, 2014). No entanto, um dos fatores limitantes para sua utilização é devido ao seu baixo desempenho mecânico, o que torna interessante produzir compositos reforçados, como PVA com grafeno e materiais semelhantes ao grafeno (GO e rGO). Como mencionado anteriormente, as estruturas químicas de GO e PVA são muito atraentes para preparar um nanocompósito de polímero uma vez que as nanopartículas podem ser bem distribuídas e dispersas na matriz polimérica devido a fortes interações entre grupos oxidados de GO e grupos hidroxila presentes na cadeia principal do PVA. Alguns trabalhos relacionados aos nanocompósitos de PVA baseados em grafeno e materiais semelhantes ao grafeno foram publicados nos últimos 10 anos (SALAVAGIONE; MARTINEZ; GÓMEZ, 2014). Os principais objetivos destas publicações são focados na melhoria das propriedades mecânicas, térmicas

e elétricas do PVA pela inserção de partículas GO ou rGO. O processo para preparar filmes finos de PVA / GO é obtido pela mistura da dispersão do GO com a solução aquosa do PVA seguida pela evaporação do solvente (MORIMUNE; NISHINO; GOTO, 2012). A redução química de GO, quando misturado com solução de água de PVA, é uma das estratégias utilizadas para preparar nanocompósito PVA / rGO (SALAVAGIONE; MARTINEZ; GÓMEZ, 2014). A inserção direta de partículas rGO na solução de água PVA é outra maneira de preparar o nanocompósito PVA / Rgo (MA et al, 2013). No entanto, o teor de rGO na matriz PVA é limitado ao limite de dispersão da partícula em água.

Neste trabalho, foi apresentado uma nova estratégia para reduzir partículas de óxido de grafeno (GO) já inseridas em filmes de álcool polivinílico (PVA) para obter nanocompósitos PVA / rGO com boa dispersão das nanopartículas, mesmo para altos teores de cargas (até 25% /W). Esta nova abordagem supera a limitação da concentração de rGO no nanocompósito apresentada pelos métodos descritos anteriormente e o nível de dispersão obtido para a partícula GO na matriz PVA é mantido para os rGO uma vez que a redução é realizada com filmes PVA sob exposição ao vapor de hidrazina. Assim como também foi feito uma avaliação do comportamento antibacteriano dos filmes. O objetivo principal foi de controlar propriedades de superfícies a fim de se obter materiais com elevado desempenho mecânico e biológico.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 NANOCOMPÓSITOS

Um compósito que possui pelo menos uma de suas fases tem dimensões nanométricas é denominado nanocompósito. São materiais heterogêneos e assim como os compósitos tradicionais, um dos componentes é a matriz, na qual as partículas do segundo material se encontram dispersas (reforço). Estes componentes podem ser de natureza inorgânica/inorgânica, inorgânica/orgânica ou orgânica/orgânica (ESTEVES; TIMMONS; TRINDADE, 2004).

### 2.2 O GRAFENO COMO BIOMATERIAL

O artigo publicado por Kostarelos e Novoselov (2014) destaca alguns pontos importantes com respeito à interação biológica do grafeno. Alguns resultados como a ativação celular ou apoptose (morte celular programada), podem ser prejudiciais ou benéficos, dependendo do tipo de célula e o destino. Em outro exemplo, alguns estudos experimentais demonstraram formas específicas de grafeno que podem interagir diretamente com membranas plasmáticas, o que sugere que o grafeno pode causar danos celulares na membrana. No entanto, outros estudos demonstraram que a interação e a ligação de vários

tipos de material “grafeno” com a membrana plasmática dos mamíferos podem levar a uma melhoria potencialmente benéfica no crescimento das células ou o efeito de blindagem sem danos celulares. Outro processo biológico de grande importância é a biodegradação da superfície do biomaterial, neste caso o grafeno. Isto vai estimar o perfil de segurança dos materiais contendo grafeno, além do tempo de residência e persistência desse nos tecidos. Além disso, o estudo da cinética de degradação do grafeno pode definir as limitações em relação à especificidade das aplicações biomédicas que podem exigir integração, a longo prazo, dentro do meio biológico (por exemplo, implantes ortopédicos, agentes de cicatrização da ferida da córnea, entre outros).

### 2.3 GRAFENO – PROPRIEDADES ANTIBACTERICIDAS

Para o entendimento do uso biomédico dos nanomateriais de maneira prudente, é essencial que haja uma compreensão de como estes materiais interagem com as membranas celulares, ou seja, se eles causam algum tipo de citotoxicidade. Pesquisas atuais sobre o grafeno e seu efeito bactericida são atribuídas à exposição de derivados do grafeno diretamente às bactérias e em combinação com algum substrato ou através de dopagem com outro material (BENITES; SANTOS, 2016).

Em 2013, pesquisadores chineses publicaram um trabalho em que exibiu teoricamente e experimentalmente que nanofolhas de óxido de grafeno pode impulsionar a degradação de membranas celulares da bactéria *Escherichia Coli*. Em baixas concentrações de óxido de grafeno, as células do microorganismo permaneceram intactas, mas passando algumas horas, as membranas celulares foram rigidamente prejudicadas, e algumas células perderam o seu citoplasma completamente (TU et al., 2013).

De acordo com Liu et al. (2011), dispersões de GO apresentam uma maior atividade antibacteriana, sequencialmente seguido por dispersões de rGO, pó grafite e pó óxido de grafite. Essa pesquisa foi publicada numa revista renomada, *ACS Nano*, e demonstrou que o contato direto entre a parte externa da bactéria e a folha de grafeno afeta rigorosamente a integridade celular (LIU et al., 2011; BENITES; SANTOS, 2016).

Neste presente trabalho, foi realizado um ensaio biológico preliminar com dois tipos de bactérias: *Escherichia Coli* e *Staphylococcus aureus*. A *Escherichia Coli* são Gram negativa e fazem parte da flora intestinal humana, sendo muito importante na manutenção da fisiologia intestinal. A *Staphylococcus aureus* são Gram Positiva, geralmente encontrada nas fossas nasais e epiderme humana (SANTOS, 2015).

### 3 EXPERIMENTAL

#### 3.1 MATERIAIS

Para os nanocompósitos, o polímero utilizado foi o PVA da MARCA ATIAS QUÍMICA, com  $PM = 10.000 \text{ g / mol}$ . a produção do óxido de grafeno (dispersão em água com aproximadamente  $1\text{mg/ml}$ ), utilizando os seguintes materiais: grafite (99,9% - Sigma Aldrich), ácido sulfúrico (96% - Vetec), permanganato de potássio (Merck), água oxigenada (30% - Vetec) e ácido clorídrico (10%). Para a análise biológica foram utilizados Ágar (HIMEDIA) e duas bactérias: Escherichia Coli e a Staphylococcus aureus, disponibilizados pelo Centro de Ciências Biológicas e Saúde da Universidade Presbiteriana Mackenzie (CCBS).

#### 3.2 PREPARAÇÃO DO NANOCOMPÓSITO

Por intermédio do cálculo da densidade do polímero, os compósitos de PVA/GO foram preparados para obter uma película de 100 micrometros de espessura. Em um béquer foram misturados, PVA e água (para cada 2g de PVA foi empregado 40 ml de água destilada). Posteriormente foi utilizada uma placa de aquecimento (trinta minutos em  $80^{\circ}\text{C}$  com agitação magnética), e no final uma solução aquosa viscosa foi obtida. O óxido de grafeno foi adicionado na forma de dispersão aquosa (concentração de  $0,001 \text{ g/ml}$ ) à solução polimérica. O volume de dispersão de GO usado foi calculado para atingir os teores de GO no nanocompósitos, que variam de 0,5 a 25% em massa. A mistura foi levada a uma placa de aquecimento (uma hora a  $80^{\circ}\text{C}$ ) e o ultrassom (vinte minutos) para uma completa homogeneização. Depois de homogeneizar, a solução foi depositada sobre uma placa de petri de plástico e levada para a capela até fosse obtido um filme fino de PVA/GO.

#### 3.3 PREPARAÇÃO DO NANOCOMPOSITO PVA/rGO

O filme PVA / GO foi colocado no interior de um recipiente de vidro com 200 ug de solução de hidrazina. O sistema foi aquecido a  $110^{\circ} \text{ C}$  durante 6 h e o vapor de hidrazina permeiou os filmes de nanocompósitos PVA / GO. Passado este período o sistema foi desligado e os filmes foram coletados após a temperatura ambiente ser atingida.

#### 3.4 CARACTERIZAÇÃO

##### - RAMAN

As análises de espectroscopia Raman do grafite, Gr-O, PVA puro, PVA / GO e PVA / rGO foram realizadas num microscópio acoplado a um espectroscópio de dispersão Raman, Witec UHTS 300, utilizando laser de 532 nm com potência de 1,5 mW.

#### - ÂNGULO DE CONTATO

As medidas de ângulo de contato com água e etilenoglicol foram realizadas em um analisador de forma gota - DSA 100 gotas (Krüss) a 24°C, a fim de ser determinada energia livre de superfície dos filmes (ELS). A dosagem de gotas foi feita através de um controle micrômetro manual. Os ângulos de contato foram determinados usando o Avanço software - Gota Forma da Krüss. Pelo menos, vinte medições foram realizadas para cada amostra. Os valores de ELS foram calculados pelas equações de Fowrkers.

#### - RAIOS X

A técnica de difração de raios-X (DRX) foi realizada para caracterizar o Gr-O obtido e também para avaliar como a presença do GO na matriz polimérica alterou a morfologia dos filmes. As difrações de raios-X foi realizada nos filmes PVA/GO, antes e após exposição a vapor de hidrazina, em um difractômetro da marca Rigaku com radiação  $K^{\alpha}_{Cu}$  ( $\lambda = 1,42 \text{ \AA}$ ). O intervalo de varrimento utilizado foi de 5° a 70° a uma taxa de varredura igual a 0,083°/s.

#### - AFM

As análises de AFM foram realizadas com o intuito de avaliar as propriedades mecânicas de superfície dos filmes de PVA/GO, antes e após a exposição a hidrazina. Essas análises foram feitas usando um equipamento ICON ScanAsyst AVH - 1000 da Brucker. A determinação do módulo de Young superficial foi realizada utilizando o módulo de operação Peak Força QNM. Os dados foram a partir de uma área analisada de "50  $\mu\text{m}$  x 50  $\mu\text{m}$ ".

#### - Ensaio Biológico – Propriedades Antibacterianas

As propriedades antibacterianas do compósito foram avaliadas utilizando o teste de difusão em ágar. O Agar nutriente (Empresa HIMEDIA) foi hidratado com água destilada, esterilizado por meio de autoclave a uma pressão de 15 libras em 121°C no período de 15 minutos. Após a esterilização, foi depositado em placas de Petri de vidro, seguido da adição dos microorganismos escolhidos (E. coli ou S. aureus) atraindo uniformemente. Amostras dos filmes (aproximadamente 1  $\text{cm}^2$ ) foram dispostas sobre a superfície desse material preparado. Foram examinadas três composições: 0%, 1,5% e 20% de GO no PVA (sem exposição a vapor de hidrazina) para cada tipo de bactéria. O sistema foi incubado a 37°C por 24 horas.

#### 4. RESULTADOS

Para confirmar a estrutura semelhante ao grafeno, o Gr-O foi caracterizado por espectroscopia Raman e difração de raios-X. A Figura 1 mostra um espectro Raman muito característico do Gr-O, com os 3 picos diferentes descritos como D ( $1350\text{ cm}^{-1}$ ) relacionado aos defeitos da estrutura  $sp^2$ , G ( $1580\text{ cm}^{-1}$ ) que está correlacionado com a estrutura  $sp^2$  e 2D ( $2700\text{ cm}^{-1}$ ) correspondente à organização estrutural da malha bidimensional em grafeno. Estes mesmos picos podem ser vistos no espectro do grafite. O processo de oxidação pode ser confirmado pela grande diferença entre os dois espectros. A intensidade aumentada do pico D em Gr-O é atribuída à quebra de simetria neste material quando é oxidado.

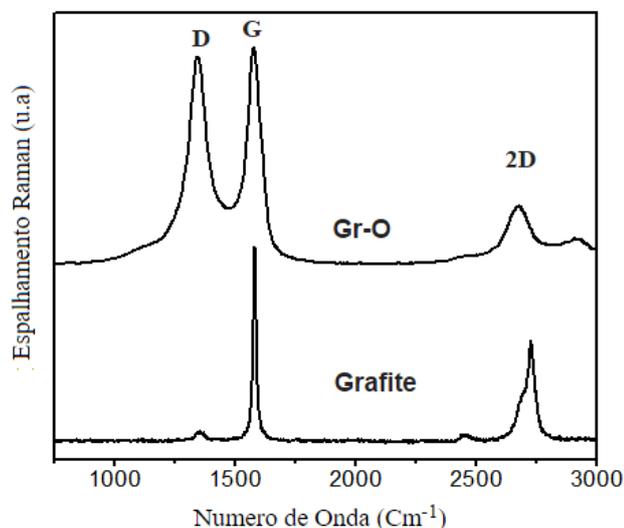


Figura 1 Espectros Raman normalizados do grafite e do Gr-O.

Os difratogramas de raios-X para as amostras de grafite e Gr-O demonstraram um pico de difração (002) em  $2\theta = 26,4^\circ$  para o grafite. Esse pico é deslocado para  $10,5^\circ$  para a amostra do Gr-O como mostrado na Figura 2. Esta mudança é atribuída ao aumento interplanar das camadas de grafite no Gr-O devido a inserção dos grupos oxigenados (STOBINSKI et al., 2014).

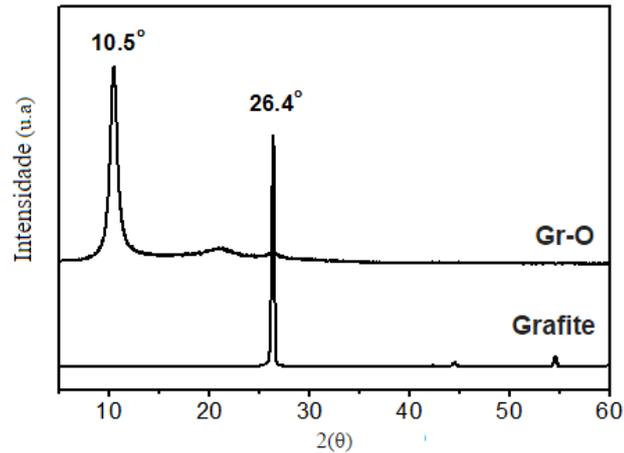


Figura 2- XRD do Grafite e do Gr-O.

O filme puro de PVA e os do compósitos de PVA/GO (antes e após exposição ao vapor de hidrazina) foram todos caracterizados por microscopia confocal Raman, os espectros estão apresentados na Figura 3. Foram escolhidas as amostras de PVA puro, e PVA/GO com 1,5 e 25% de carga para serem apresentadas. O espectro Raman de PVA puro apresenta duas bandas principais: 1) uma banda a  $1444\text{ cm}^{-1}$  atribuído ao modo de cisalhamento (de quem?) e serve como medida da cristalinidade do PVA e 2) uma banda a  $2915\text{ cm}^{-1}$  atribuída às vibrações C-H (WANG; et.al, 2013). Estas duas bandas não foram afetadas pela exposição do vapor de hidrazina, o que pode indicar pouca modificação química do polímero. No caso dos compósitos, procurou-se durante a análise focar o laser nas partículas do GO. Por isso, a intensidade das bandas referentes do PVA são bastante reduzidas.

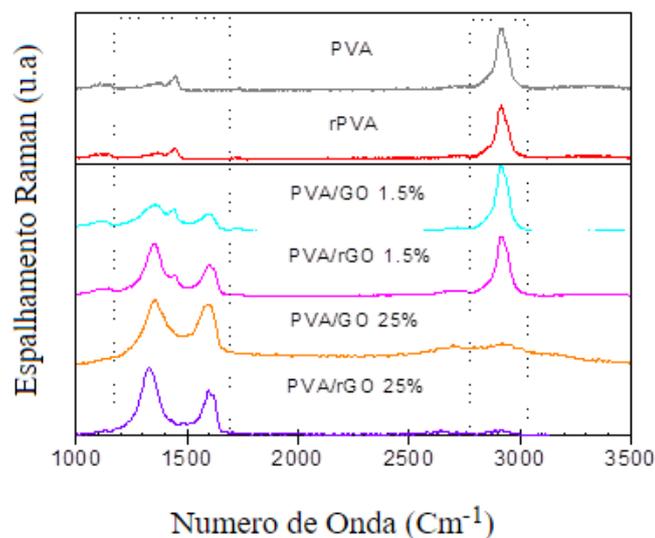


Figura 3 Espectros Raman do PVA puro e compósitos PVA/GO, antes e após exposição ao vapor de hidrazina.

Todos os compósitos PVA/GO apresentam a banda D e G, contudo, a razão D/G é aumentada após a exposição do vapor de hidrazina causada pela remoção de grupos oxigenados. Este resultado indica o êxito na redução de GO quando inserido numa matriz polimérica utilizando vapor de hidrazina (DOMINGUES, 2013).

A Figura 4 apresenta os resultados de energia de superfície obtidos usando as medidas de ângulo de contato com a água e etileno glicol. Nessa figura, as parcelas contributivas da  $\gamma$  (energia superficial), polar ( $\gamma^p$ ) e dispersiva ( $\gamma^d$ ), são apresentadas para os filmes de PVA/GO e PVA/rGO. Como confirmou-se a redução do GO, daqui por diante utilizará a nomenclatura PVA/rGO. Analisando os dados, é possível notar que há uma enorme mudança em  $\gamma$  até 1,5% de inserção de carga, principalmente com o compósito PVA/GO. Como pode ser observada na Figura 4a, a diminuição de  $\gamma$  é causada principalmente pela queda da parcela polar, que envolve forte interação polar entre as ligações de hidrogênio, indicando que há menos grupos polares na superfície do filme. Provavelmente, a interação entre os grupos oxigenados do GO e os grupos hidroxilas pertencentes ao PVA não permitiram a exposição destes grupos polares na superfície do filme até este ponto (1,5%).

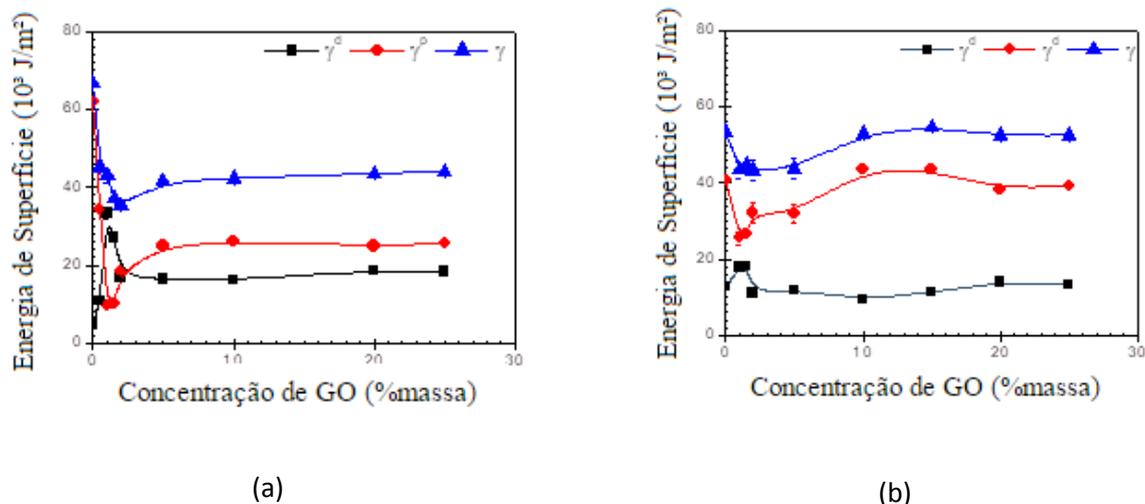


Figura 1– Energia Livre de Superfície ( $\gamma$ ) e seus componentes dispersivos ( $\gamma^d$ ) e polares ( $\gamma^p$ ) do PVA/GO (a) e do PVA/rGO (b).

Provavelmente, uma razão estequiométrica entre o grupo oxigenado do GO e os grupos polares do PVA é atingida no ponto de 1,5% (Figura 5c). Após este ponto, a concentração de GO aumenta e as interações entre as partículas de GO são mais elevadas do que as interações entre grupos oxigenados e grupos polares do polímero, recuperando uma certa parcela de grupos polares na superfície do filme e os valores de  $\gamma$ ,  $\gamma^d$  e  $\gamma^p$  são parcialmente recuperados.

Para confirmar a hipótese mencionada anteriormente, novos filmes de compósitos PVA/GO foram preparados utilizando novas partículas GO com maior nível de oxidação (Gr-Ox) e dados de energia livre da superfície foram coletados.

A Figura 6 mostra o espectro Raman do Gr-Ox. É claramente visível os três picos atribuídos à estrutura do de materiais grafiticos, e também uma relação D/G superior ao do Gr-O produzido inicialmente, confirmando um maior nível de material oxidado.

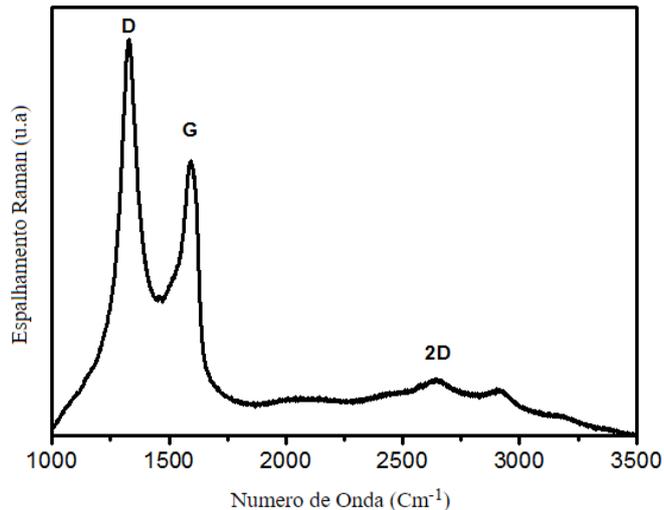


Figura 6 - Espectro Raman do Gr-Ox

A Figura 7 mostra valores de energia de superfície obtidos pelas medidas de ângulo de contato para filmes PVA/GO preparados a partir do Gr-Ox. Os resultados apresentados na Figura 13 mostram um mínimo de energia de superfície que ocorre em torno de 1,0% para os novos filmes, isto é, o mínimo de  $\gamma$  aconteceu antes do filme PVA/GO. Estes resultados provam a hipótese sobre a existência de uma razão estequiométrica entre grupos oxigenados do GO e os grupos polares do polímero, uma vez que as novas partículas de GO obtidas com maior número de grupos oxidados, conduzem a menor quantidade de material para atingir o ponto de saturação das interações entre GO e o polímero.

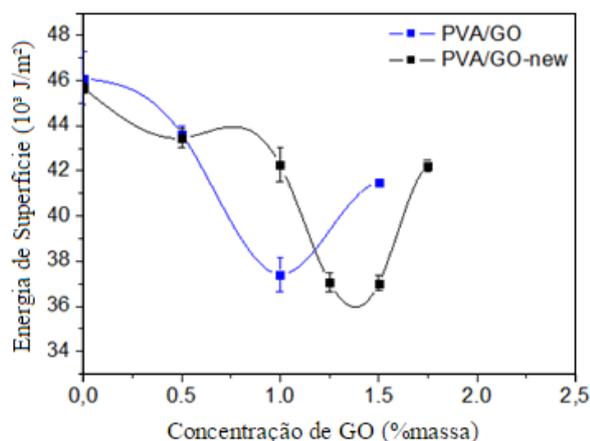


Figura7 Energia Livre de Superfície ( $\gamma$ ) do compósito PVA/GO produzido com Gr-O e Gr-Ox.

Após exposição ao vapor de hidrazina, o filme puro de PVA também apresenta modificações. A energia de superfície cai devido à diminuição da componente polar ( $\gamma^p$ ) e aumento na componente dispersiva ( $\gamma^d$ ). Provavelmente, reações com a hidrazina ocorreram na superfície do PVA. Os compósitos PVA/rGO apresentam maior  $\gamma$  em todas as composições, grande parte disso porque a interação polar entre PVA e rGO é pobre devido à falta de grupos oxigenados no rGO, além da modificação do polímero pelo ação da hidrazina.

A energia livre de superfície foi estimada usando o teste de queda sessil e a equação de Fowke. De acordo com estes dados apresentados na Tabela 1, a presença de partículas de GO aumentou a hidrofobicidade do PVA, originando um maior ângulo de contato na gota de água sobre o filme do compósito. Uma explicação para a diminuição dos componentes polares na superfície dos filmes de PVA/GO já foi feita baseada nos resultados de energia superficial. A informação sobre a hidrofobicidade com base no ângulo de contato apresenta a mesma tendência observada para  $\gamma$ . A máxima hidrofobicidade do PVA/GO ocorre em torno de 1,5% de carga, onde provavelmente a maioria dos grupos oxigenados do GO está interagindo com grupos hidroxila do PVA. A diminuição da hidrofobicidade, observada acima de 1,5% de GO, é provavelmente causada pela forte interação entre partículas de GO. Acima de 20% de GO, o ângulo do contato cai fortemente, indicando o aumento na hidrofiliidade, a razão mais provável para isto é aglomeração de GO, causada pela supersaturação da solução usada para preparar os filmes. O aglomerado de GO conduz à redução na área superficial das folhas desse material, e o número de grupos oxigenados expostos também se reduz, assim os grupos hidroxila do PVA se tornam mais “livres” para aumentar a hidrofiliidade na superfície do filme. A exposição ao vapor de hidrazina diminuiu o ângulo de contato do PVA puro, provavelmente, a água residual dentro dos filmes foi removida devido à temperatura ( $\cong 100^\circ\text{C}$ ) e tempo (12 horas) que o experimento foi realizado. Os

compósitos PVA/rGO mostram ângulos de contato superiores ao PVA puro submetidos ao vapor de hidrazina para carga até 1,5% e, após este ponto, os ângulos de contato diminuíram com valores próximos ao PVA puro após o tratamento. Para menores conteúdos de carga não há agregação de partículas e o vapor de hidrazina interagiu mais com GO, reduzindo o efeito sob os grupos hidroxila do polímero mantendo a superfície hidrofílica. Quando há um aumento no conteúdo de carga, a quantidade de hidrazina não é suficiente para reduzir todas as partículas de GO e a interação entre a carga/polímero é mais forte, levando à redução dos grupos polares na superfície do filme.

Tabela 1 - – Valores de ângulos de contato das gotas de água na superfície de filmes de PVA e dos compósitos, antes e depois da exposição ao vapor de hidrazina

<b>Composição (%)</b>	<b>PVA/GO (°)</b>	<b>PVA/rGO (°)</b>
<b>0.0</b>	57.1 ± 0.9	46.8 ± 0.7
<b>0.5</b>	60.3 ± 0.3	61.8 ± 0.9
<b>1.0</b>	76.0 ± 0.5	59.7 ± 0.2
<b>1.5</b>	77.4 ± 0.1	61.0 ± 0.2
<b>2.0</b>	74.5 ± 0.8	62.6 ± 0.4
<b>5.0</b>	70.5 ± 0.4	49.3 ± 0.1
<b>10.0</b>	71.6 ± 0.4	45.9 ± 0.3
<b>15.0</b>	73.0 ± 0.6	47.8 ± 0.3
<b>20.0</b>	70.1 ± 0.5	47.5 ± 0.3
<b>25.0</b>	60.1 ± 0.9	46.8 ± 0.7

A Figura 8 mostra os difratogramas de raios-X dos do PVA puro e dos compósitos antes e depois da exposição ao vapor de hidrazina. De acordo com a literatura, o PVA pode apresentar vários picos cristalinos a 11,5, 16,0, 19,4, 20,0, 22,8, 32,2 e 43° (RICCIARDI et al., 2004). O difratograma do filme puro de PVA antes da exposição ao vapor de hidrazina apresenta dois picos notáveis a 20° e 43° assim como uma imensa região amorfa. A alta temperatura utilizada para gerar vapor de hidrazina atuou como tratamento térmico reduzindo defeitos na rede cristalina levando a uma melhor definição para os picos a 19,4° e 22,8° além de diminuir a região amorfa. No caso dos compósitos PVA/GO, as partículas de GO atuam como agente de nucleação para o polímero, mantendo as características cristalinas para a maioria das composições exceto com 1,5% de GO. Para PVA/GO (1,5%) a intensidade do pico localizado a 22,8° é aumentada e um pico em torno de 11° pode ser visto claramente. Estes resultados indicam que GO induz uma modificação muito forte nas fases cristalinas do PVA para este conteúdo específico. O pico de difração característico das folhas de óxido de grafite é observado em  $2\theta = 9^\circ$  (Figura 8c) para compósitos PVA/GO com maior teor de carga (25,0%), devido a uma re-empilhamento das folhas de GO correspondendo a uma distância camada-camada de 0,98 nm. Os compósitos PVA/GO com

cargas menores que 20,0% exibem as mesmas características (exceto 1,5% de GO, como explicado anteriormente) com a ausência de pico característico de óxido de grafite. Isso implica que o Gr-O foi totalmente esfoliado em camada individual ou em poucas camadas de GO. Como mencionado anteriormente, após o tratamento com vapor de hidrazina a característica cristalina do PVA é intensificada e mantida para os compósitos. Os difratogramas dos compósitos PVA/rGO são muito semelhantes para todas as composições, novamente exceto para 1,5% de rGO. Um comportamento semelhante é encontrado com relação aos valores de  $\gamma$  e hidrofobicidade, isto é, um ponto singular pode ser encontrado nesta composição. O pico referente ao empilhamento das folhas de GO não é observado para nenhum dos compósitos PVA/rGO, mesmo para altas cargas de rGO. Provavelmente, durante a exposição do vapor de hidrazina ocorreu expansão das folhas devido à evaporação da água adsorvida nas folhas do GO, além da redução.

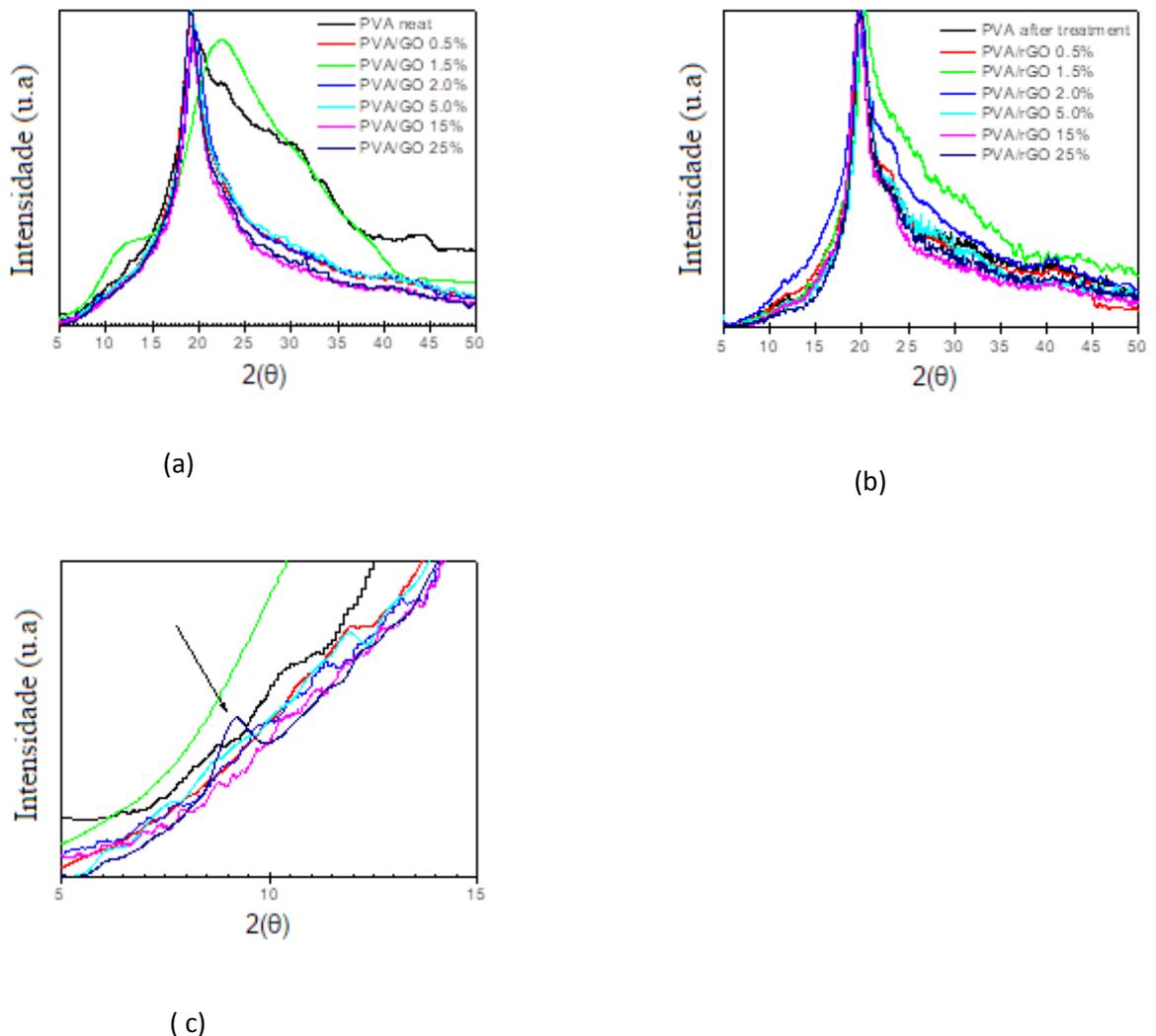


Figura 8 Difratogramas de raios-X do PVA e dos compósitos antes (a) e após a exposição ao vapor de hidrazina (b). Zoom da região mostrando pico de difração de óxido de grafite para o composto PVA/GO (c).

A Figura 9 apresenta os valores de módulo de Young das superfícies dos filmes de PVA puro e compósitos PVA/GO (antes e após exposição ao vapor de hidrazina) obtidos pela técnica AFM.

Verifica-se que o módulo de elasticidade do PVA puro antes da exposição ao vapor de hidrazina é superior ao filme exposto. A exposição dos filmes ao vapor de hidrazina foi realizada a 110 °C durante 6 h, como já mencionado anteriormente, e devido a isto a quantidade de água adsorvida na superfície do filme diminuiu significativamente. Sabe-se que a água atua como um plastificante para o PVA, de modo que o aumento no valor do módulo E é devido ao aumento da rigidez na superfície do filme devido à perda do plastificante. Acima de 1,5% de carga, observa-se uma diminuição do módulo, mas em seguida há um crescimento próximo a 5% para o PVA/GO e 15% para o PVA/rGO. A remoção de grupos oxigenados do GO após a redução do estado sólido levou a uma diminuição da interação entre as folhas de rGO e o PVA, conseqüentemente a adesão entre o polímero e a carga diminuiu, o que justifica o menor desempenho mecânico do composto PVA/rGO.

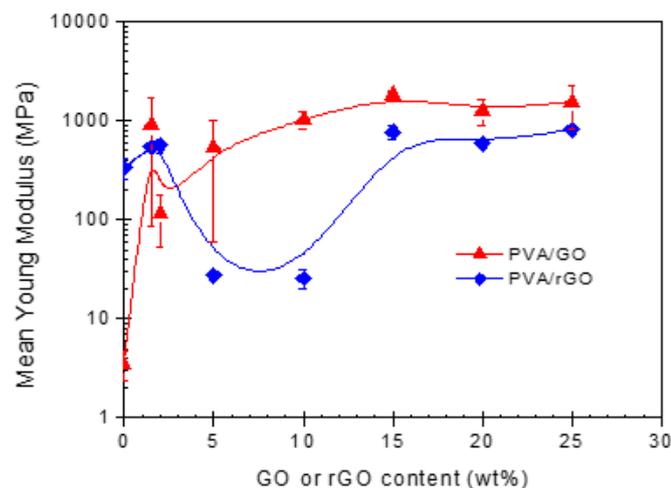


Figura 9- Módulo de Young na superfície dos filmes de puros PVA, compósitos PVA / GO e PVA / rGO

O caráter bacteriano dos compósitos foi analisado utilizando o teste de difusão em Agar. A Figura 10 apresenta os meios de cultura com as bactérias recém-inoculadas em sistema com apenas o Agar. O intuito do complexo com Agar foi de atestar que o meio nutritivo usado esteve oportuno para o crescimento dos microorganismos. Comprovaram-se, por meio de avaliação visual, que houve crescimento celular para as duas bactérias, sendo que a *Staphylococcus Aureus* obteve um maior desenvolvimento comparada à *Escherichia Coli*. A região circunscrita em azul são áreas de colônias.

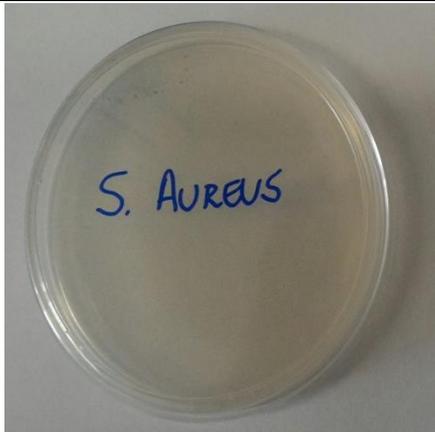
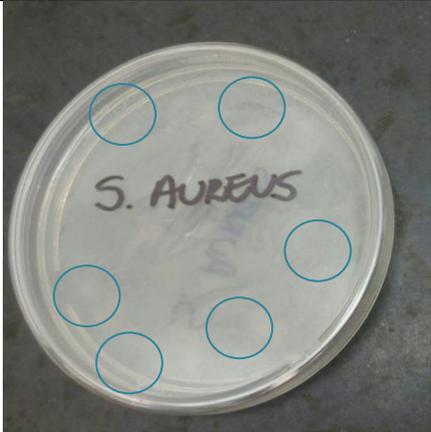
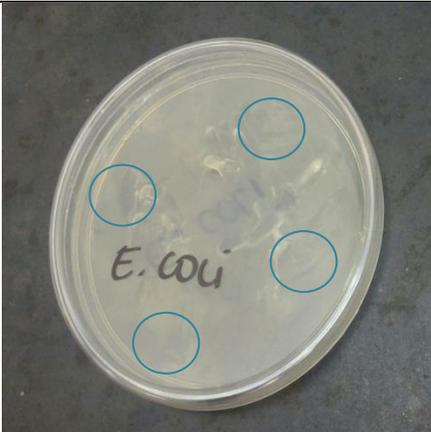
<b>Bactéria: Staphylococcus Aureus</b>		
	<b>Antes da Incubação</b>	<b>Após incubação</b>
<b>Apenas Agar (a)</b>		
<b>Bactéria: Escherichia Coli</b>		
<b>Apenas Agar (b)</b>		

Figura 10 Sistema com ágar - Antes e após incubação

A Figura 11 expõe o antes e depois da incubação para o PVA puro. A região demarcada é a localização do filme. O PVA não apresentou atividade antibacteriana, por conta da sua biocompatibilidade, é usado como um agente bioativo, permitindo que haja um transporte e liberação de substâncias bioativas (GALYA et al., 2008).

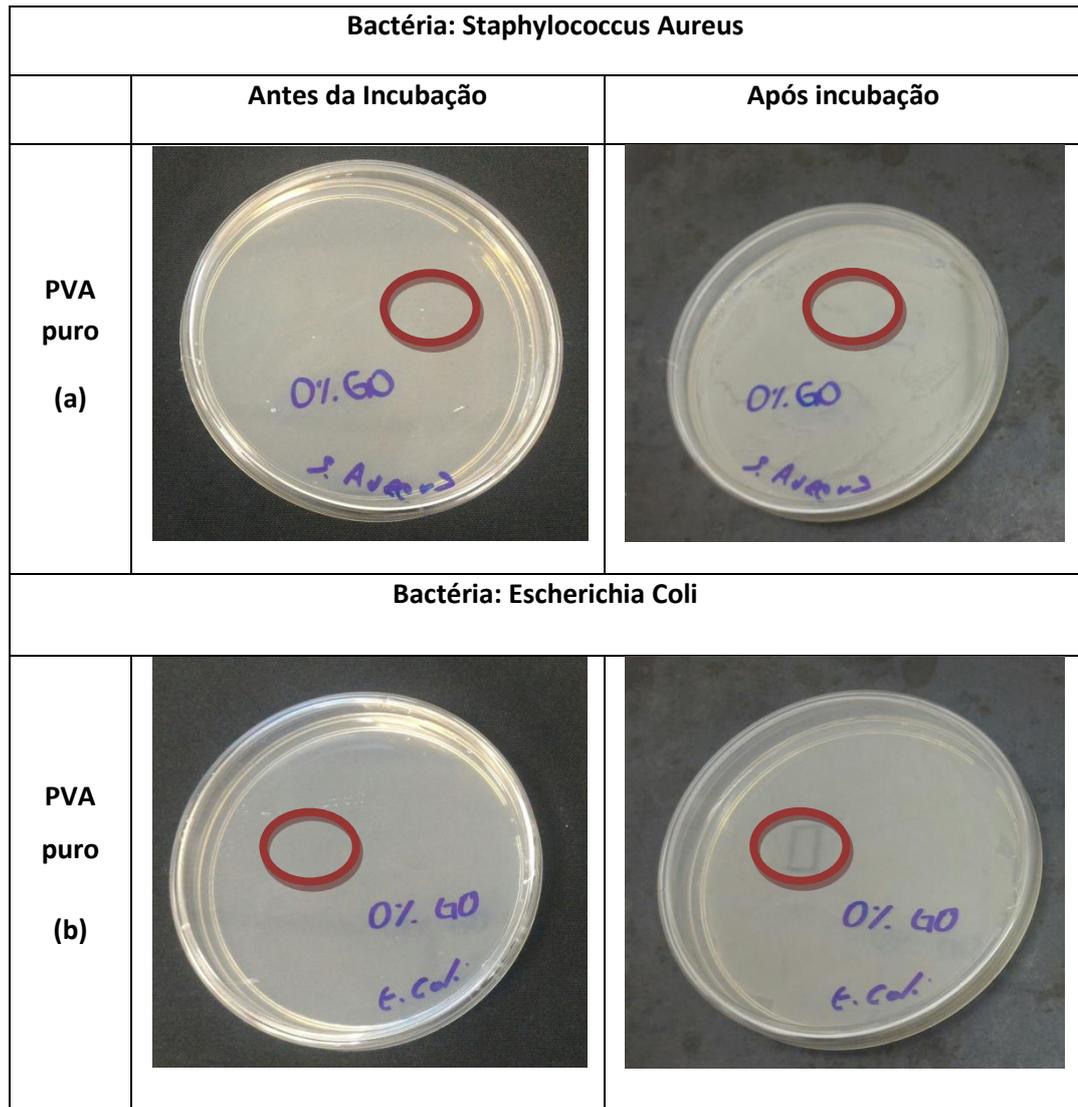


Figura 11 PVA puro - Antes e após incubação

A Figura 12 retrata os resultados do crescimento bacteriano no meio de cultura com o compósito PVA/GO (1,5% GO). Foi possível observar que a posição do filme apontou regiões de crescimento de microorganismos. O estudo das propriedades antibacterianas do grafeno envolve o contato direto da bactéria e o grafeno, como por exemplo, dispersões de GO (LIU et al., 2011). No caso do compósito PVA/GO, o óxido de grafeno está em um estado de encapsulamento com o polímero, o que provavelmente, pode indicar o motivo do aumento da colônia na região do filme.

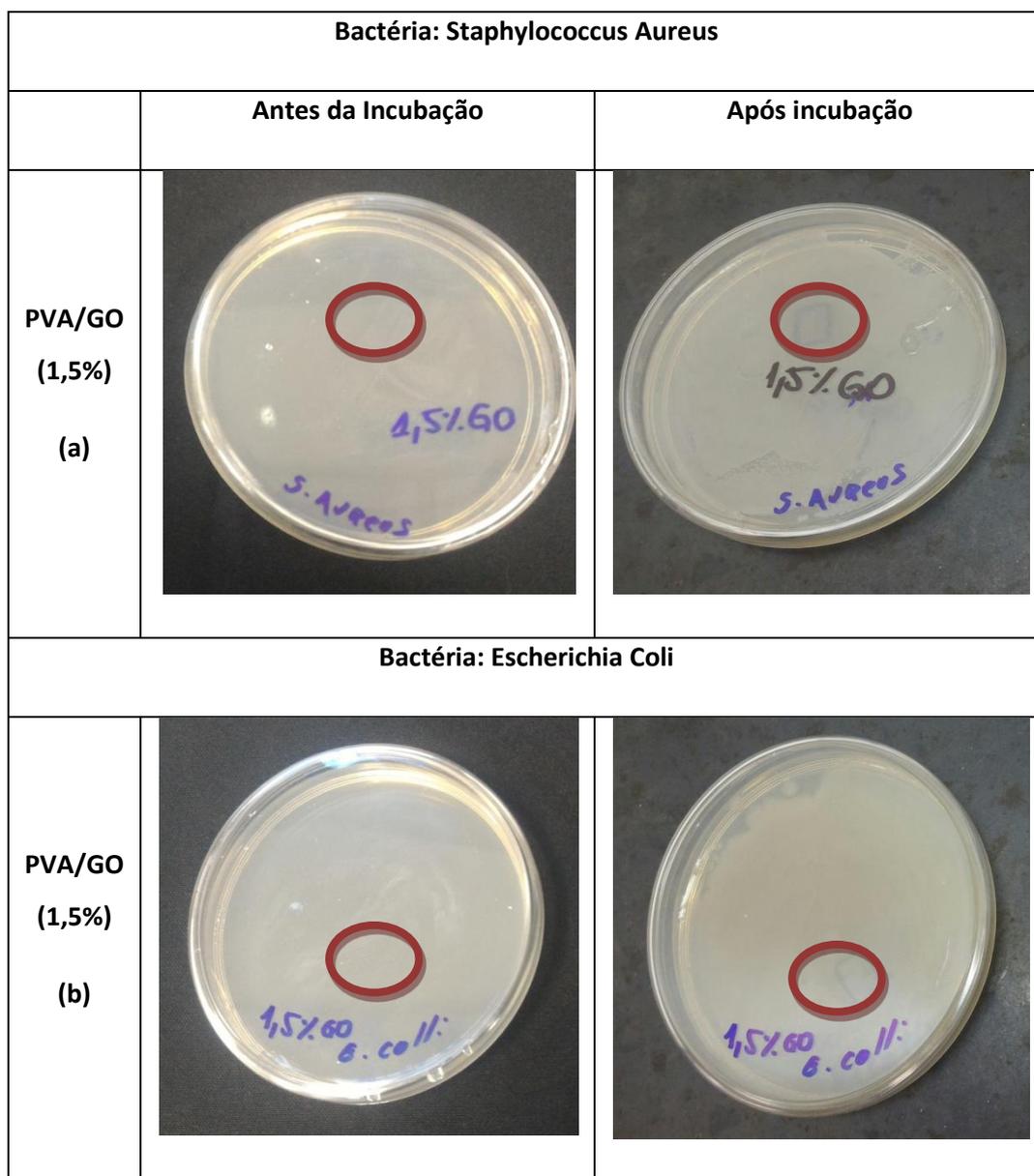


Figura 12. Compósito PVA/GO (1,5%) - Antes e após incubação.

## 5 CONCLUSÕES

A exposição de partículas de GO ao vapor de hidrazina já inserido na matriz polimérica não altera a dispersão e a distribuição das partículas e permite a redução do GO mesmo para cargas elevadas. Os resultados de Raman, energia livre de superfície, ângulo de contato, difração de raios X e propriedades mecânicas indicaram que há uma razão estequiométrica entre o grupo oxigenado de partículas de GO e grupos polares do PVA que podem alterar fortemente a forma de interação. Como consequência dos resultados aqui apresentados, as propriedades superficiais dos filmes de PVA / GO antes e depois da exposição ao vapor de hidrazina podem ser ajustadas pelas modificações no teor de GO e no

nível de oxidação obtido durante a síntese de partículas de GO. O impacto dessas afirmações é extremamente importante para aplicações já bem conhecidas para este polímero como biomédicas, membranas e embalagens e para expansão para várias áreas que realmente precisam de um controle da característica de superfície do PVA. O PVA puro apresentou crescimento das duas bactérias. A *Staphylococcus Aureus* manifestou um crescimento mais acentuado no meio Agar Nutriente. Os compósitos PVA/GO não apresentaram atividade antibacteriana, o que supostamente, deve-se ao motivo do encapsulamento do óxido de grafeno.

## REFERÊNCIAS

- BENITES, P.R.P.; SANTOS, A.G. **Diseño nanotecnológico de superficies con propiedades antibacterianas: el grafeno**. Revista Ingeniería de Construcción, 2016, vol. 31, nº3, p. 201-207.
- DAS, T.K; PRUSTY, S..**Graphene-Based Polymer Composites and Their Applications**. Polym. Plast. Technol. Eng. 52 ,2013.
- DEMERLIS, C.C.; SCHONEKER, D.R. **Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA)**. Food Chem. Toxicol. 41 ,2003, p.319–326
- DOMINGUES, S. H. **Filmes finos, transparentes e condutores baseados em grafeno**. 2013. Dissertação (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas da UFPR, Curitiba, 2013
- ESTEVES, A. C; TIMMONS, A. B. ; TRINDADE, T. **Nanocompósitos de Matriz Polimérica: Estratégia de Síntese de Materiais Híbridos**. Química Nova, 2004, vol. 27, nº 5, p.798-806
- GALYA, T.; SEDLAR, V.; KURITKA, I.; NOVOTNY, R.; SEDLARIKOVA, J.; SÁHA, P. **Antibacterial Poly(vinyl Alcohol) Film Containing Silver Nanoparticles: Preparation and Characterization**. Journal of Applied Polymer Science, 2008, P. 3178 – 3185.
- GILJE,S.;KANER, R.B.;WALLACE, G.G.; LI, D.A.N.;MU, M.B.;MULLER, M.B. **Processable aqueous dispersions of graphene nanosheets**, Nat. Nanotechnol. 3 ,2008, p.101–105
- KARIMI, A.; NAVIDBAKHS, M.**Mechanical properties of PVA material for tissue engineering applications**, 29, 2014.
- KOSTARELOS, K. ; NOVOSELOV, K. S. **Exploring the interface of graphene and biology**. Science, 2014, vol. 344, p.261–263.
- LIU, S.; ZENG, T. H.; HOFMANN, M.; BURCOMBE, E.; WEI, J.; JIANG, R.; CHEN, Y. **Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress**. Acs Nano, 2011, vol. 5, nº9, p. 6971-6980.
- LOH, K.P;BAO, Q.;ANG, P.K; YANG, J. The chemistry of graphene, 2010,p.2277–2289
- MA, H.; ZHANG, Y. ; HU, Q.-H.; HE, S.; LI, X.; ZHAI, M.; YU, Z..**Enhanced mechanical properties of poly(vinyl alcohol) nanocomposites with glucose-reduced graphene oxide**. Mater. Lett. 1022013, p.15–18.
- MORIMUNE, S.;NISHINO, T.;GOTO, T., **Poly(vinyl alcohol)/graphene oxide nanocomposites prepared by a simple eco-process**. Polym. J. 44 ,2012, p.1056–1063

NOVOSELOV K.S. ; GEIM, A.K.; MOROZOV, S. V ; JIANG, D; ZHANG, Y.; DUBONOS, S. V; GRIGORIEVA, I. V.. **Electric field effect in atomically thin carbon films**. Science, 306, 2004, p.666–669.

SALAVAGIONE, H.J.; MARTINEZ, G. ; GÓMEZ, M. **Synthesis of poly(vinyl alcohol)/reduced graphite oxide nanocomposites with improved thermal and electrical properties**. J. Mater. Chem. 19, 2009, p.5027.

SANTOS, P. D. F. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana de microcristais de Curcumina**. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015

SANTOS, J. C. C. **Síntese e Caracterização de Nanocompósitos PVA/ Nanotubos de carbono para potencial aplicação biomédica**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e Materiais) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SHAH, R. ; KAUSAR, A.; MUHAMMAD, B; SHAH, S. **Progression from Graphene and Graphene Oxide to High Performance Polymer-Based Nanocomposite: A Review**, Polym. Plast. Technol. Eng. Nº54, 2015, p. 173–183

STOBINSKI, L.; LESIAK, B.; MALOLEPSZY, A.; MAZURKIEWICZ, M.; MIERZWA, B.; ZEMEK, J.; JURICEK, P.; BIELOSHAPKA, I. **Graphene oxide and reduced graphene oxide studied by the XRD, TEM and electron spectroscopy methods**. Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena, 2014, vol. 195, p.145-154.

TU, Y.; MIN, L.; XIU, P.; HUYNH, T.; ZHANG, M.; CASTELLI, M.; LIU, Z.; HUANG, Q.; FAN, C.; FANG, H.; ZHOU, R. **Destructive extraction of phospholipids from Escherichia coli membranes by graphene nanosheets**. Nature Nanotechnology, 2013, nº8, p. 594–601.

VERDEJO, R.; BERNAL, M.M.; ROMASANTA, L.J; LOPEZ MACHADO, M.. **Graphene filled polymer nanocomposites**. J. Mater. Chem. 21, 2011, p.3301

Email: [michellecristina.correa@gmail.com](mailto:michellecristina.correa@gmail.com)

[guilherminojmf@mackenzie.br](mailto:guilherminojmf@mackenzie.br)