



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

Trabalho de Conclusão de Curso

**Síntese e Caracterização de um hidrogel à base de alginato/ZnO-GO e
avaliação da atividade antimicrobiana para aplicação em curativos**

Luiza Ribeiro Santana

Pelotas, 2018

Luiza Ribeiro Santana

**Síntese e Caracterização de um hidrogel á base de alginato/ZnO-GO e
avaliação da atividade antimicrobiana para aplicação em curativos**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado a Universidade Federal
de Pelotas, como requisito parcial à
obtenção do título de bacharel em
Engenharia de Materiais.

Orientador: Neftali Lenin Villarreal Carreño

Coorientadores: Guilherme K. Maron

Oscar G. Paniz

Pelotas, 2018

Luiza Ribeiro Santana

Síntese e Caracterização de um hidrogel à base de alginato/ZnO-GO e
avaliação da atividade antimicrobiana para aplicação em curativos

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para
obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Materiais, Universidade
Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 1º de março de 2018

Banca examinadora:

Prof. Dr. Neftali Lenin Villarreal Carreño (Orientador)

Doutor em Química pela Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dra. Margarete Regina Freitas Gonçalves

Doutora em Engenharia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Ananda Moraes Barbosa

Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de
Pelotas

Agradecimentos

À todos que me apoiaram ao longo desses anos, meus pais e em especial à minha tia Nanci Ribeiro, pelo grande incentivo durante toda a minha vida acadêmica. Ao meu orientador e colegas de laboratório, em especial Guilherme e Oscar, pela paciência e ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Muito obrigada.

Resumo

SANTANA, Luiza Ribeiro. **Synthesis and characterization of an alginate / ZnO-GO based hydrogel and evaluation of antimicrobial activity for dressing application.** 2018. 53f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Materiais) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

A cicatrização de feridas é um problema que demanda estudo em diversas áreas de pesquisa, como na medicina, engenharia de tecidos e engenharia de materiais. A busca por materiais biocompatíveis ou biodegradáveis torna-se necessária, sejam eles naturais ou sintéticos, para que a recuperação do tecido torne-se menos dolorosa e cicatrize mais rapidamente. Materiais naturais, como o alginato, colágeno e quitosana, tem apresentado resultados positivos quando aplicados a feridas agudas ou crônicas. A busca por materiais que combatam ou inibam agentes bacterianos em ferimentos é constante, sendo eles desenvolvidos nos próprios curativos, como por exemplo, o óxido de zinco que é amplamente utilizado para a função antimicrobiana. Ao mesmo tempo, outros materiais estão sendo pesquisados para desempenhar com excelência a atividade antimicrobiana, dentre eles, o óxido de grafeno. Neste estudo, foi desenvolvido um material biocompatível, á base de alginato de sódio modificado com uma concentração mínima de óxido de zinco e óxido de grafeno, a fim de avaliar o seu desempenho, frente as bactérias *Staphylococcus Aureus* e *Eschericia Coli* e a possível aplicação deste material em curativos.

Palavras chave: alginato, óxido de zinco, óxido de grafeno, hidrogel, atividade antimicrobiana

Abstract

SANTANA, Luiza Ribeiro. **Synthesis and Characterization of an alginate / ZnO-GO based hydrogel for dressing application**. 2018. 53f. Course Completion Work (Bachelor of Materials Engineering) - Center for Technological Development, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.

Wound healing is a problem that requires study in several areas of research, such as medicine, tissue engineering and materials engineering. The research for biocompatible or biodegradable materials becomes necessary, whether natural or synthetic, so that the recovery of the tissue becomes less painful and heals faster. Natural materials, such as alginate, collagen and chitosan, have shown positive results when applied to acute or chronic wounds. The search for materials that fight or inhibit bacterial agents in wounds is constant, and they are developed in the dressings themselves, for example, zinc oxide is widely used for antimicrobial function. At the same time, other materials are being researched to perform with excellence the antimicrobial activity, among them, graphene oxide. In this study, a biocompatible material was developed based on sodium alginate modified with a minimum concentration of zinc oxide and graphene oxide, in order to evaluate its performance against the bacteria *Staphylococcus Aureus* and *Eschericia Coli* and the possible application of this material in dressings.

Keywords: alginate, zinc oxide, graphene oxide, hydrogel, antimicrobial activity

Lista de figuras

Figura 1 - Ilustração de um curativo inerte.	21
Figura 2 - Ilustração de um curativo semi permeável.	22
Figura 3 - Ilustração de um curativo de espuma.	23
Figura 4 - Ilustração de um curativo de hidrogel.	24
Figura 5 - Ilustração de um curativo de hidrocolóides	26
Figura 6 - Ilustração da estrutura química do alginato de sódio.	27
Figura 7 - Ilustração da estrutura do grafeno e do óxido de grafeno.....	30
Figura 8 - Ilustração da estrutura cristalina do ZnO.	31
Figura 9 - Ilustração esquemática da síntese do ZnO.....	33
Figura 10 - Ilustração esquemática da metodologia de síntese do GO.....	34
Figura 11 - Ilustração da estrutura a) de uma única folha de grafeno, b) do óxido de grafeno.....	34
Figura 12 - Esquema da síntese do ZnO-GO.....	35
Figura 13 - Ilustração da síntese do hidrogel.	36
Figura 14 - Difrátograma dos pós sintetizados.	40
Figura 15 - Imagem de MEV dos tubos de ZnO.	41
Figura 16 - Imagens de MEV para representar a morfologia dos hidrogéis. a) e b) HP c) e d)HZnO; e) e f) HZnO-GO e g) e h) HGO.	42
Figura 17 - Espectros de FTIR dos pós sintetizados.....	43
Figura 18 - Espectros de FTIR dos hidrogéis HP e HZnO.	44
Figura 19 - Espectros de FTIR dos hidrogéis HP, HGO e HZnO-GO.....	45

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Resultados para S. aureus nos tempos de 1 e 24 horas.....	46
Tabela 2 - Resultados para E. Coli nos tempos de 1 e 24 horas.....	46

Lista de Abreviaturas e Siglas

ZnO - Óxido de zinco

GO - Óxido de grafeno

DRX - Difração de raios-x

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

SHM - Síntese hidrotérmica assistida por micro-ondas

FTIR - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

TCDm - Teste de contato direto modificado

Sumário

1. Introdução.....	12
2. Objetivos.....	14
2.1. Objetivo geral	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. Revisão Bibliográfica	15
3.1. Biomateriais	15
3.2. Polímeros sintéticos	16
3.3. Polímeros Naturais	17
3.4. Cicatrização de Feridas	18
3.5. Tipos de ferimentos	19
3.5.1 Feridas agudas	19
3.5.2 Feridas crônicas.....	19
3.6. Curativos	20
3.7. Tipos de Curativos.....	21
3.7.1. Curativos inertes ou passivos.....	21
3.7.2. Curativos interativos.....	21
3.7.2.1. Curativos para filmes semi permeáveis.....	21
3.7.2.2. Curativos salinos hipertônicos	22
3.7.2.3. Curativos de espuma.....	22
3.7.3. Curativos bioativos	23
3.7.3.1. Curativos antimicrobianos.....	23
3.7.3.2. Curativos de Hidrogel.....	24
3.7.3.3 Curativos de Quitosana.....	25
3.7.3.4 Curativos de Colágeno	25
3.7.3.5 Curativos de hidrocolóide	25
3.8. Matriz de Alginato	26
3.9. Nanopartículas	27
3.9.1 Aplicação de nanopartículas antibacterianas	28
3.10. Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas	28
3.11. Óxido de Grafeno.....	29
3.12. Óxido de Zinco.....	30

3.13. Síntese Hidrotérmica Assistida por Microondas	31
4. Materiais e Métodos.....	32
4.1. Materiais.....	32
4.2 Síntese do ZnO	32
4.3 Obtenção do GO.....	33
4.4. Síntese do ZnO/GO.....	35
4.5 Síntese do hidrogel de Alginato de sódio	36
4.6. Análises e caracterizações dos materiais.....	36
4.6.1. Difração de Raios-x.....	36
4.6.2. Microscopia eletrônica de varredura	37
4.6.3. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	37
4.6.4. Ensaio microbiológico pelo teste de contato direto modificado (TCDm)	38
4.6.5. Estirpes bacterianas e condições de cultura.....	39
5. Resultados e discussões	40
5.1 Análise de difração de raios-x.....	40
5.2 Análise morfológica através do Microscópio eletrônico de varredura (MEV):.....	41
5.3. Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	43
5.4. Ensaio Microbiológico – TCDm	46
6. Conclusão.....	48
7. Atividades futuras	49
8. Referências bibliográficas	50

1. Introdução

O estudo da nanotecnologia vem desempenhando um papel fundamental ao longo das últimas décadas, devido à miniaturização das partículas, e as propriedades físico-químicas específicas consequentes deste tamanho. Diversas áreas do conhecimento, dentre elas, a área da saúde, é beneficiada com estes estudos e criação de novos materiais (ARUNACHALAM DINESH KARTHIK, 2016). São exemplos destes desenvolvimentos, os polímeros biocompatíveis, biodegradáveis e funcionalizados para aplicações biomédicas (YIN ZHANG, 2013).

Exibindo uma ampla variedade de nanoestruturas, o óxido de zinco possui propriedades semicondutoras, ópticas e piezoelétricas (YIN ZHANG, 2013). Além de propriedades de absorção de ultravioleta (UV) e transparência para a luz visível, transformando-as em ótimos filtros solares. (SEKAR VIJAYAKUMAR, 2016; PAWAN K. MISHRA, 2017). Paralelamente, o óxido de grafeno, com suas excelentes propriedades e alta área superficial, vem ganhando destaque em pesquisas na área de biomateriais, podendo interagir com biomoléculas, na entrega de fármacos, terapia de doenças, *scaffolds* e também como agente antimicrobiano (BHAISARE, WU et al. 2016). (MOHAMMADREZA YOUSEFI, 2017) e colaboradores, avaliaram a atividade antibacteriana do óxido de grafeno como um nanomaterial capaz de combater bactérias multirresistentes.

A cicatrização de ferimentos é um processo complexo, lento e que necessita de um meio para ocorrer de forma adequada e saudável. Curativos de hidrogel mostram-se promissores para a cicatrização de feridas agudas ou crônicas, pois absorvem o exsudado proporcionando um ambiente favorável para a cicatrização. Um ferimento é um local altamente susceptível ao ataque de microorganismos se não tratado de maneira correta, sendo assim, a utilização de partículas, como o óxido de zinco e o óxido de grafeno para auxiliar no combate microbiano, torna-se importante. Neste contexto, (MOHANDAS, PT et al. 2015) fez uma relação entre alginato e óxido de zinco a fim de obter uma bandagem porosa e fazer uma comparação com produtos já

existem no mercado. O produto obtido mostrou-se excelente contra as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, o fungo *Candida albicans* e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA).

Neste trabalho, desenvolveu-se as partículas de óxido de zinco, óxido de grafeno e também óxido de zinco sobre o grafeno. Foram empregados no alginato de sódio, afim de obter um hidrogel com propriedades antimicrobianas e avaliar a possibilidade de aplicação em curativos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Desenvolver um material à base de GO, ZnO e alginato com propriedades antimicrobianas para futura aplicação em curativos.

2.2. Objetivos específicos

- i. Obter as partículas de ZnO via síntese hidrotérmica assistida por microondas;
- ii. Efetuar a síntese do óxido de grafeno pelo método de Hummers;
- iii. Obter o óxido de grafeno modificado com o ZnO;
- iv. Obter hidrogéis modificados com as partículas;
- v. Avaliar o material obtido quanto a sua estrutura química e morfológica;
- vi. Avaliar a atividade antimicrobiana dos hidrogéis obtidos.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Biomateriais

Com uma demanda crescente, os biomateriais proporcionam melhor qualidade de vida para as pessoas a cada ano. Como consequência do envelhecimento da população, os biomateriais são utilizados para substituir e reparar tecidos macios e duros, como ossos, cartilagens, vasos sanguíneos e até mesmo órgãos inteiros (SUKHWINDER K. BHULLAR, 2015). Além disso, podemos citar dispositivos biomédicos, dispositivos para a liberação de medicamentos e curativos. Essa aplicação de materiais para a correção de problemas relacionados à saúde não é um assunto atual, tendo sido observados, por exemplo, o uso de suturas e substitutos ósseos no Antigo Egito (ANA LUIZA R. PIRES, 2015).

A pesquisa em biomateriais, é realizada combinando propriedades físicas e químicas compatíveis com os tecidos substituídos, por uma resposta mínima do corpo estranho no paciente. Os biomateriais inertes provocam nenhuma ou uma resposta mínima ao tecido, materiais biodegradáveis ou bioabsorvíveis integrados ao tecido dissolvem-se completamente com o tempo. A vasta aplicação varia desde articulações, substituições de membros, pele, lentes de contato, próteses dentárias, até implantes mamários, sejam por razões médicas ou motivadas por razões estéticas (SUKHWINDER K. BHULLAR, 2015).

Na área médica, os biomateriais poliméricos estão entre os mais utilizados, por possuírem vantagens em relação aos materiais cerâmicos ou metálicos, como facilidade de fabricação com formas mais complexas, custo razoável e propriedades mecânicas desejáveis para determinadas aplicações. As formas que as cadeias poliméricas podem assumir, a disposição dos monômeros, a presença ou a ausência de átomos e de grupos funcionais, a rigidez estrutural, a polaridade da cadeia e a massa molar do polímero resultam em compostos que apresentam comportamentos distintos e com potencial aplicação visando diferentes finalidades (ANA LUIZA R. PIRES, 2015).

Os polímeros podem ser obtidos a partir de reações de polimerização ou por meio de organismos vivos, classificando-se, assim, respectivamente,

como sintéticos e naturais, os quais podem ser também quimicamente modificados. Tanto os polímeros naturais, quanto os sintéticos, podem ser biodegradáveis ou bioabsorvíveis, porém degradam-se de maneiras diferentes, sendo os primeiros por meio da clivagem hidrolítica e os naturais por meio de clivagem enzimática de suas ligações (ANA LUIZA R. PIRES, 2015; FERDOUS KHAN, 2015). A degradação dos polímeros em sua aplicação é de grande importância, pois deve-se considerar além da cinética do processo, a alteração da sua funcionalidade, já que modificações ocorrem progressiva e irreversivelmente na estrutura e composição do biomaterial, além das propriedades dos produtos gerados ao longo de sua decomposição que podem, eventualmente, ser citotóxicos (ANA LUIZA R. PIRES, 2015).

Neste contexto, a degradação de um biomaterial polimérico deve ser estudada para que haja segurança na aplicação, quando em contato com os fluidos fisiológicos do paciente.

3.2. Polímeros sintéticos

Os polímeros sintéticos incluem uniformidade, menor imunogenicidade, estruturas e propriedades conhecidas e a confiabilidade dos materiais de origem. A sua estrutura molecular pode ser ajustada com a sua capacidade de ser modificada para as propriedades desejadas. Eles são geralmente mais simples, com processamento mais acessível e são considerados fortes candidatos para o desenvolvimento de nanotecnologias para indústrias biomédicas e de engenharia (SUKHWINDER K. BHULLAR, 2015).

Estes materiais não são muito adequados para a reconstituição do ambiente da matriz extracelular, embora sejam altamente biocompatíveis, eles são limitados por suas fracas propriedades mecânicas e degradação descontrolada, além da variação de lote para lote de produção. Esses polímeros sintéticos, são normalmente classificados de acordo com suas estruturas químicas. Dentre eles temos, polietilenoglicol, poli (álcool vinílico), poliamida, poliacrilato, poliuretano, entre outros. Alguns estudos também empregaram hidrogéis baseados em copolímeros naturais / sintéticos para

alcançar alta biocompatibilidade, estabilidade mecânica e maior interação celular (YON JIN CHUAH, 2017).

3.3. Polímeros Naturais

Estes biomateriais, são amplamente investigados devido à perfeita biocompatibilidade, biodegradabilidade e similaridade com a matriz extracelular (MEI LIU, 2017). Sua degradação, não é tóxica para o organismo humano, o que os torna plenamente seguros para sua utilização. Também apresentam um custo acessível e são facilmente obtidos de fontes renováveis. Alguns destaques dos polímeros naturais são as proteínas (como o colágeno) e os polissacarídeos (como a quitosana e o alginato) (ANA LUIZA R. PIRES, 2015).

O colágeno é o candidato ideal para o desenvolvimento de hidrogéis, pois é um dos constituintes dos tecidos cartilaginosos. A proteína de colágeno se assemelha a ambientes de matriz nativa e fornece pistas biológicas críticas para adesão celular, proliferação e desenvolvimento (YON JIN CHUAH, 2017).

O ácido hialurônico é um tipo de glicosaminoglicano, com cadeia linear longa, material natural biodegradável encontrado em cartilagens, ossos e principalmente na pele. Um uso frequente de ácido hialurônico para aplicações de engenharia de tecidos, no entanto, é na forma de hidrogel, devido às suas capacidades de inchaço e capacidade de encapsular células e outros materiais para aplicações de entrega no organismo (SCOTT STRATTON, 2016).

A quitosana é um polissacarídeo linear que é derivado da quitina natural, que é composto de glucosamina e N-acetilglucosamina. Este material está cada vez mais atraente para aplicação como hidrogel injetável para o reparo de cartilagem devido à sua semelhança estrutural ao glicosaminoglicano da cartilagem. Por fim, o alginato consiste em monômeros de ácidos gulurônicos e manurônicos, é um polissacarídeo extraído de algas marrons (Phaeophyceae) está entre os primeiros hidrogéis utilizados na engenharia de tecidos devido à sua facilidade de gelificação e encapsulação de células (MEI LIU, 2017). A seção 3.8, fala mais detalhadamente sobre ele e suas características.

3.4. Cicatrização de Ferimentos

A definição de uma ferida dá-se pela interrupção do revestimento epitelial ou mucosa, resultante de danos físicos ou térmicos. De acordo com a duração e a natureza do processo de cicatrização, a ferida é categorizada como aguda e crônica. A ferida aguda é caracterizada por uma lesão na pele devido a acidentes ou lesões cirúrgicas, tendo um tempo de cura entre oito e doze semanas, dependendo do seu tamanho, profundidade e do dano na epiderme. Já as feridas crônicas, não apresentam os estágios normais de cura. Geralmente, são consequência de úlceras e queimaduras (SELVARAJ DHIVYA, 2015).

Durante a cicatrização de feridas, processos celulares, bioquímicos e enzimáticos são envolvidos em quatro estágios, desde o momento do dano, até a completa cura (CLAIRE MARTIN, 2013).

A cicatrização de feridas é um processo dinâmico e complexo de regeneração tecidual. Os estágios de cicatrização serão relatados abaixo:

- I. Fase de coagulação e hemostasia, também chamado de estágio exsudativo (logo após o ferimento). O organismo contém o sangramento, tende a expelir a invasão microbiana e reduzir a exposição dos tecidos;
- II. Fase inflamatória, também chamada de reabsorção. Fase em que ocorre inchaço e o local do ferimento torna-se mais quente. Nesta fase também há aumento de permeabilidade vascular e liberação de radicais livres de oxigênio, que é benéfico, pois auxilia na eliminação de células bacterianas, na remoção da matriz extracelular danificada, bem como detritos inflamatórios para facilitar a migração de moléculas de reparo de tecidos;
- III. Fase de proliferação ou granulação, onde há a liberação de fatores de crescimento e induzem a limpeza de células inflamatórias do local da ferida. São formados novos tecidos e vasos sanguíneos;
- IV. Fase de maturação ou regenerativa. É fase final da cicatrização onde ocorre a remodelação dos novos tecidos, o fechamento completo da ferida e uma cicatriz. A remodelação dos tecidos ocorre para organizar o colágeno em uma matriz mais espessa, mais forte e bem organizada, para restaurar a arquitetura normal da derme e aumentar a resistência à tração.

A cicatrização e a ocorrência dessas fases depende, em grande parte, do tipo de ferida, das condições patológicas associadas e do tipo de material do curativo. Essas fases altamente integradas precisam ocorrer de forma ordenada, para promover a cura, minimizar as cicatrizes e reduzir o risco de desenvolvimento de uma ferida crônica não cicatrizante. Com o avanço da tecnologia, atualmente, diferentes tipos de materiais de cura para feridas estão disponíveis para todos os tipos de ferimentos. Mas a seleção de um material para uma ferida particular é importante para conseguir uma cura mais rápida. (CLAIRE MARTIN, 2013; SELVARAJ DHIVYA, 2015).

3.5. Tipos de ferimentos

3.5.1 Feridas agudas

São curadas dentro de um período limitado de tempo, como já citado anteriormente, geralmente não apresentam complicações e são caracterizadas pela perda de integridade da pele (lesão) que ocorre de repente. O tecido danificado cura de forma previsível onde plaquetas, queratinócitos, células de vigilância imunológica, células microvasculares e fibroblastos desempenham papéis importantes na restauração da integridade tecidual (OMAR SARHEED, 2016).

3.5.2 Feridas crônicas

As feridas crônicas não curam dentro do período normal e estão associadas a fatores que enfraquecem a integridade dos tecidos dérmicos e epidérmicos. Esses fatores podem interromper o equilíbrio entre o campo biológico da ferida e o sistema imunológico do paciente ou prejudicar o ciclo de cicatrização de feridas. Em termos de duração, caso não haja nenhum sinal de recuperação dentro de doze semanas, é considerada uma ferida crônica. Elas podem ser identificadas por critérios como cura retardada, fase inflamatória prolongada, infecção persistente e presença de microorganismos resistentes (WOLCOTT RD, 2008; OMAR SARHEED, 2016).

3.6. Curativos

Os curativos modernos para feridas úmidas podem ser classificados de acordo com os seus materiais (polímeros sintéticos e naturais) e formas físicas (hidrogéis, hidrocolóides e filmes) (OMAR SARHEED, 2016). A cicatrização de feridas é algo complexo que ainda não é totalmente compreendido. No entanto, alguns curativos possuem todas as características necessárias para esta cicatrização. Para selecionar um curativo adequado, é necessário identificar o objetivo principal do tratamento proposto, avaliar o paciente, diagnosticar a patologia da doença subjacente, as preocupações do paciente antes de avaliar a ferida e escolher o curativo. Isso requer uma compreensão do processo de reparo tecidual e do conhecimento das propriedades dos curativos disponíveis (ILENGHOVEN, 2017).

A cicatrização de feridas úmidas está associada a taxas mais rápidas de cura, redução da dor e melhor controle de infecção, conseqüentemente, uma melhor cicatrização quando comparadas às feridas secas, pois aumentam o fator de crescimento e também a reepitelização (CLAIRE MARTIN, 2013).

Comumente, os curativos são classificados em três grupos, baseados em sua função, podem absorver o exsudado, manter a umidade ou doar a umidade. Para escolher o curativo adequado, deve-se avaliar as condições (em que fase está a cicatrização) e a localização da ferida. Feridas como úlceras venosas, produzem grande quantidade de exsudado e precisam ser manipuladas corretamente, para não haver saturação no curativo.

Curativos que absorvem o exsudado, precisam ser altamente absorventes. Estes curativos, incluem os preparados a partir de alginato e espumas. Aqueles que mantêm a hidratação no local da ferida, são de particular importância durante a fase de proliferação e geração do tecido. Porém, curativos altamente absorventes, não são recomendados durante estas etapas, visto que podem desidratar o local, restringindo assim, a fase de proliferação e outros processos regenerativos do tecido. Para manter a umidade em torno do ferimento, os curativos hidrocolóides são a melhor opção. Por fim, curativos que doam umidade ao ferimento são importantes para limpar a área de tecidos secos e remover as células mortas (CLAIRE MARTIN, 2013).

3.7. Tipos de Curativos

3.7.1. Curativos inertes ou passivos

Incluem gazes, materiais antiaderentes e talas. Não cumprem as propriedades de um curativo ideal e tem seu uso limitado como curativo primário, podendo ser úteis como curativos secundários. Além dos curativos de gaze e algodão, alguns são modificados, cobertos com uma película polimérica perfurada para evitar a aderência à ferida. Estes são usados em feridas mínimas e de baixa exsudação. O curativo secundário pode ser usado em feridas moderadas a altamente exsudativas e sobre hidrocolóides, iodo, alginato e outros curativos primários (ILENGHOVEN, 2017). Na figura 1 abaixo, é possível visualizar um material inerte para curativos.



Figura 1: Ilustração de um curativo inerte.

Fonte: <https://www.drluvas.com.br/compressa-de-gaze-11-fios-esteril-america>

3.7.2. Curativos interativos

3.7.2.1. Curativos para filmes semi permeáveis

Estes curativos são de poliuretano transparente, permeáveis ao gás, mas impermeáveis aos líquidos e às bactérias. São filmes elásticos, conformáveis, que permitem a inspeção da ferida e são menos dolorosos (PERSSON K, 2000; ILENGHOVEN, 2017). Estes filmes, não são absorventes, logo, não são adequados para exsudações de feridas. É possível observar a transparência do curativo logo abaixo, na figura 2.



Figura 2: Ilustração de um curativo semi permeável.

Fonte: <https://www.bbraun.com/en/products/b/askina-derm.html>

3.7.2.2. Curativos salinos hipertônicos

Consistem em algodão ou gaze saturado com cloreto de sódio hipertônico (3-20%). A solução salina hipertônica gera uma ação osmótica para limpar a ferida e remover os detritos necróticos ou infectados. O crescimento bacteriano é inibido por propriedades hipertônicas. Não são indicados para drenar minimamente a ferida, nem para escaras (ILENGHOVEN, 2017).

3.7.2.3. Curativos de espuma

Os curativos de espuma são revestimentos de poliuretano altamente absorventes, disponíveis como almofadas, como ilustrado na figura 3. Eles criam um ambiente úmido e fornecem isolamento térmico à ferida. Não são aderentes, fáceis de aplicar e remover e são destinados à feridas altamente exsudativas. Dependendo do nível de exsudado, eles se adequam a forma da ferida absorvendo todo o líquido, podendo ser deixadas no lugar por até sete dias. São também disponíveis curativos de espuma que liberam agentes antimicrobianos, hidratantes ou analgésicos anti-inflamatórios na ferida.



Figura 3: Ilustração de um curativo de espuma.

Fonte: <https://www.vitaesaude.com.br/curativo-de-espuma-molnlycke-mepilex-lite-extra-fino>

3.7.3. Curativos bioativos

3.7.3.1. Curativos antimicrobianos

Estes curativos contêm uma baixa concentração e liberação de agentes antimicrobianos, visando proporcionar condições ideais para suportar a cicatrização da ferida. Dividem-se em dois grupos, como curativos anti-sépticos ou antibióticos. O primeiro, atua em amplo espectro, que pode matar ou inibir bactérias, fungos, protozoários, vírus etc. Os antibióticos, podem funcionar efetivamente nos locais alvo, sem prejudicar os tecidos. A liberação lenta, reduz o risco de toxicidade. Curativos antimicrobianos são benéficos para feridas com alto risco de infecções, como feridas que se comunicam com órgãos internos, cavidades ou profundidades envolvendo derme. Também quando o paciente tem resistência à drogas e são portadores de feridas crônicas, como pacientes idosos ou diabéticos, que sofrem de complicações de má circulação nas extremidades inferiores. A atividade antimicrobiana é fornecida por materiais como iodo ou incorporação de prata. A composição diferente dos produtos manipula o exsudado de forma distinta (ILENGHOVEN, 2017).

Paralelamente, curativos tópicos são capazes de evitar efeitos de altas doses de antibióticos, incluindo náuseas, vômitos, reações alérgicas, dor de cabeça, entre outros sintomas. O curativo antimicrobiano ideal deve ter ampla atividade do espectro contra todos os principais microorganismos, não ser alérgico e tóxico para as células hospedeiras, ter a capacidade de drenar o

exsudado e manter um ambiente úmido, deve liberar os medicamentos de forma sustentada, deve reduzir o mal-estar e ter custo efetivo (OMAR SARHEED, 2016).

3.7.3.2. Curativos de Hidrogel

São produtos a base de água ou glicerina, usados para manter um ambiente úmido na ferida, uma proliferação limpa e saudável, dado o seu alto teor de água (SELVARAJ DHIVYA, 2015).

Estes curativos podem ser usados em úlceras, feridas cirúrgicas, queimaduras, incluindo queimaduras por radiação oncológica. São adequados para feridas secas ou com pouco exsudado, dada à água que já existe no curativo. Eles reidratam o ferimento, reduzem a dor devido ao seu efeito de resfriamento, proporcionando efeito calmante e refrescante. Não são curativos adesivos, logo, são de fácil remoção. Porém, exigem um curativo secundário, podendo permanecer in situ por até três dias (ILENGHOVEN, 2017).

Os curativos de hidrogel são comumente disponíveis em três formas: gel amorfo, gaze impregnada e em folha (SELVARAJ DHIVYA, 2015). Na figura abaixo, é ilustrado uma película hidrogel.



Figura 4: Ilustração de um curativo de hidrogel.

Fonte: <http://www.healioswoundsolutions.com/store/product/hydrogel-dressing/>

3.7.3.3 Curativos de Quitosana

A quitosana é um biopolímero natural, derivado da quitina. É conhecido no gerenciamento de feridas por suas propriedades hemostáticas, além de auxiliar na proliferação celular e na cicatrização mais rápida de feridas. Possui propriedades antibacterianas e antifúngicas, são flexíveis e transparentes. Tratamentos com quitina e quitosana, tem demonstrado diminuição no tempo de tratamento e mínima formação de cicatrizes.

3.7.3.4 Curativos de Colágeno

O colágeno é a proteína que dá resistência à tração a pele, desempenhando um papel fundamental em cada fase de cicatrização. Ele fornece o substrato para o crescimento de novos tecidos e incentivam a deposição e organização de fibras de colágeno recém formadas e tecido de proliferação no local da ferida. Existem vários curativos de colágeno diferentes disponíveis, que empregam uma variedade de agentes de combinação, tais como géis, pastas, polímeros, alginato e celulose, que podem aumentar a absorção, a flexibilidade e o conforto e ajudar a manter um ambiente de ferida úmida. Os curativos de colágeno também possuem uma variedade de tamanhos de poros e áreas de superfície. Todos esses atributos são destinados a melhorar os aspectos de gerenciamento de feridas dos curativos. Muitos curativos de colágeno contêm um agente antimicrobiano para controlar patógenos dentro da ferida. Os curativos de colágeno geralmente requerem um curativo secundário. Eles mostraram excelentes resultados para ajudar a curar feridas de espessura parcial, feridas necróticas, enxertos de pele e queimaduras de segundo grau. Dependendo do tipo de ferida em que estão sendo usados, os curativos de colágeno devem ser alterados a cada sete dias para permanecerem efetivos (ILENGHOVEN, 2017).

3.7.3.5 Curativos de hidrocolóide

Consistem em ingredientes absorventes (tipicamente carboximetilcelulose ou gelatina). Como hidrogéis, os hidrocolóides podem

absorver quantidades mínimas ou moderadas de exsudado e são adequados para feridas agudas e crônicas de espessura parcial ou total. Como eles são oclusivos, os curativos hidrocolóides não permitem água, oxigênio ou bactérias na ferida, porém também ajudam na proliferação. No entanto, devido à sua natureza oclusiva, os hidrocolóides não devem ser utilizados se a ferida ou a pele circundante estiverem infectadas. Em alguns casos, os curativos hidrocolóides podem produzir um odor distintivo, geralmente devido à queda do produto e não à infecção (ILENGHOVEN, 2017).



Figura 5: Ilustração de um curativo de hidrocolóides

Fonte: <https://cuidadoaflordapele.wordpress.com/2016/06/15/o-que-e-hidrocoloide/>

3.8. Matriz de Alginato

Derivado de algas marrons, o alginato é um polissacarídeo, comercialmente disponível, aplicado em várias áreas na indústria. O mesmo possui uma estrutura molecular que consiste em monômeros de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G) montadas como copolímeros com regiões homogêneas (-MMM- ou -GGG-) e regiões alternadas (-MGMG-) (THERESE ANDERSEN, 2015; BURDICK, 2016).

O alginato é conhecido por ser capaz de formar hidrogéis através de reticulação iônica, tornando-o facilmente acessível ao encapsulamento e à recuperação celular. Essa reticulação é formada usando cátions divalentes como cálcio, magnésio ou bário para promover a formação de pontes iônicas entre unidades de alginato (BURDICK, 2016). Por estas características, está sendo utilizado como biomaterial em produtos biomédicos, que inclui a

cicatrização de feridas e um substituto do enxerto ósseo para a fusão da coluna vertebral (THERESE ANDERSEN, 2015).

No entanto, os polímeros à base de plantas geralmente não são reconhecidos por células de mamíferos e, portanto, muitas vezes resultam em adesão celular limitada e interação. Normalmente, as biomoléculas são incorporadas com esses polímeros para tornar-se um hidrogel mais bioativo para uma maior interação celular (YON JIN CHUAH, 2017).

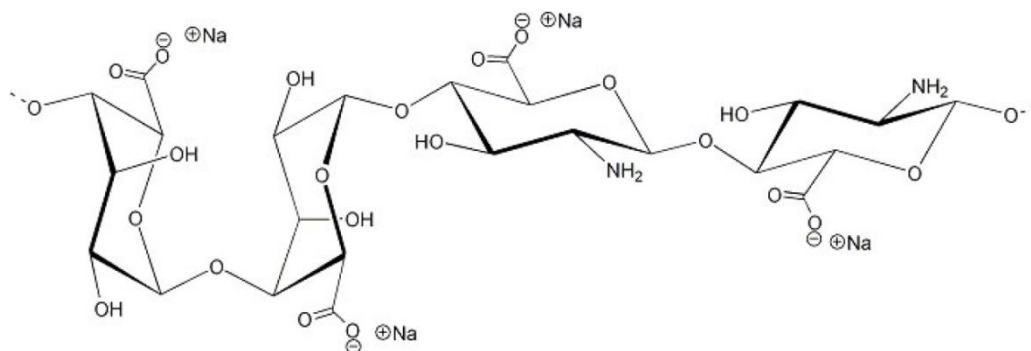


Figura 6: Ilustração da estrutura química do alginato de sódio.

Fonte: (AKTAR, ERDAL et al. 2014)

3.9. Nanopartículas

A nanotecnologia possui importância em diversos ramos da pesquisa devido à oportunidade de miniaturização e às propriedades interessantes associadas a um pequeno tamanho de partícula. É bem sabido que muitas propriedades fundamentais dos materiais nanoestruturados (óptica, elétrica, mecânica, etc.) podem ser expressas em função de seu tamanho, composição e ordem estrutural (ARUNACHALAM DINESH KARTHIK, 2016).

A nanotecnologia é considerada como síntese, caracterização e exploração de materiais na região nanométrica (1-100 nm) (MOHAMAD, 2015). Nesta tecnologia, os materiais pertinentes são aqueles cujas estruturas apresentam propriedades fisicoquímicas e biológicas novas e consideravelmente melhoradas, além de fenômenos e funcionalidades distintos, como resultado do tamanho em nanoescala (S. PAL, 2007; MOHAMAD, 2015). Este tamanho em nanoescala, geralmente confere áreas

de superfície maiores às nanopartículas em comparação com partículas de tamanho macro, o que permite suas possíveis aplicações em muitos campos, como biossensores, nanomedicina e bionanotecnologia (ASHE, 2011; MOHAMAD, 2015).

A contaminação microbiana é um problema sério na indústria da saúde e da alimentação, de modo que o desenvolvimento de agentes antimicrobianos e revestimentos superficiais tem atraído cada vez mais atenção nos últimos anos. Devido à disseminação de infecções resistentes a antibióticos, o interesse em agentes antimicrobianos alternativos, como materiais inorgânicos, tem aumentado (ARUNACHALAM DINESH KARTHIK, 2016). Estas nanopartículas metálicas com atividade antimicrobiana quando incorporadas, podem encontrar imensas aplicações no tratamento da água, têxteis sintéticos, dispositivos biomédicos e cirúrgicos, processamento de alimentos e embalagens (EL-RAB, 2012; ARUNACHALAM DINESH KARTHIK, 2016).

3.9.1 Aplicação de nanopartículas antibacterianas

Como citado anteriormente, as nanopartículas têm aplicações em medicina e biologia, incluindo a administração de medicamentos, bio-deteção de agentes patogênicos, engenharia de tecidos, isolamento e purificação de moléculas biológicas e células, terapia do câncer além do agente antibacteriano. As nanopartículas com propriedades antibacterianas que foram identificadas até o momento, incluem prata, óxido de ferro, óxido de titânio, óxido de cobre, óxido de zinco, fulerenos, nanotubos de carbono e óxido de grafeno, sendo o mecanismo diferente para cada tipo de nanopartícula (MOHAMMADREZA YOUSEFI, 2017).

3.10. Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

Uma bactéria Gram-positiva, é aquela que manifesta uma cor aproximadamente roxa, quando em contato com o meio. A *Staphylococcus aureus* é um patógeno humano bacteriano, muito comum que pode causar uma grande variedade de manifestações clínicas. As infecções causadas por ela,

são comuns tanto em contextos adquiridos no dia a dia quanto em hospitais e o tratamento ainda é difícil, devido ao surgimento de cepas resistentes a múltiplos fármacos, como o MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à *meticilina*). Esta bactéria é encontrada no ambiente e também é encontrado na flora humana normal, localizada na pele e nas mucosas (na maioria das vezes, a área nasal) da maioria dos indivíduos saudáveis. *S. aureus* normalmente não causa infecção na pele saudável; no entanto, se é permitido entrar na corrente sanguínea ou nos tecidos internos, essas bactérias podem causar uma variedade de infecções potencialmente graves. A transmissão geralmente é de contato direto (TAYLOR TA, 2017).

Já a *Escherichia Coli*, é uma bactéria Gram-negativa, que apresenta uma cor avermelhada. É um microorganismo muito estudado e comum, pois é um habitante do trato gastrointestinal e um dos agentes patogênicos mais importantes em seres humanos. Com isso, a causa mais frequente de infecção sanguínea e infecções do trato urinário entre as bactérias Gram-negativas é *E. coli*. A resistência antimicrobiana em *E. coli* é consideravelmente maior do que para os agentes antimicrobianos que estiveram em uso por um longo período de tempo, pois nas últimas duas décadas, foram observados aumentos no surgimento e disseminação de bactérias resistentes a múltiplos fármacos (VILA, SÁEZ-LÓPEZ et al. 2016).

3.11. Óxido de Grafeno

Possuindo uma estrutura hexagonal, o grafeno é um dos materiais mais populares recentemente, tendo em vista as suas excelentes propriedades físicas, elétricas e térmicas (DUYGU EGE, 2017). Os átomos de carbono são dispostos em uma camada de duas dimensões (2D), hibridizados com SP^2 . Dentre os alótropos do carbono, o GO possui melhores propriedades físicas, excelente condutividade térmica e elétrica, além de biocompatibilidade. Até o momento, foram desenvolvidas diferentes técnicas de síntese para a obtenção do GO, como por exemplo, esfoliação mecânica, esfoliação da fase líquida do grafite, descarga de arco elétrico e esfoliação eletroquímica.

O GO, com sua alta área superficial, pode interagir com diferentes biomoléculas para aplicações na detecção, imagens biológicas e moleculares,

administração de medicamentos e terapia do câncer, scaffolds para engenharia de tecidos e como agentes antibacterianos (MOHAMMADREZA YOUSEFI, 2017).

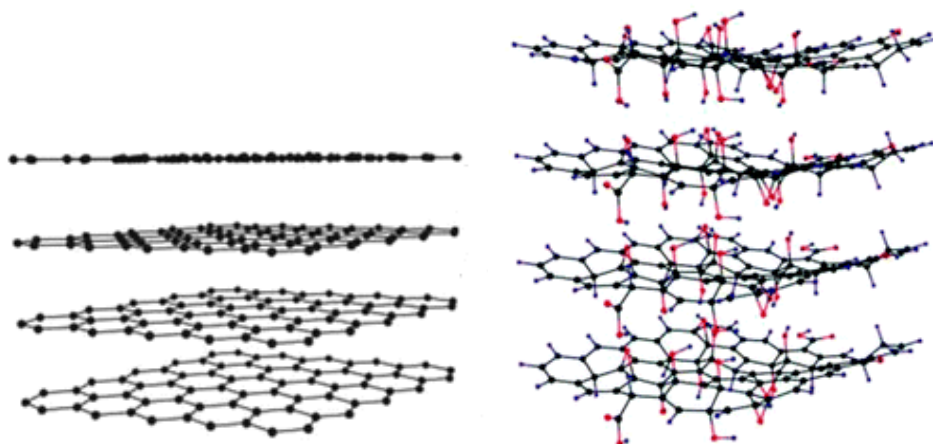


Figura 7: Ilustração da estrutura do grafeno e do óxido de grafeno

Fonte: (MACHADO 2012).

3.12. Óxido de Zinco

O óxido de zinco (ZnO) é um material inorgânico bastante versátil, semicondutor, que possui uma única detecção óptica, condutividade elétrica e propriedades piezoelétricas (Z. FAN, 2005; MOHAMAD, 2015). Possui um amplo intervalo de banda (3.37 eV) e grande energia de excitação (60 meV) a temperatura ambiente, além de uma condutividade elétrica tipo n natural (LINLIN ZHONG, 2015).

O tamanho nanométrico, exibe variáveis morfologias e mostra uma atividade antibacteriana significativa. Suas propriedades dependem principalmente da sua área superficial elevada. Atualmente, o ZnO é investigado como um agente antibacteriano tanto em microescala como em nanoescala, possui alta absorção óptica nas regiões UVA (315-400 nm) e UVB (280-315 nm), o que é benéfico na resposta antibacteriana e é usado como protetor UV em cosméticos (MOHAMAD, 2015).

Vários métodos de síntese de nanopartículas de ZnO foram desenvolvidos, incluindo pirólise, pulverização catódica, a decomposição térmica, o sol-gel e métodos hidrotérmicos. Alguns métodos mais recentes e

mais convenientes, como combustão assistida por microondas, foram recentemente publicados. (LINLIN ZHONG, 2015)

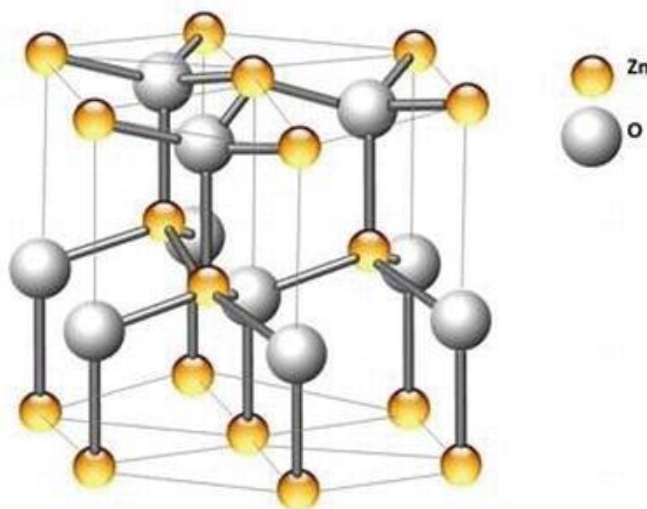


Figura 8: Ilustração da estrutura cristalina do ZnO.

Fonte: (AHMAD SYAKIRIN ISMAIL 2017).

3.13. Síntese Hidrotérmica Assistida por Microondas

Como citado acima, são várias as formas de síntese de ZnO, porém, na maioria dos casos, altas temperaturas de síntese conduzem a formação de agregados, que deverão ser moídos, resultando em um fraco controle da morfologia e da distribuição do tamanho de partícula. Comparada aos outros métodos, a síntese hidrotérmica tem várias vantagens, como baixos níveis de agregação, alta pureza, excelente controle de morfologia e tamanho de partícula, além de ser uma síntese limpa.

A síntese hidrotérmica assistida por microondas atrai interesses por ser um novo modelo de aquecimento na ciência dos materiais, devido às suas diversas vantagens, incluindo reação da pressão atmosférica normal, curto tempo de reação, aquecimento rápido, baixa temperatura de reação, transmissão térmica homogênea e a pureza de fase com melhor rendimento (K. OCAKOGLU, 2015).

4. Materiais e Métodos

4.1. Materiais

Os reagentes utilizados na realização deste trabalho foram de grau analítico. Acetato de Zinco, Synth 98-100 % ($\text{ZnC}_4\text{H}_6\text{O}_4$), Hidróxido de Potássio, Vetec 85 % (KOH), Alginato de Sódio, Sigma-Aldrich ($\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$), Sulfato de Cálcio dihidratado, Sigma-Aldrich 99 % ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Grafite, Synth 98 %, Ácido sulfúrico, Synth (H_2SO_4), Nitrato de sódio, Synth 99 % (NaNO_3), Permanganato de potássio, Synth 99 % (KMnO_4), Peróxido de hidrogênio, Synth (H_2O_2).

4.2 Síntese do ZnO

A metodologia utilizada para a síntese das partículas de ZnO foi baseada no trabalho publicado por (QIUPING JIANG, 2012). Primeiramente, 16,8 g de hidróxido de potássio foi dissolvido em água destilada sob agitação constante por 15 minutos. Logo após foram adicionados 3,66 g acetato de zinco e mantido sob agitação por mais 30 minutos até obter-se uma solução homogênea e totalmente transparente. A solução resultante, foi então vazada em um recipiente de Teflon e colocada no micro-ondas por 20 minutos a uma temperatura de 150°C. Um esquema ilustrativo do processo de síntese do ZnO está apresentado na Figura 9.

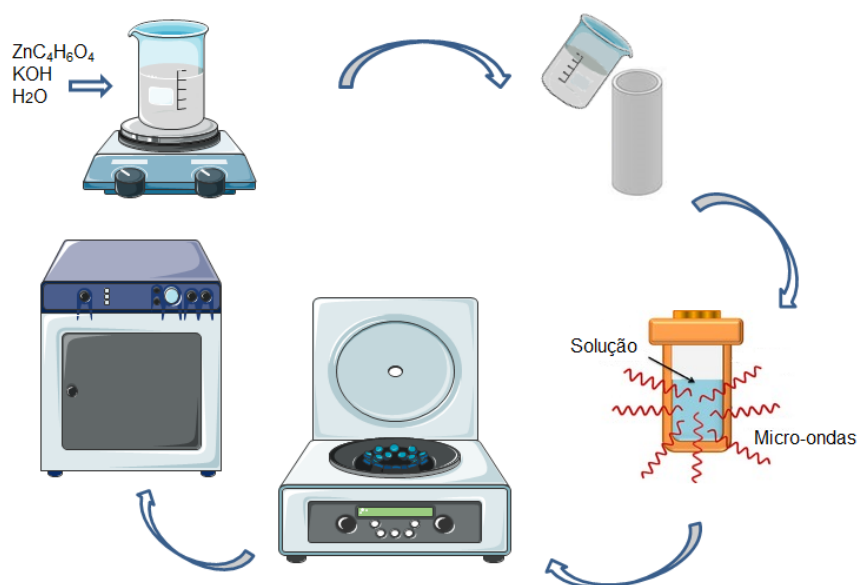


Figura 9: Ilustração esquemática da síntese do ZnO.

Fonte: Imagem própria

4.3 Obtenção do GO

A síntese do GO foi realizada conforme metodologia descrita por (XU-YUAN PENG, 2011), pelo método de Hummers, utilizando pó de grafite. Adicionaram-se 46 mL de ácido sulfúrico concentrado em um balão de fundo redondo de 500 mL e resfriou-se a 0 ° C em banho de gelo. Foram adicionados 2 g do pó de grafite e 1 g de nitrato de sódio ao ácido sulfúrico concentrado em agitação magnética. Em seguida, adicionou-se lentamente 6 g de permanganato de potássio à suspensão. A taxa de adição foi controlada cuidadosamente para evitar que temperatura da suspensão ultrapassasse 20 ° C. O banho de gelo foi então removido e a temperatura da suspensão levada a 35 ± 3 ° C, na qual foi mantida durante 1 hora. À medida que a reação progrediu, a mistura gradualmente engrossou para uma pasta cinza acastanhada com diminuição da efervescência. No final de 1 hora, 92 mL de água destilada foram lentamente agitados na pasta, causando uma efervescência violenta e um aumento de temperatura de 98 ° C. A suspensão castanha diluída foi mantida a esta temperatura durante 15 minutos. A suspensão foi então diluída até aproximadamente 280 mL com água destilada quente e tratada com 3 % de peróxido de hidrogênio para reduzir o

permanganato residual. Após o tratamento com o peróxido, a suspensão ficou brilhante em amarelo. Foi então centrifugada e lavada com água destilada várias vezes até que o pH do sobrenadante seja neutro. O sólido GO foi obtido após centrifugação e depois secagem em estufa sem passagem de ar a 50°C por aproximadamente 12 horas. Um esquema do processo de obtenção do GO pode ser visto na Figura 10.

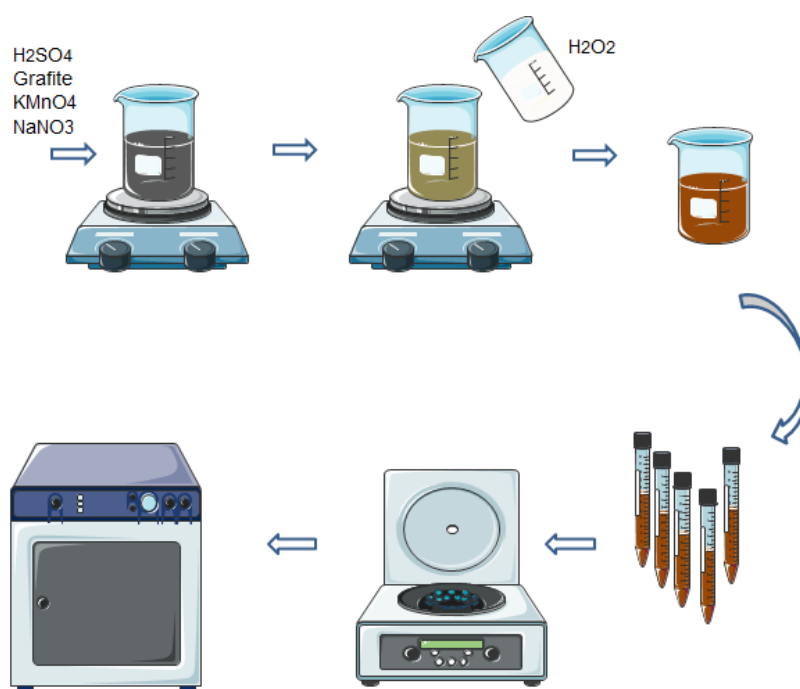


Figura 10: Ilustração esquemática da metodologia de síntese do GO.

Fonte: Imagem própria

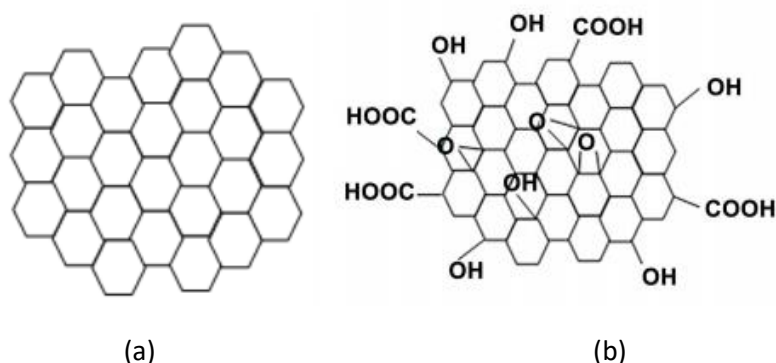


Figura 11: Ilustração da estrutura a) de uma única folha de grafeno, b) do óxido de grafeno.

Fonte: (SYED NASIMUL ALAM, 2017)

Na figura 11, é ilustrada em *a*, a estrutura de uma única folha de grafeno e em *b*, os grupos funcionais que são criados na estrutura, após o processo de oxidação.

4.4. Síntese do ZnO/GO

O crescimento das partículas de ZnO sobre o GO, foi realizado via SHM. O GO foi previamente levado ao ultrassom de banho por 30 minutos, até a total dispersão do material em 20 mL de água. Em seguida, foi adicionado 3,66 gramas de acetato de zinco à solução de GO para a dispersão em ultrassom, por mais 15 minutos. Foi então adicionado a esta solução, 80 mL de uma solução de KOH, dissolvida em água, gota a gota, até a completa homogeneização da solução. Foi vazado no frasco de teflon, 50 mL do conteúdo e realizada a síntese a 150°C por 20 minutos. Posteriormente, foi vazado o restante do conteúdo e levado ao micro-ondas também por 20 minutos a 150°C. O procedimento esta ilustrado na Figura 12.

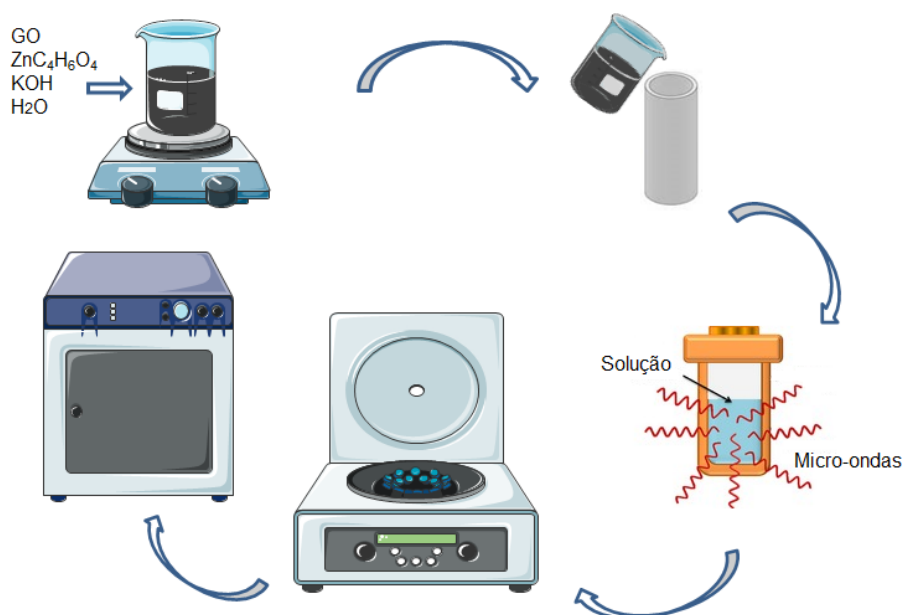


Figura 12 Esquema da síntese do ZnO-GO.

Fonte: Imagem própria

4.5 Síntese do hidrogel de Alginato de sódio

O hidrogel foi preparado a partir da mistura entre alginato de sódio, sulfato de cálcio dihidratado, as partículas ZnO/GO na concentração de 0,5 % em massa, sob agitação constante a temperatura ambiente. O alginato será misturado com água destilada sob agitação constante, em seguida serão inseridas as partículas. Após a homogeneização, será adicionado o sulfato de cálcio, para dar início a reticulação iônica e ainda sob agitação, começará a polimerização. A Figura 13 ilustra este procedimento.

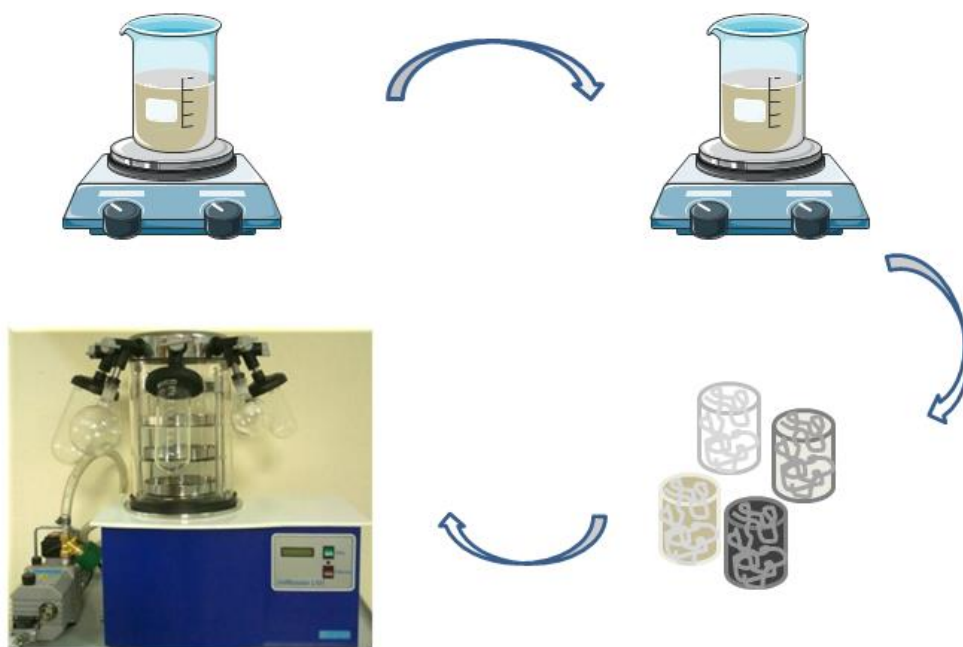


Figura 13: Ilustração da síntese do hidrogel.

Fonte: Imagem própria

4.6. Análises e caracterizações dos materiais

4.6.1. Difração de Raios-x

A difração de raios-X (DRX) é uma técnica utilizada para obter características estruturais dos materiais, permitindo determinar as fases cristalinas formadas nos processos de sínteses. O funcionamento do

equipamento consiste basicamente na geração de raios-X através do bombardeamento de elétrons em um alvo metálico, fazendo com que os elétrons mais internos sejam ejetados do átomo constituinte do metal e, conseqüentemente, os elétrons das camadas externas decaem emitindo os raios-X. No equipamento obtém-se um registro gráfico dos sinais proveniente das reflexões originadas dos detectores eletrônicos de radiação. Os raios-X atingem a amostra e são espalhados coerentemente obtendo-se as informações citadas. Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro SHIMADZU, modelo XRD-6000, localizado no curso de Engenharia de Materiais – UFPel, empregando o método de pó utilizando varredura em ângulo de 10° a 80°.

4.6.2. Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica utilizada para análise morfológica dos materiais. O princípio de funcionamento dos microscópios eletrônicos ocorre pela incidência de um fino feixe de elétrons, alinhado e focalizado por uma série de conjuntos de lentes condensadoras e objetivas que, quando interagem com a amostra promovem uma série de radiações. Para a realização do preparo da amostra deve-se ter cuidado com a limpeza do ambiente devido a contaminações, umidade controlada do ambiente, umidade da amostra (como o equipamento trabalha sob condições de alto vácuo deve-se retirar toda água e/ou solventes) e também condutibilidade da amostra. Amostras não condutoras devem ser recobertas com uma camada de ouro (SILVA, 2015). As imagens de MEV foram feitas, com as amostras de hidrogel liofilizadas e aplicado um feixe de 15 kV. O equipamento utilizado é da marca Jeol, modelo JSM6610VL, fabricante Shimadzu, localizado no laboratório do curso de Engenharia de Materiais – UFPel.

4.6.3. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Esta técnica proporciona o conhecimento das frequências vibracionais através da aquisição dos espectros de absorção do infravermelho. Permite a

identificação e determinação de grupos funcionais nos estudos de conformação e estruturas das moléculas, além de permitir o espectro vibracional completo da molécula. Com a transformada de Fourier, o espectro infravermelho é colhido mais rapidamente. Ao invés de variar os dados variando-se a frequência da luz infravermelha monocromática, ela é guiada através de um interferômetro. O equipamento mede todo o espectro em todos os comprimentos de onda. As análises foram feitas com os pós e posteriormente, com os hidrogéis liofilizados. O equipamento utilizado, da marca Shimadzu, modelo Prestige-21, encontra-se na Faculdade de Odontologia, no Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais (CDCBio). As leituras foram com parâmetros de transmitância, com comprimentos de onda de 500 a 4000 cm^{-1} .

4.6.4. Ensaio microbiológico pelo teste de contato direto modificado (TCDm)

O TCDm foi realizado no Laboratório de Microbiologia, situado na Faculdade de Odontologia- UFPel. O teste consiste na medição do crescimento microbiano, pelo contato próximo entre o microorganismo testado e o material. São utilizadas culturas de células preparadas previamente, os espécimes são esterilizados por luz UV (ultravioleta) dentro de uma câmara de fluxo laminar.

Nesta análise, os materiais são colocados em placas de 96 poços com o auxílio de pinças e em cada poço, é colocado um espécime. Este espécime, é então inoculado com 20 μL de suspensão microbiana, durante 1 e 24 horas a 37 °C e aproximadamente 100% de umidade relativa. Em seguida, são adicionados 180 μL de meio de cultura suplementado com 10 % de sacarose e Tryptic Soy Broth-TSB (caldo de soja, utilizado para cultivar bactérias aeróbicas) para *E. coli* e *S. aureus* e movimentado por 10 minutos. Cem μL da suspensão bacteriana de cada poço, é transferida para diluição em série, e posteriormente, é gotejado nas placas contendo o meio de cultura. Cada placa recebe três gotas de 20 μL por diluição e é novamente levado a estufa, incubadas a 37 °C durante 24 horas.

Além do período de incubação, as unidades formadoras de colônias foram contadas. Três experiências independentes foram realizadas em duplicata. Assim, um total de seis discos de cada grupo foram utilizados para

cada bactéria em cada intervalo (1 hora e 24 horas). Para atividade microbiológica, os dados foram analisados usando um teste estatístico, ANOVA e teste complementar Student-Newman-Keuls para comparações múltiplas.

4.6.5. Estirpes bacterianas e condições de cultura

Escherichia coli ATCC29214 e *Staphylococcus aureus* ATCC19095 foram selecionados porque são agentes patogênicos comuns, frequentemente presentes em infecções hospitalares. As bactérias selecionadas foram cultivadas individualmente em placas de Agar Tryptic de Soja (TSA) em condições aeróbicas, a 37 ° C por 24 h . As colônias de microrganismos foram então suspensas separadamente no Caldo Tryptic de Soja (TSB). A turbidez das células microbianas foi controlada e ajustada usando espectrofotometria (espectrofotômetro, Quimis, Brasil) a 405 nm. A partir deste inóculo, foram adicionados 20 µL de suspensão bacteriana em cada poço, para então serem avaliados (CAMILA F. CORREA, 2016).

5. Resultados e discussões

5.1 Análise de difração de raios-x

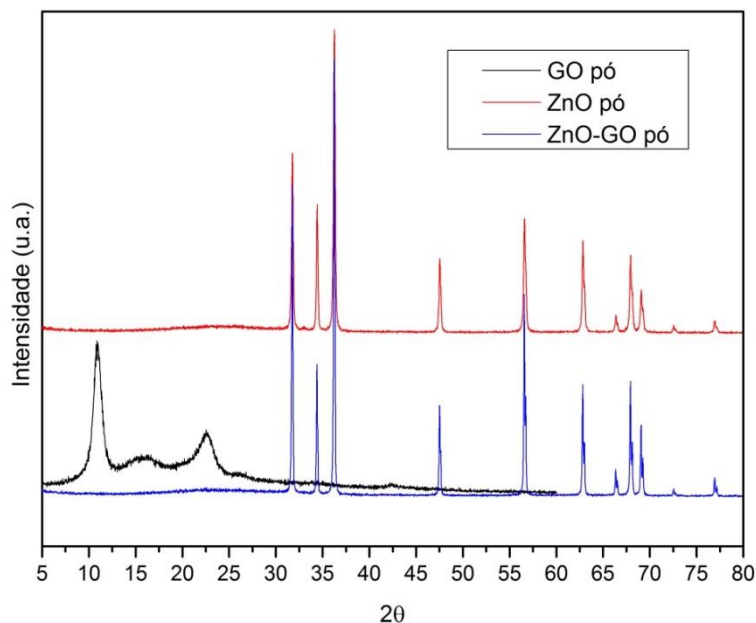


Figura 14: Difratoograma dos pós sintetizados.

A Figura 14 mostra os padrões de difração dos pós de GO, ZnO e ZnO-GO. É possível observar a presença dos picos fortes relativos a estrutura hexagonal do óxido de zinco. A estrutura apresentada pelo ZnO, foi compatível com a ficha cristalográfica JCPDS nº 36-1451. Os picos principais apresentados na difração de raios-x estão em 31.769° , 34.421° , 36.252° , 45.538° , 56.602° , 66.378° , 67.961° e 69.098° , relativos aos planos (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112) e (201) respectivamente.

O difratograma do GO apresentou o seu pico principal em 10.9° e um pico característico do grafite em 22.5° . No difratograma do ZnO-GO, não é mostrado o pico do GO em 10.9° , provavelmente, isto se dá, segundo (FENG, FENG et al. 2014) pela baixa concentração utilizada em relação ao total de material das amostras e a intensidade de difração relativamente baixa.

5.2 Análise morfológica através do Microscópio eletrônico de varredura (MEV):

A morfologia das partículas de ZnO e dos hidrogéis, foram caracterizadas através do MEV e pode ser observada na Figura 15. O ZnO apresentou morfologia em tubos, como esperado pela síntese. Os tubos apresentaram variações de comprimento na escala de micrômetros e de largura na escala de nanômetros.

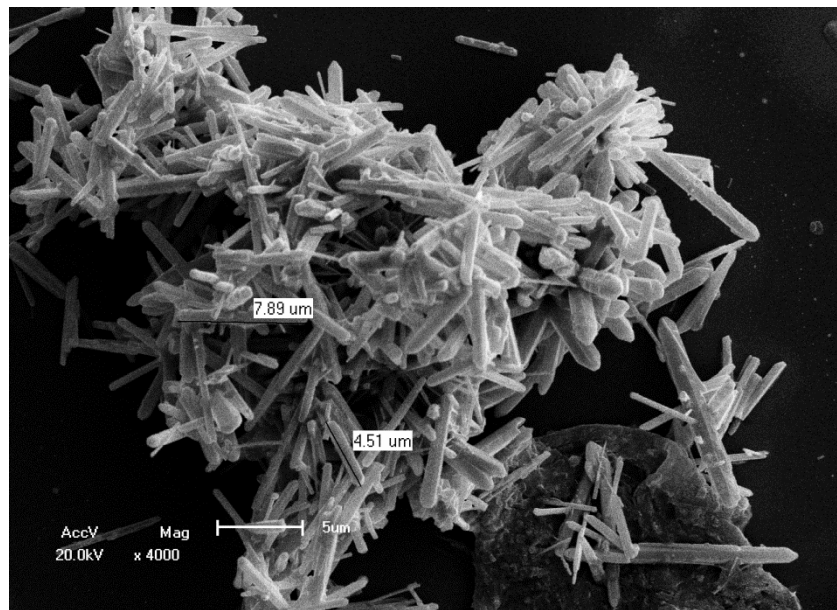


Figura 15: Imagem de MEV dos tubos de ZnO.

Fonte: Imagem própria

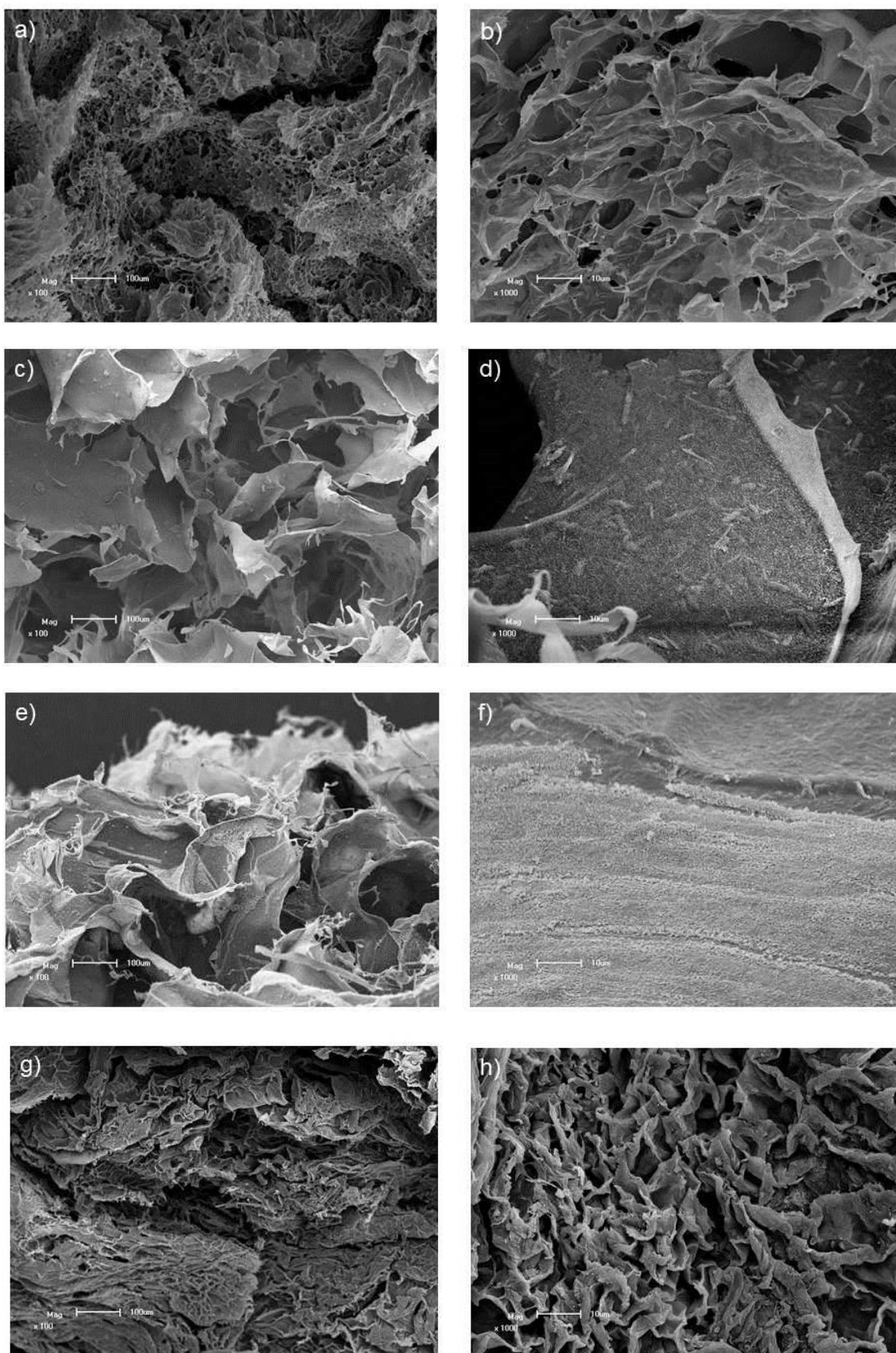


Figura 16: Imagens de MEV para representar a morfologia dos hidrogéis. a) e b) HP c) e d) HZnO; e) e f) HZnO-GO e g) e h) HGO.

Fonte: Imagem própria

As imagens *a* e *b* da Figura 16, são referentes ao hidrogel puro; *c* e *d* ao hidrogel com ZnO; *e* e *f* ao hidrogel com ZnO-GO e por fim *g* e *h* referentes ao hidrogel com GO apenas. Com a análise morfológica através do MEV, nas figuras *a* e *b*, foi possível observar a estrutura porosa formada pelo hidrogel de alginato. Em *c* e *d*, com a inserção das partículas de ZnO, o hidrogel manteve sua porosidade, sendo visível a distribuição dos tubos de ZnO sobre a estrutura. As imagens *e* e *f*, mostram o hidrogel com a inserção do composto ZnO-GO. Em *g* e *h*, observamos o hidrogel com a inserção apenas do GO. Em todas as estruturas, o hidrogel manteve sua porosidade, sendo esta uma propriedade fundamental para o uso em curativos de feridas agudas ou crônicas.

5.3. Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

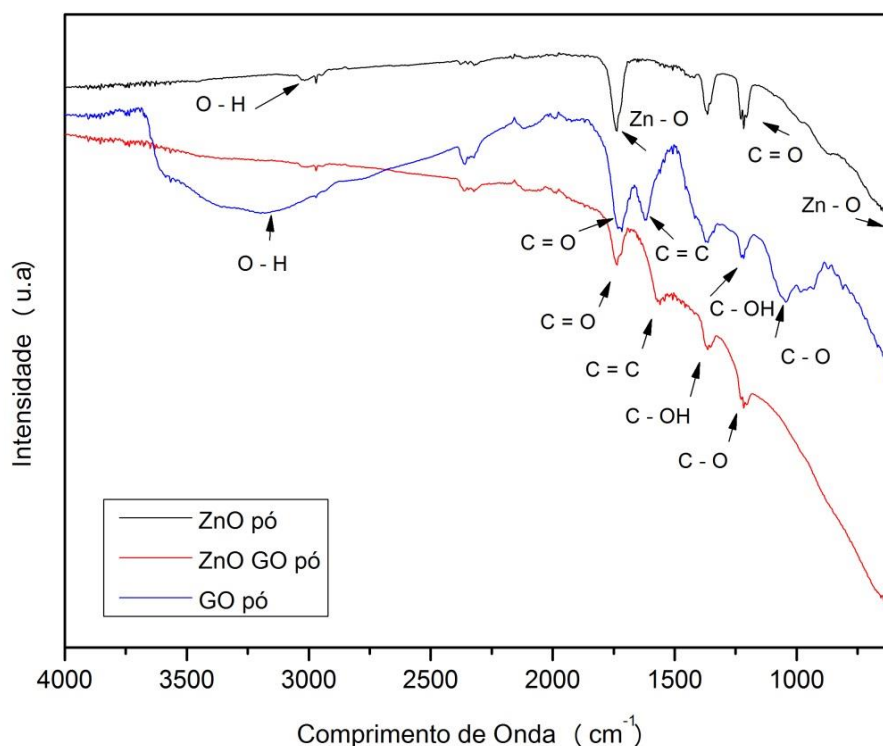


Figura 17: Espectros de FTIR dos pós sintetizados.

Fonte: Imagem própria

A bandas largas entre 3000 e 3200 cm^{-1} são atribuídas ao alongamento do grupo hidroxila (OH), pela ocorrência de moléculas de água na superfície, nas amostras ZnO pó e ZnO GO .

Na amostra ZnO pó e ZnO GO, o grupo carbonila (C = O) pode ser visto em 1214 cm^{-1} e em 1740 cm^{-1} respectivamente. A ligação (Zn – O) é mostrada em 1740 cm^{-1} e em 500 cm^{-1} , na curva em preto. No comprimento 1214 cm^{-1} , aparece o pico devido ao alongamento dos grupos (C – O), seguidos da ligação (C – OH) em 1360 cm^{-1} e 1569 cm^{-1} para (C = C) (BHAISARE, WU et al. 2016).

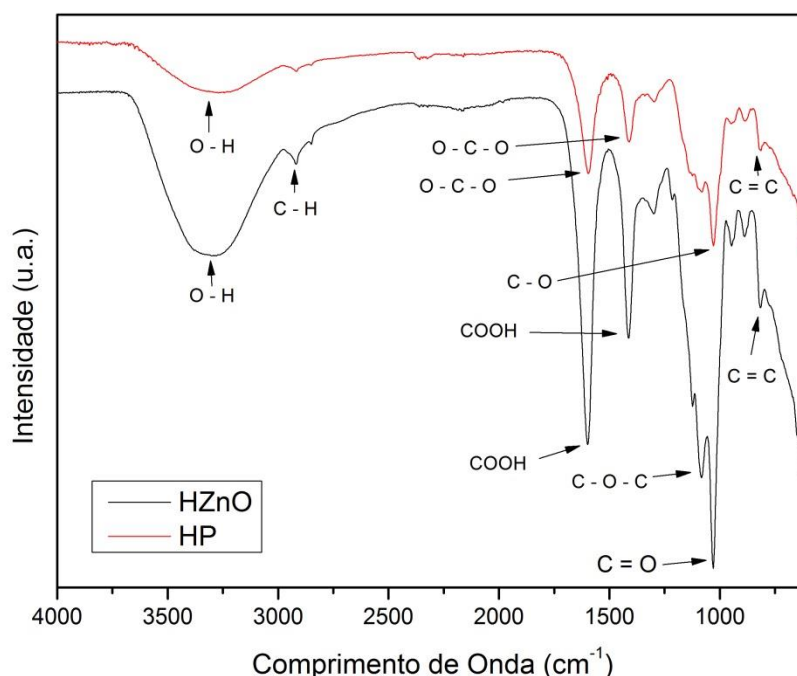


Figura 18: Espectros de FTIR dos hidrogéis HP e HZnO.

Fonte: Imagem própria

Os espectros apresentados nas amostras de hidrogel, indicam a ocorrência dos picos característicos de alginato de sódio, além das ligações de ZnO. Assim como na Figura 17, a banda larga em torno de 3500 cm^{-1} , é caracterizada pela presença de umidade nas amostras. Os picos de alginato apresentam os grupos carboxílicos (O – C – O) mostrando uma ampla banda

como resultado do estiramento assimétrico. A ligação simples C – O é apresentada em 1000 cm^{-1} e a ligação (C = C) é vista em 820 cm^{-1} . Os grupos carboxílicos (COOH) aparecem em 1594 cm^{-1} e (C – O – C) em 1086 cm^{-1} . A ligação (C = O) aparece em 1023 cm^{-1} (MOHANDAS, PT et al. 2015; BHAISARE, WU et al. 2016).

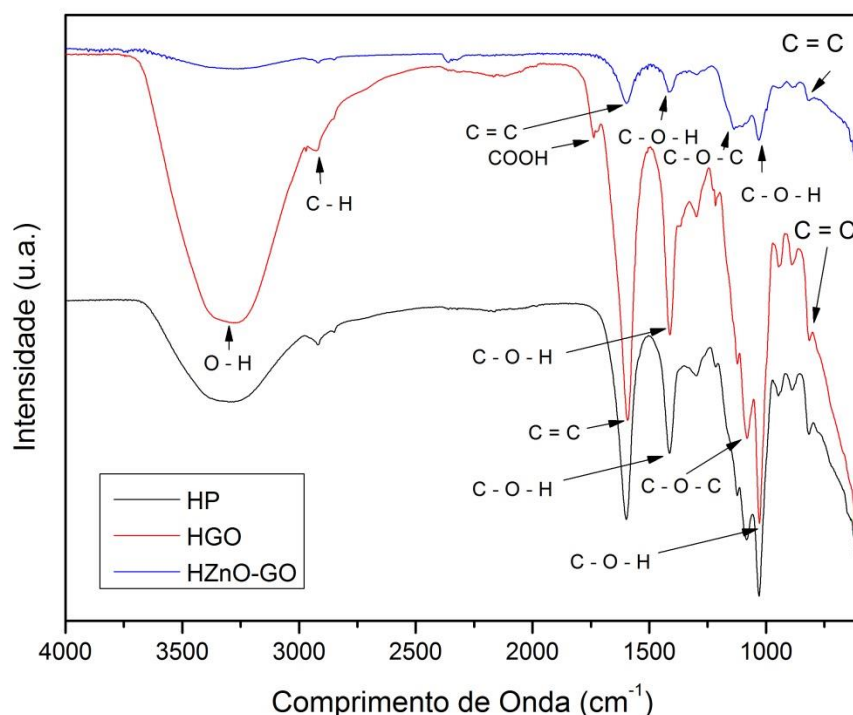


Figura 19: Espectros de FTIR dos hidrogéis HP, HGO e HZnO-GO.

Fonte: Imagem própria

O reconhecimento dos picos de HP, foram feitos na figura 18. O espectro está presente na Figura 19 para devida comparação. No espectro HGO, apresentou-se uma banda larga da ligação (O – H) em aproximadamente 3200 cm^{-1} . Os picos mais intensos das ligações (C = C, C – O – H e C – OH) são mostrados em 1580 cm^{-1} , 1400 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} respectivamente. Na curva do HZnO-GO, novamente os grupos apresentados foram (C = C, C – O – H, C – O – C) (MOHANDAS, PT et al. 2015; BHAISARE, WU et al. 2016; SYED NASIMUL ALAM, 2017).

5.4. Ensaio Microbiológico – TCDm

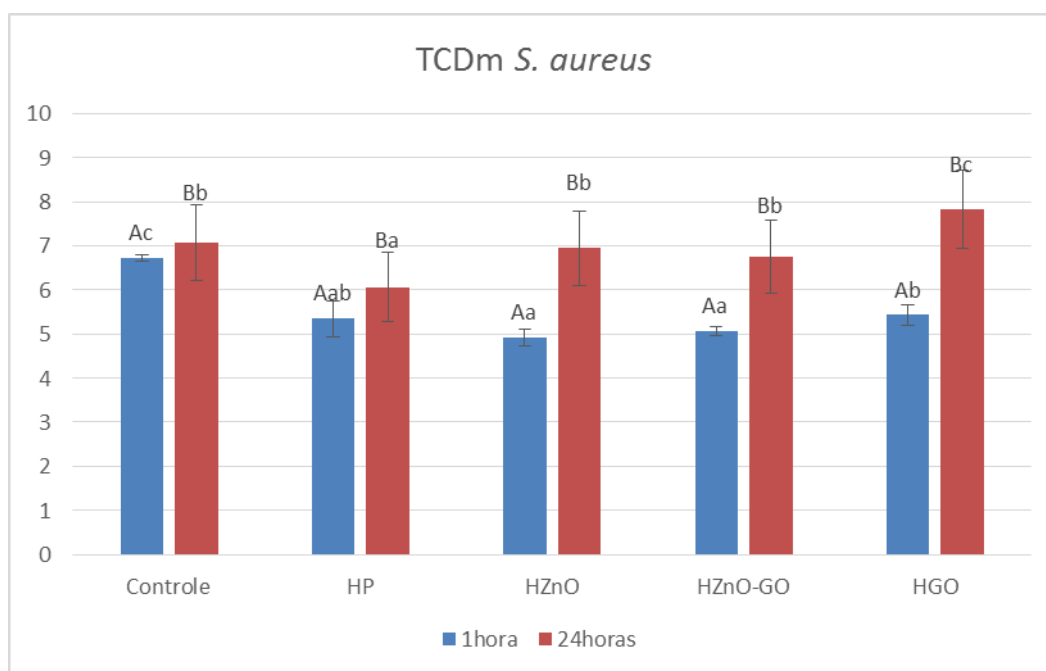


Tabela 1: Resultados para *S. aureus* nos tempos de 1 e 24 horas.

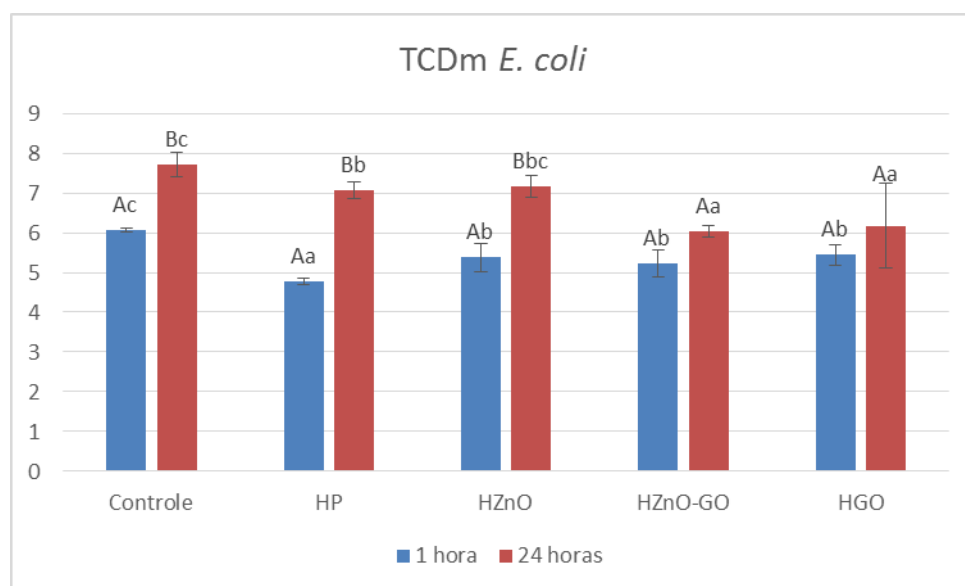


Tabela 2: Resultados para *E. coli* nos tempos de 1 e 24 horas.

Diferentes letras maiúsculas indicam as diferenças de cada grupo testado em ambos os tempos de exposição (1 e 24 h) ($P < 0,05$). Em caso de letras iguais, por exemplo, A e A, é possível dizer que não teve diferença

estatística dentro de um mesmo grupo. Em caso de diferentes letras, A, B ou C, indicam a diferença nos espécimes dentro de um mesmo grupo. O teste para os grupos testados, não passou na homogeneidade de variância, um passo que indica a homogeneidade entre os espécimes. Sendo assim, foi feito um outro teste, denominado teste de Kruskal Wallis, que aqui foi representado pelas letras minúsculas, que indicam, em cada tempo de exposição, a comparação entre todos os grupos.

Para *S. aureus* no tempo de 1 hora, os grupos ZnO e ZnO-GO apresentaram um desempenho semelhante, seguido do grupo HGO que obteve um melhor resultado, porém, de maneira geral, os quatro grupos não apresentaram diferença estatística. Já no tempo de 24 horas, o grupo HGO, obteve a melhor atividade, seguida do grupo HZnO.

Para *E.coli*, em 1 hora, os grupos apresentaram uma atividade estatisticamente semelhante. No tempo de 24 horas, o grupo HZnO, foi o que apresentou maior inibição, porém, como mostrado na Tabela 2, houve diferença entre os espécimes nos grupos.

6. Conclusão

A SHM das partículas de ZnO foi bem sucedida, assim como os crescimentos das mesmas com o GO. A modificação do hidrogel com as partículas também mostrou-se eficaz, mantendo sua estrutura porosa favorável para a aplicação em curativos. Junto a isto, podemos perceber, que o controle de homogeneidade na síntese dos materiais utilizados é fundamental, assim como o controle da concentração de partículas utilizadas. O compósito ZnO-GO, para a atividade antimicrobiana, não foi satisfatório se comparado ao ZnO ou GO puros, pois manteve a atividade antimicrobiana nivelada ou abaixo, em relação aos seus precursores.

7. Atividades futuras

Para a continuação desta pesquisa, serão desenvolvidos hidrogéis com outras concentrações, além das análises e caracterizações que não foram realizadas até o momento como o ensaio de citotoxicidade, porosidade e degradação em meio fisiológico.

8. Referências bibliográficas

AHMAD SYAKIRIN ISMAIL, M. H. M. a. M. R. M. Aluminum and Iron Doped Zinc Oxide Nanorod Arrays for Humidity Sensor Applications. **I. O. Science**, 2017.

AKTAR, B., M. ERDAL, ET AL. "Optimization of Biopolymer Based Transdermal Films of Metoclopramide as an Alternative Delivery Approach." **Polymers** 6(5): 1350, 2014.

ANA LUIZA R. PIRES, A. C. K. B. E. Â. M. M. "BIOMATERIAIS: TIPOS, APLICAÇÕES E MERCADO." **Quim. Nova** Vol. 38(7): 957-971, 2015.

ARUNACHALAM DINESH KARTHIK, K. G. "Applications of transition metal nanoparticles in antimicrobial therapy " **Biomaterials and Tissue Engineering Bulletin** 3(1-4): 28-34, 2016.

ASHE, B. "A Detail investigation to observe the effect of zinc oxide and Silver nanoparticles in biological system." 2011.

BHAISARE, M. L., B.-S. WU, ET AL. "MALDI MS analysis, disk diffusion and optical density measurements for the antimicrobial effect of zinc oxide nanorods integrated in graphene oxide nanostructures." **Biomaterials Science** 4(1): 183-194, 2016.

BURDICK, S. R. C. J. A. "A practical guide to hydrogels for cell culture." **Nature Methods** 13(5): 405-414, 2016.

CAMILA F. CORREA , L. R. S., RICARDO M. SILVA, BRUNO S. NOREMBERG, RAFAEL G. LUND, JULIANA S. RIBEIRO, FABIANA V. MOTTA, MAURICIO R. D. BOMIO, RUBENS M. NASCIMENTO, NEFTALI L. V. CARREÑO. "Antimicrobial activity from polymeric composites-based polydimethylsiloxane/TiO₂/GO: evaluation of filler synthesis and surface morphology." **Polymer Bulletin** (6), 2016.

CLAIRE MARTIN, W. L. L., MOHD CAIRUL IQBAL MOHD AMIN, IZA RADECKA, PREM RAJ & KEN KENWARD "Current trends in the development of wound dressings, biomaterials and devices." **Pharm. Pat. Analyst** 2(3): 341-359, 2013.

DUYGU EGE, A. R. K., ALDO R. BOCCACCINI. "Graphene Oxide/Polymer-Based Biomaterials." **Adv. Eng. Mater**, 2017.

EL-RAB., A. A. E.-K. A. S. F. G. "Effect of reducing and protecting agents on size of silver nanoparticles and their anti-bacterial activity." **Der Pharma Chemica** 4(1): 53-65, 2012.

FENG, Y., N. FENG, ET AL. "One-pot hydrothermal synthesis of ZnS-reduced graphene oxide composites with enhanced photocatalytic properties." **CrystEngComm** 16(2): 214-222, 2014.

FERDOUS KHAN, M. T. A. S. R. A. "Fabrication of polymeric biomaterials: a strategy for tissue engineering and medical devices." **J. Mater. Chem. B** 3: 8224-8249, 2015.

I LENGHOVEN, C. C. Y., WAN AHMAD KAMAL WSR, MOHDYUSSOF SJ AND IBRAHIM S. "A Review of Wound Dressing Practices." **Clinical Dermatology Open Access Journal** 2(6), 2017.

K. OCAKOGLU, S. A. M., S. YILDIRIMCAN, A. A. AL-GHAMDI, F. ELTANTAWY, F. YAKUPHANOGLU. "Microwave-assisted hydrothermal synthesis and characterization of ZnO nanorods." **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 2015.

LINLIN ZHONG, K. Y. "Graphene oxide-modified ZnO particles: synthesis, characterization, and antibacterial properties." **International Journal of Nanomedicine** 10: 79-92, 2015.

MACHADO, B. F. S., PHILIPPE. "Graphene-based materials for catalysis." **Catalysis Science & Technology** 2(1): 54-75, 2012.

MEI LIU, X. Z., CHAO MA, HUAN YI, ZEESHAN ALI, XIANBO MOU, SONG LI, YAN DENG AND NONGYUE HE. "Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering." **Bone Research** 5, 2017.

MOHAMAD, A. S. S. M. A. S. N. H. M. K. L. C. A. S. K. M. B. H. H. D. "Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism." **Nano-Micro Lett.** 7(3): 219-242, 2015.

MOHAMMADREZA YOUSEFI, M. D., MARYAM HEJAZI, MOHAMMAD HASANZADEHD, BEHZAD BEHNAM, MIGUEL DE LA GUARDIA, NASRIN SHADJOU, AHAD MOKHTARZADEH. "Anti-bacterial activity of graphene oxide as a new weapon nanomaterial to combat multidrug-resistance bacteria." **Materials Science and Engineering C** 74: 568–581, 2017.

MOHANDAS, A., S. K. PT, ET AL. "Exploration of alginate hydrogel/nano zinc oxide composite bandages for infected wounds." **International Journal of Nanomedicine** 10(Suppl 1): 53-66, 2015.

OMAR SARHEED, A. A., DOUHA SHOUQAIR AND JOSHUA BOATENG. Antimicrobial Dressings for Improving Wound Healing, 2016.

PAWAN K. MISHRA, H. M., ADAM EKIELSKI, SUSHAMA TALEGAONKAR, AND BHUVANESHWAR VAIDYA. "Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications." **Drug Discovery Today**, 2017.

PERSSON K, S. L. " How to dress donor sites of split thickness skin grafts: a prospective randomized study of four dressings." **Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg** 34(1): 55-59, 2000.

QIUPING JIANG, Y. L., HUEN KAN, BO YUAN, HEYUN ZHAO. "Microwave-assisted synthesis of hexagonal structure ZnO micro-tubes." **Materials Letters** 81: 198–201, 2012.

S. PAL, Y. K. T., J.M. SONG. "Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli." **Appl. Environ. Microbiol.** 73(6): 1712–1720, 2007.

SCOTT STRATTON, N. B. S., KAZUNORI HOSHINO, SWETHA RUDRAIAH D, SANGAMESH G. KUMBAR. "Bioactive polymeric scaffolds for tissue engineering." **Bioactive Materials** 1: 93-108, 2016.

SEKAR VIJAYAKUMAR, B. V., BALASUBRAMANIAN MALAIKOZHUNDAN, MALAIKKARASU SHOBIYA. "Laurus nobilis leaf extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles: Characterization and biomedical applications." **Biomedicine & Pharmacotherapy** 84: 1213–1222, 2016.

SELVARAJ DHIVYA, V. V. P., ELANGO SANTHINI. "Wound dressings – a review." **BioMedicine** 5(4): 24-28, 2015.

SILVA, Ricardo Marques e. **Nanocompósito de fibra de carbono e TiO₂ obtido via hidrotermal assistida por micro-ondas**. 2015, 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

SUKHWINDER K. BHULLAR, N. L. L. A. S. R. "Smart Biomaterials - A Review." **Rev. Adv. Mater. Sci.** 40: 303-314, 2015.

SYED NASIMUL ALAM, N. S., LAILESH KUMAR. "Synthesis of Graphene Oxide (GO) by Modified Hummers Method and Its Thermal Reduction to Obtain Reduced Graphene Oxide (rGO)." **Scientific Research Publishing- Graphene** 6(1): 1-18, 2017.

TAYLOR TA, U. C. "Staphylococcus Aureus" **StatPearls**, 2017.

THERESE ANDERSEN, P. A.-E. A. M. D. "3D Cell Culture in Alginate Hydrogels." **Microarrays** 4: 133-161, 2015.

VILA, J., E. SÁEZ-LÓPEZ, ET AL. "Escherichia coli: an old friend with new tidings." **FEMS Microbiology Reviews** 40(4): 437-463, 2016.

WOLCOTT RD, R. D., DOWD SE. "Biofilms and chronic wound inflammation" **J Wound Care** 17(8): 333-341, 2008.

XU-YUAN PENG, X.-X. L., DERMOT DIAMOND, KING TONG LAU. "Synthesis of electrochemically-reduced graphene oxide film with controllable size and thickness and its use in supercapacitor." **Carbon** 49: 3488 – 3496, 2011.

YIN ZHANG, T. R. N., HAO HONG, AND WEIBO CAI. "Biomedical Applications of Zinc Oxide Nanomaterials." **Curr Mol Med.** 13(10): 1633–1645, 2013.

YON JIN CHUAH, Y. P., JIA EN JOSIAS LAU, HWAN TAK HEE AND DONG-AN WANG. "Hydrogel based cartilaginous tissue regeneration: recent insights and technologies." **Biomaterials Science**, 2017.

Z. FAN, J. G. L. "Zinc oxide nanostructures: synthesis and properties." **J. Nanosci. Nanotechnol** 5(10): 1561–1573, 2005.