



MATRIZES DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) (PLA) E POLICAPROLACTONA (PCL) REVESTIDAS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS POR VIA VERDE A PARTIR DE EXTRATO DE FOLHAS DE *Plinia cauliflora*: CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E BIOCOMPATIBILIDADE

Gustavo S. Fuzer^{1,5} ; Natasha Maurmann^{2,3} ; Paola del Vecchio¹ ; Patricia H. L. Pranke^{2,4}
Schana A. da Silva¹

¹ Curso Técnico em Química, Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha (FETLSVC);

² Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS);

³ Faculdade de Farmácia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI);

⁴ Instituto de Pesquisa com Células-tronco (IPCT).

⁵ 23000070@liberato.com.br

Palavras-Chave: Biofilme, Nanotecnologia, Biomateriais.

Introdução

A busca por materiais poliméricos com propriedades funcionais tem aumentado devido à necessidade de desenvolver alternativas eficientes e sustentáveis para aplicações biomédicas. Entre os polímeros de interesse, o poli(ácido lático) (PLA) e a policaprolactona (PCL) destacam-se por suas propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade e potencial de aplicação em diferentes áreas da saúde (MARTIN et al., 2001; SINHA et al., 2004). Entretanto, esses materiais não apresentam necessariamente propriedades antimicrobianas intrínsecas, o que pode favorecer a adesão de microrganismos e a formação de biofilmes em suas superfícies.

Os biofilmes são comunidades microbianas organizadas e envolvidas por uma matriz extracelular, capazes de aderir a superfícies bióticas e abióticas. Essa organização pode aumentar a resistência dos microrganismos a condições ambientais adversas e a agentes antimicrobianos, tornando seu controle um desafio relevante para o desenvolvimento e a



aplicação de biomateriais (FLEMMING et al., 2016; HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004). Dessa forma, a funcionalização de superfícies poliméricas com agentes antimicrobianos constitui uma estratégia de interesse para reduzir a colonização microbiana e ampliar a funcionalidade desses materiais.

As nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam amplo interesse científico devido à sua atividade antimicrobiana contra diferentes grupos de microrganismos. Sua ação está associada a diferentes mecanismos, incluindo interações com estruturas celulares, liberação de íons prata e indução de estresse oxidativo (SLAVIN et al., 2017). Sua aplicação em superfícies poliméricas representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de materiais com potencial antimicrobiano e antibiofilme. Entretanto, a avaliação da biocompatibilidade é fundamental para verificar a segurança desses materiais, especialmente quando destinados a aplicações biomédicas.

A síntese verde de nanopartículas metálicas tem recebido destaque por utilizar sistemas biológicos, como extratos vegetais, na redução de íons metálicos e na estabilização das partículas formadas. Essa abordagem pode contribuir para a redução do uso de reagentes potencialmente tóxicos e para o desenvolvimento de processos mais sustentáveis (IRAVANI, 2011; MITTAL; CHISTI; BANERJEE, 2013). Nesse contexto, a espécie *Plinia cauliflora*, conhecida popularmente como jabuticabeira, apresenta compostos bioativos com potencial para participar da síntese de nanopartículas de prata (SILVA et al., 2014).

A aplicação de AgNPs sintetizadas por uma abordagem verde no revestimento superficial de matrizes de PLA e PCL pode associar as propriedades favoráveis desses polímeros à atividade antimicrobiana das nanopartículas. Além disso, o revestimento superficial permite modificar as características da superfície dos materiais sem necessariamente alterar sua estrutura polimérica, representando uma alternativa de interesse para a funcionalização de biomateriais.

Diante desse contexto, este trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de prata utilizando extrato aquoso de folhas de *Plinia cauliflora* e avaliar sua aplicação no revestimento superficial de matrizes de PLA e PCL. Foram investigadas as características físico-químicas das nanopartículas, sua atividade antimicrobiana e a biocompatibilidade dos materiais funcionalizados. A relevância do estudo está relacionada ao desenvolvimento de



superfícies poliméricas funcionalizadas por meio da associação entre síntese verde, nanotecnologia e polímeros de interesse biomédico, contribuindo para a busca de alternativas destinadas ao controle da colonização microbiana em biomateriais.

Material e Métodos

As folhas de *Plinia cauliflora* foram coletadas, lavadas com água corrente e deionizada, secas em estufa a 35 °C por aproximadamente 30 h e trituradas. O extrato aquoso foi obtido utilizando-se 3 g do material vegetal em 100 mL de água, sob aquecimento a aproximadamente 80 °C por 20 min. Para a síntese verde das nanopartículas de prata (AgNPs), foram avaliadas 12 condições experimentais, variando-se a concentração de AgNO₃, a proporção entre o extrato vegetal e o precursor metálico e o pH do extrato. As reações foram conduzidas a aproximadamente 70 °C, sob agitação lenta, durante 40 min. A condição de síntese foi selecionada por espectrofotometria UV-Vis e reproduzida em maior escala. As AgNPs foram purificadas por centrifugação a 14.000 × g durante 15 min, com duas etapas de lavagem em água deionizada, posteriormente liofilizadas e ressuspensas em água deionizada. A caracterização físico-química incluiu a determinação do tamanho hidrodinâmico e do potencial zeta.

A atividade antimicrobiana das AgNPs foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) pelo método de microdiluição em caldo, utilizando placas estéreis de 96 poços. Foram avaliadas concentrações de 0,78125 a 200 µg·mL⁻¹ frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* (isolado clínico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre) e *Escherichia coli* ATCC 25922. Após incubação por 24 h, a viabilidade microbiana foi avaliada utilizando resazurina a 0,01% como indicador colorimétrico.

A biocompatibilidade das AgNPs foi avaliada *in vitro* utilizando fibroblastos MRC-5. O efeito das nanopartículas sobre a viabilidade celular foi quantificado pelo ensaio de MTT



após exposição a concentrações de 0,1 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ durante 48 h. A avaliação foi complementada pelos ensaios de DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) e ensaio vivo/morto com Fluoresceína Diacetato e Iodeto de Propídio.

Para a produção das matrizes poliméricas, pellets de PLA e PCL foram solubilizados em diclorometano e submetidos à evaporação do solvente, formando os filmes. Os filmes foram revestidos superficialmente com formulações contendo quitosana, água e AgNPs nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1%, aplicadas nas duas faces dos materiais. Foram utilizados filmes sem revestimento e filmes contendo apenas quitosana como controles.

A biocompatibilidade dos filmes foi avaliada *in vitro* utilizando fibroblastos MRC-5 pelo método indireto, conforme a norma ISO 10993-5. Os filmes foram incubados em meio de cultura por 72 h, e o meio condicionado foi posteriormente utilizado para o tratamento celular por 48 h. A viabilidade e a morfologia celular foram avaliadas pelos ensaios de MTT e ensaio morto/vivo.

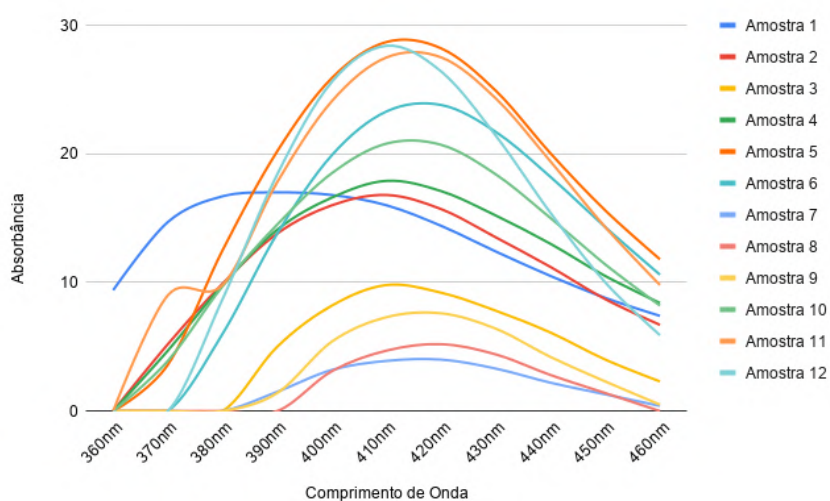
A atividade antibiofilme dos filmes revestidos encontra-se em andamento e será avaliada por ensaios microbiológicos específicos.

Resultados e Discussão

A análise das 12 condições experimentais demonstrou diferenças entre os sistemas avaliados (Figura 1). Os espectros apresentaram bandas de absorção entre 400–450 nm, associadas à ressonância plasmônica de superfície das AgNPs. A intensidade variou conforme as condições de síntese, sendo a amostra 5 (AgNO_3 1,0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, proporção extrato: AgNO_3 1:5 e pH 9) a de maior absorbância (28,7 após correção pelo fator de diluição), selecionada como condição otimizada.



Figura 1: Espectros de absorção UV-Vis das amostras obtidas nas diferentes condições de síntese de nanopartículas de prata.



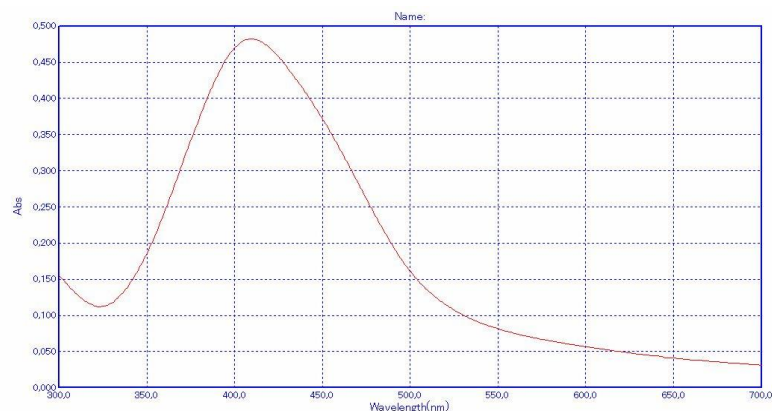
Amostras 1–3: AgNO_3 1,0 mM, pH 9 e proporções extrato: AgNO_3 de 1:2, 1:5 e 1:10, respectivamente; amostras 4–6: AgNO_3 1,0 mM, pH 10 e proporções de 1:2, 1:5 e 1:10, respectivamente; amostras 7–9: AgNO_3 2,5 mM, pH 9 e proporções de 1:2, 1:5 e 1:10, respectivamente; amostras 10–12: AgNO_3 2,5 mM, pH 10 e proporções de 1:2, 1:5 e 1:10, respectivamente.

Fonte: o autor (2026)

Após ampliação de escala, purificação e liofilização, a ressuspensão do material manteve a banda característica no UV-Vis, indicando preservação das propriedades ópticas das AgNPs (Figura 2).



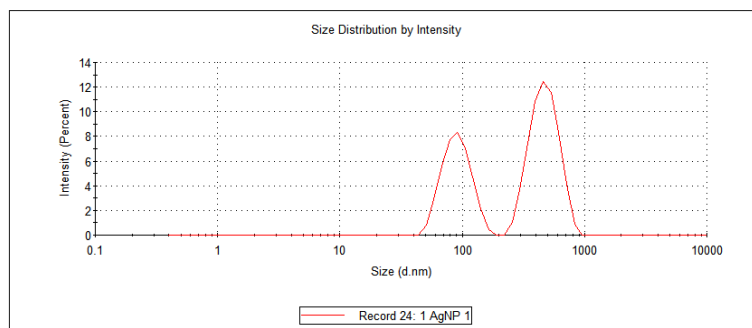
Figura 2: Espectro de absorção UV-Vis das AgNPs após liofilização e ressuspensão.



Fonte: o autor (2026)

O tamanho hidrodinâmico médio foi de 841 ± 143 nm (Figura 3), enquanto o potencial Zeta foi de -33 ± 3 mV (Figura 4). O tamanho elevado sugere a presença de agregados na suspensão, embora a carga superficial indique estabilidade eletrostática.

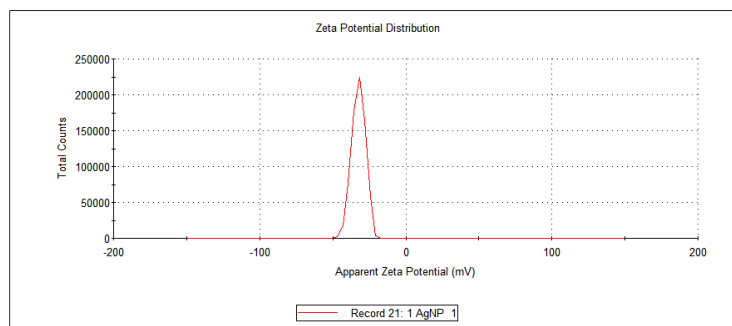
Figura 3: Tamanho hidrodinâmico das AgNPs.



Fonte: o autor (2026)



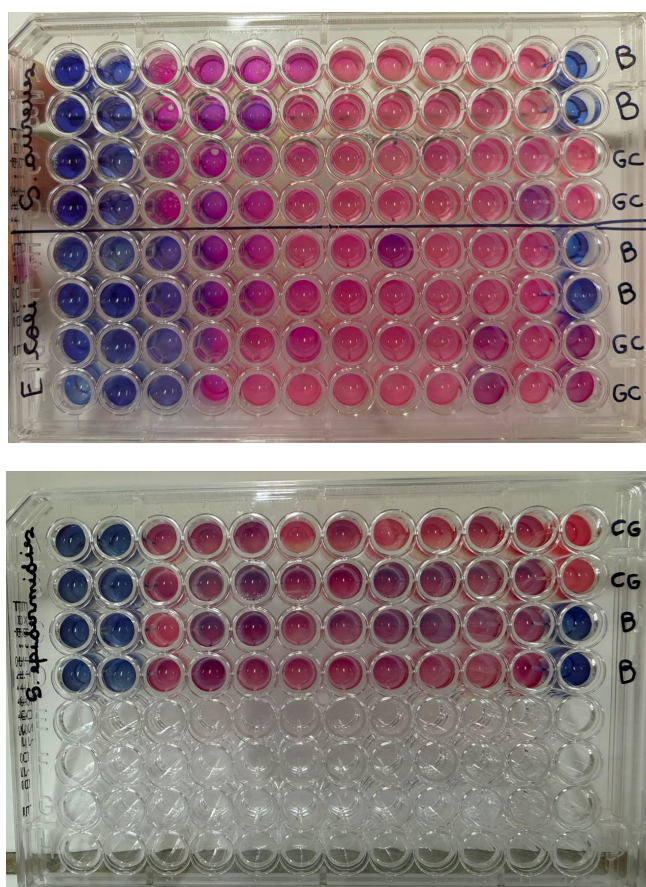
Figura 4: Potencial Zeta das AgNPs.



Fonte: o autor (2026)

A atividade antimicrobiana apresentou comportamento dependente do microrganismo. As AgNPs apresentaram Concentração Inibitória Mínima (CIM) de $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* (isolado clínico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre), enquanto *Escherichia coli* ATCC 25922 apresentou CIM de $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Figuras 5 e 6). Assim, a bactéria Gram-negativa avaliada apresentou maior sensibilidade ao nanomaterial nas condições testadas. A diferença observada pode estar relacionada às características estruturais distintas dos envelopes celulares bacterianos, que influenciam a interação com as nanopartículas e a disponibilidade de seus mecanismos de ação. A inibição observada nas três espécies demonstra que as AgNPs apresentaram atividade antimicrobiana frente aos diferentes microrganismos avaliados.

Figuras 5 e 6: Placas de microdiluição após a revelação com resazurina, evidenciando o crescimento bacteriano e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das nanopartículas de prata frente às cepas avaliadas.

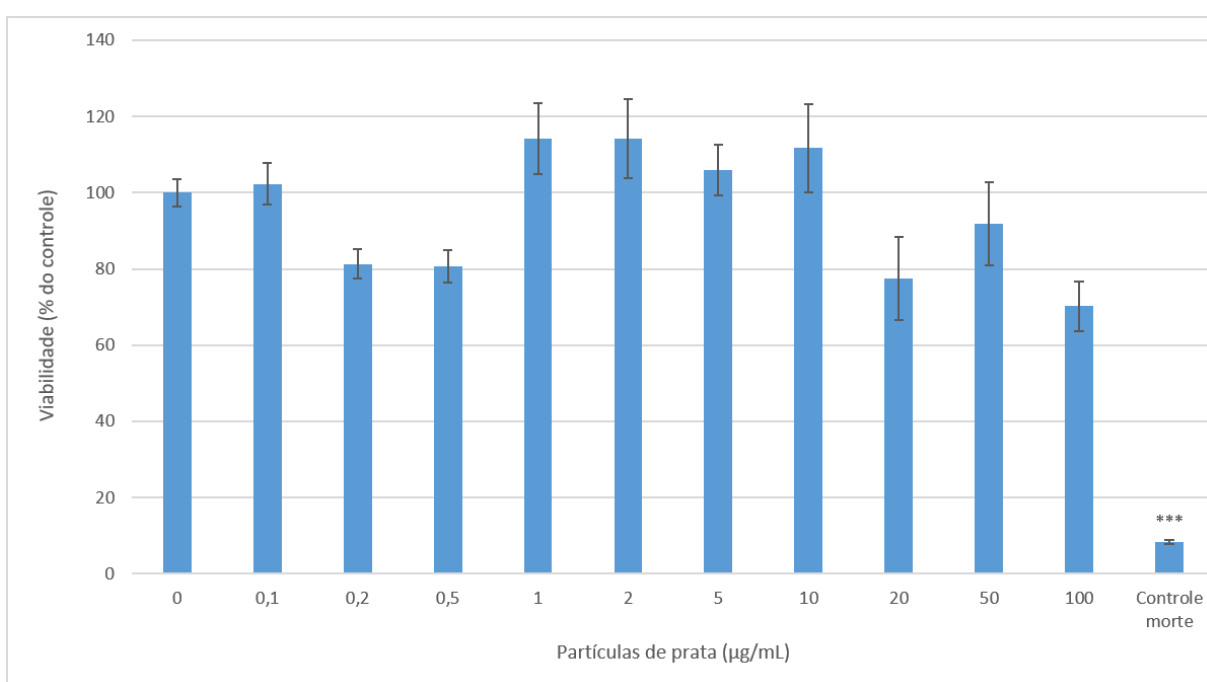


Fonte: o autor (2026)

No ensaio de viabilidade celular, as AgNPs foram avaliadas em fibroblastos MRC-5 por meio do ensaio MTT, nas concentrações de 0,1 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ após 48 h de exposição (Figura 7). A viabilidade celular permaneceu semelhante à do controle na maior parte das concentrações avaliadas ($p > 0,2$). Na concentração de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, observou-se viabilidade de $70 \pm 6\%$ em relação ao controle (100%), sem diferença estatisticamente significativa. Esse resultado indica uma tendência de redução da atividade metabólica na maior concentração avaliada, sem evidência de citotoxicidade nas condições experimentais.



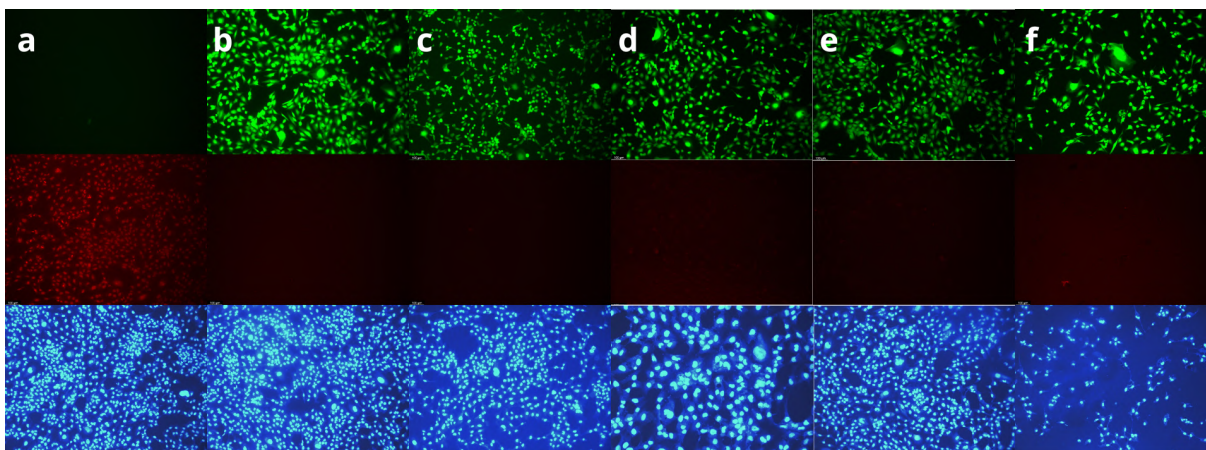
Figura 7: Resultados do ensaio MTT para avaliação da viabilidade, comparando o grupo controle (poços sem nanopartículas) e nanopartículas de prata em diferentes concentrações (0,1 a 100 $\mu\text{g/mL}$) após 48 horas de tratamento. Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão da porcentagem do controle.



Fonte: o autor (2026)

As análises por DAPI e ensaio morto/vivo foram empregadas como técnicas complementares ao ensaio de MTT para a avaliação da biocompatibilidade das AgNPs (Figura 8). A coloração por DAPI permitiu analisar a morfologia e a integridade nuclear dos fibroblastos MRC-5, enquanto o ensaio morto/vivo possibilitou a distinção entre células viáveis (verde) e não viáveis (vermelho). Em conjunto, os resultados confirmaram a manutenção da viabilidade celular após a exposição às AgNPs nas concentrações avaliadas.

Figura 8: Imagens representativas dos ensaios morto/vivo e DAPI das AgNPs



(a) controle positivo de morte celular; (b) controle negativo (células não tratadas); (c–f) fibroblastos MRC-5 expostos a nanopartículas de prata (AgNPs) nas concentrações de 0,1, 10, 20 e 100 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

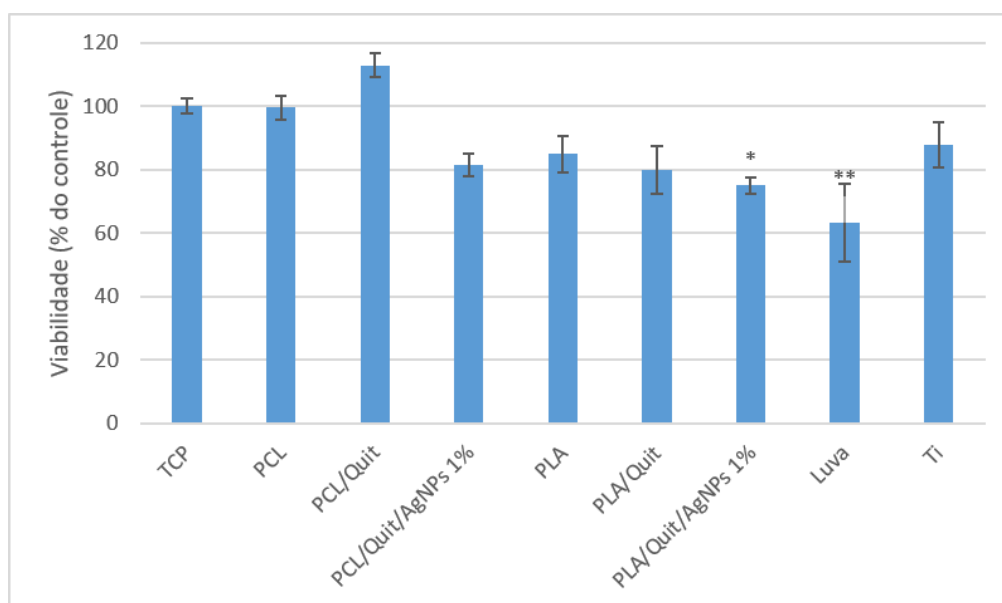
Fonte: o autor (2026)

Em conjunto, os resultados obtidos demonstram que as AgNPs apresentaram atividade antimicrobiana frente às três espécies avaliadas e não causaram redução estatisticamente significativa da viabilidade de fibroblastos MRC-5 nas condições testadas. Esses resultados sustentaram a continuidade do estudo com a aplicação das AgNPs em filmes de PLA e PCL. Os filmes foram produzidos e revestidos com quitosana e AgNPs nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1%, além dos controles sem revestimento e contendo apenas quitosana.

A biocompatibilidade dos filmes foi avaliada pelo ensaio de MTT utilizando fibroblastos MRC-5 (Figura 9). O TCP (poços contendo apenas células) foi considerado como 100% de viabilidade celular. Os filmes foram avaliados em diferentes concentrações de nanopartículas de prata; entretanto, apenas os resultados da maior concentração testada (1%) são apresentados, por representar a condição mais crítica para avaliação da citotoxicidade. Mesmo nessa condição, todos os filmes apresentaram viabilidade celular superior a 70%, em conformidade com a ISO 10993-5, indicando ausência de citotoxicidade. O controle positivo

(luva) apresentou a menor viabilidade celular ($63 \pm 12\%$), enquanto o controle negativo (Ti) apresentou comportamento semelhante ao dos filmes.

Figura 9: Viabilidade celular de fibroblastos MRC-5 determinada pelo ensaio de MTT após 48 h de exposição aos extratos dos filmes de PLA e PCL, revestidos ou não com quitosana e 1% de AgNPs. O TCP foi utilizado como controle de células (100%), a luva como controle positivo de citotoxicidade e o titânio (Ti) como controle negativo. Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão da porcentagem de viabilidade em relação ao controle (TCP).

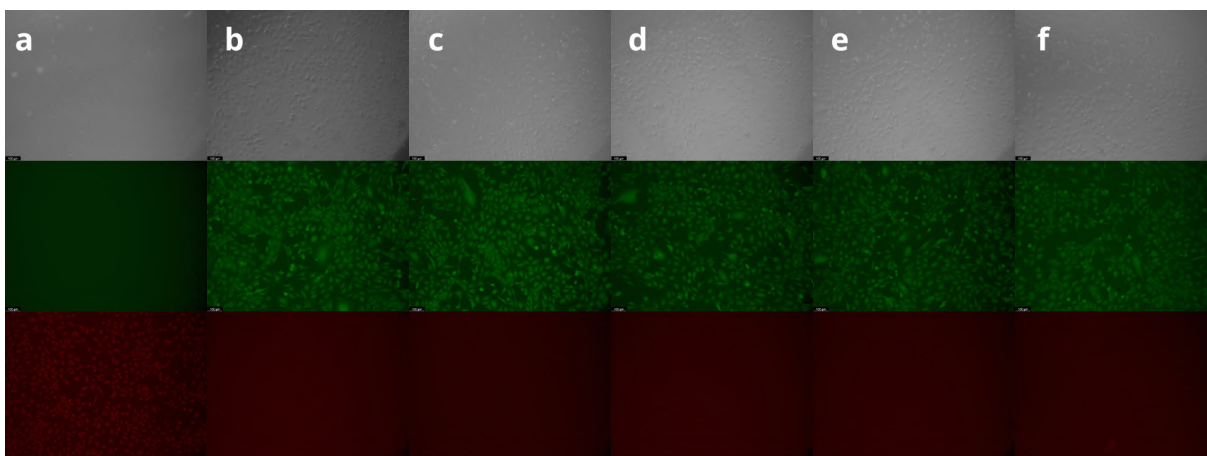


Fonte: o autor (2026)

Além do MTT, foi realizado o ensaio morto/vivo para uma avaliação qualitativa da viabilidade celular. As imagens mostram predominância de células vivas (verde) e baixa quantidade de células mortas (vermelho) em todos os filmes, inclusive aqueles revestidos com quitosana e 1% de AgNPs (Figuras 10 e 11). Esse resultado confirma o ensaio de MTT, demonstrando que os revestimentos não comprometeram a biocompatibilidade dos materiais.

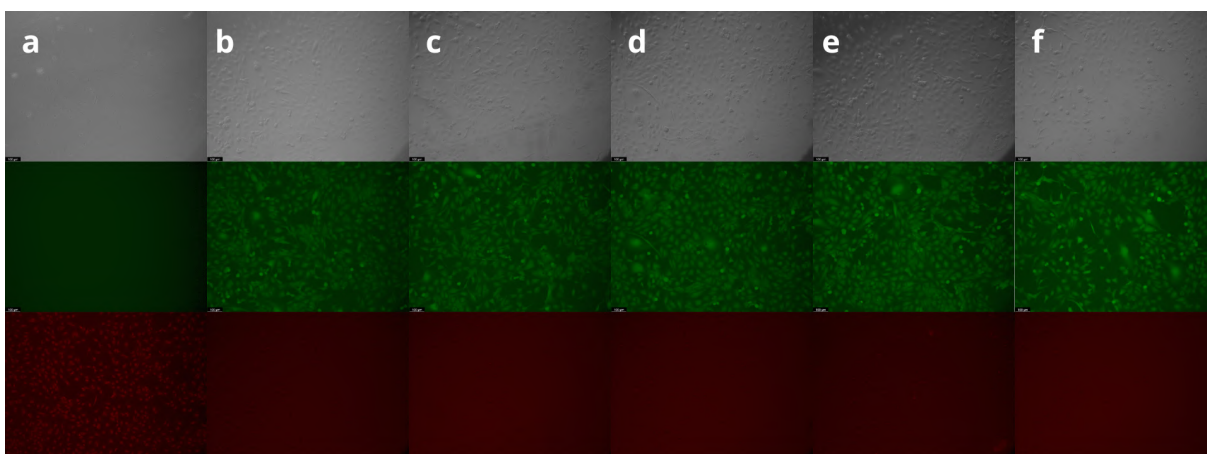


Figura 10: Imagens representativas do ensaio morto/vivo dos filmes de PCL



(a) controle positivo de morte celular; (b) filme de PCL sem revestimento (0%); (c) filme de PCL revestido com quitosana; (d) filme de PCL revestido com quitosana contendo 0,25% de AgNPs; (e) filme de PCL revestido com quitosana contendo 0,5% de AgNPs; (f) filme de PCL revestido com quitosana contendo 1% de AgNPs.

Figura 11: Imagens representativas do ensaio morto/vivo dos filmes de PLA



(a) controle positivo de morte celular; (b) filme de PLA sem revestimento (0%); (c) filme de PLA revestido com quitosana; (d) filme de PLA revestido com quitosana contendo 0,25% de



AgNPs; (e) filme de PLA revestido com quitosana contendo 0,5% de AgNPs; (f) filme de PLA revestido com quitosana contendo 1% de AgNPs.

Os ensaios de atividade antibiofilme encontram-se em andamento, de modo que os resultados dessas etapas serão adicionados posteriormente.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstram a viabilidade da síntese verde de nanopartículas de prata utilizando extrato aquoso de folhas de *Plinia cauliflora* e confirmam o potencial antimicrobiano do nanomaterial obtido. A atividade observada frente às bactérias avaliadas, associada à ausência de redução estatisticamente significativa da viabilidade de fibroblastos MRC-5 nas condições testadas, demonstra um perfil promissor para a aplicação das AgNPs em revestimentos poliméricos. Além disso, os filmes de PLA e PCL revestidos com quitosana e nanopartículas de prata apresentaram viabilidade celular superior a 70%, atendendo aos critérios estabelecidos pela ISO 10993-5 para materiais não citotóxicos, evidenciando que o revestimento desenvolvido não comprometeu a biocompatibilidade dos biomateriais. A associação das nanopartículas com quitosana e matrizes de PLA e PCL constitui, portanto, uma estratégia promissora para o desenvolvimento de superfícies capazes de controlar a colonização microbiana sem comprometer a compatibilidade celular. Considerando a atividade antimicrobiana observada para as AgNPs e sua aplicação superficial nos filmes, os resultados obtidos sustentam a hipótese de que os materiais desenvolvidos possam apresentar atividade antibiofilme. A confirmação dessa propriedade será realizada por meio dos ensaios microbiológicos em andamento. A análise conjunta da atividade antibiofilme e da biocompatibilidade dos filmes permitirá avaliar o desempenho biológico do material final e seu potencial de aplicação.



Agradecimentos

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de ICJ, às minhas orientadoras e ao Instituto de Pesquisa com Células-Tronco (IPCT/UFRGS) pelo apoio.

Referências

- FLEMMING, H.-C. et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, v. 14, p. 563–575, 2016.
- HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J. W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, v. 2, n. 2, p. 95–108, 2004.
- IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, v. 13, p. 2638–2650, 2011.
- MARTIN, O.; AVÉROUS, L. *Poly(lactic acid): Plasticization and properties of biodegradable multiphase systems*. *Polymer*, v. 42, n. 14, p. 6209–6219, 2001.
- MITTAL, A. K.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, v. 31, n. 2, p. 346–356, 2013.
- SILVA, M. C.; et al. *Chemical constituents of Plinia cauliflora (Mart.) Kausel leaves and their antioxidant activity*, 2014.
- SINHA, V. R.; BANSAL, K.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R.; TREHAN, A. *Poly-ε-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview*. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 278, p. 1–23, 2004.
- SLAVIN, Y. N. et al. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 15, 2017.