

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ – UNIFEI**  
**INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA**  
**ENGENHARIA**

**GILZA CARLA RIBEIRO**

**Desenvolvimento de Membranas de Compósitos PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e  
P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> Associados a Prata com Propriedades  
Piezoelétricas e Antimicrobianas para Aplicações Biomédicas**

**Itajubá/MG**

**2021**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ – UNIFEI**  
**INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA**  
**ENGENHARIA**

**Desenvolvimento de Membranas de Compósitos PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e  
P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> Associados a Prata com Propriedades  
Piezoelétricas e Antimicrobianas para Aplicações Biomédicas**

**Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em  
Materiais para Engenharia como parte dos requisitos  
para a obtenção do título de Doutor em Ciências em  
Engenharia de Materiais.**

**Área de Concentração: Não-Metals**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Sachs**

**Co-orientador: Prof. Dr. Rossano Gimenes**

**Itajubá/MG**

**2021**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ – UNIFEI**  
**INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA**  
**ENGENHARIA**

**GILZA CARLA RIBEIRO**

**Desenvolvimento de Membranas de Compósitos PVDF/  
BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> Associados a Prata com  
Propriedades Piezoelétricas e Antimicrobianas para  
Aplicações Biomédicas**

Tese aprovada por Banca Examinadora em 14 de dezembro de 2021, conferindo a autora o título de Doutor em Ciências em Materiais para Engenharia.

**Banca Examinadora:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Sachs (UNIFEI)

Prof. Dr. Rossano Gimenes (UNIFEI)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elena Leyva Gonzáles (UNIFEI)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Capellato (UNIFEI)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Amanda de Carvalho Pereira Moraes (FMIIt)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Maria Lima Lemes (UNIFAL)

**Itajubá/MG**

**2021**

*À minha família por sua  
fortaleza e coragem, e por  
ser sempre meu alicerce,  
dedico...*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar a Deus e Nossa Senhora Aparecida pela conquista de um título tão sonhado e por todas as realizações que Eles me permitem.

À Professora Doutora Daniela Sachs, não só pela ajuda técnica para a conclusão desse trabalho, mas também pela amizade, paciência, compreensão e por sempre me incentivar a seguir em frente.

Ao professor Doutor Rossano Gimenes pela orientação para a realização desse trabalho.

À professora Doutora Maria Elena Leyva Gonzáles por aceitar fazer parte da banca e por suas contribuições valiosas para este trabalho.

À professora Doutora Amanda de Carvalho Pereira Moraes pelo incentivo, por fazer parte da banca examinadora e pela brilhante correção.

À professora Doutora Raquel Maria Lima Lemes pelos ensinamentos que levarei pra toda vida, pela amizade e disponibilidade de fazer parte da banca e pelas importantíssimas contribuições.

À professora Doutora Patrícia Capellato por aceitar fazer parte da banca e pelas suas contribuições.

Agradeço imensamente a Tainara que, além de me auxiliar nos testes, se tornou uma amiga sensacional.

À Charlene, Larissa, Patrícia, Lucas e Paulo Sérgio, meus colegas, que muito contribuíram com o meu desenvolvimento na UNIFEI.

Aos amigos do Labclin pela ajuda técnica e pelo incentivo.

À Secretaria de Saúde de Piranguinho, em especial minhas amigas Marilei, Eliana e Cecília.

Agradeço aos meus pais, Maria e Alcides, pelo amor, exemplo e incentivo incondicional que sempre me deram.

Ao meu esposo Joeber por compreender meus momentos de ausência e aos meus filhos, Vinícius e Daniel, razões do meu viver.

E a todos que, de alguma forma contribuíram para tornar esse trabalho uma realidade.

*“Compreendi e conheci que o amor abraça em si todas as vocações, que o amor é tudo, que se estende a todos os tempos e a todos os lugares; numa palavra, que o amor é eterno. Encontrei finalmente a minha vocação: eu serei o amor, e de tal modo serei tudo”.*

**Santa Terezinha do Menino Jesus**

## RESUMO

Feridas são consequências de qualquer rompimento da estrutura e das funções normais do tegumento em decorrência de traumas. O tratamento de feridas crônicas requer custos altos com curativos, profissionais de saúde e permanência em hospitais. Feridas crônicas podem ser infectadas por microrganismos, dificultando o processo de cicatrização e cura. A fim de promover a cura de feridas infectadas são desenvolvidos curativos contendo prata. A prata é um metal com propriedades antimicrobianas, amplamente utilizado no tratamento de feridas crônicas. O polímero PVDF e seus compósitos são biomateriais promissores devido à biocompatibilidade e suas respostas piezoelétricas, piroelétricas e ferroelétricas. A mistura de polímeros e cerâmicas gera materiais com potencial capacidade de regeneração dos tecidos, combinando características de resistência, flexibilidade e fácil processabilidade dos polímeros e fortes respostas piezoelétricas das cerâmicas. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> com propriedades piezoelétricas e antimicrobianas para aplicações em tratamento de feridas. Para tanto, após a confecção das membranas, foi realizada a impregnação da prata em algumas amostras. Para a caracterização do material foram utilizadas técnicas físico químicas e microestruturais dos compósitos isolados e impregnados com a prata. A medida do ângulo de contato foi utilizada para avaliar a hidrofobicidade do material, a hemocompatibilidade foi avaliada com o teste de hemólise e a atividade antimicrobiana das membranas foi avaliada pelo método de difusão em ágar de Kirby Bauer e formação de biofilmes utilizando cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os testes de caracterização demonstraram que as membranas foram sintetizadas com propriedades piezoelétricas e que a prata foi impregnada com sucesso. As medidas do ângulo de contato confirmaram a hidrofobicidade do material e os testes de hemocompatibilidade mostraram que as membranas podem ser utilizadas em contato com o sangue. Já os testes microbiológicos demonstraram que as membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> apresentaram atividade antimicrobiana após a impregnação da prata, o que torna o material promissor no tratamento de feridas crônicas infectadas.

**Palavras-chave:** Feridas, Biofilmes, Polifluoreto de vinilideno, Polifluoreto de vinilideno-trifluoretileno.

## ABSTRACT

Wounds are consequences of any disruption of the structure and normal functions of the integument as a result of trauma. The treatment of chronic wounds requires high costs for dressings, healthcare professionals and hospital stays. Chronic wounds can be infected by microorganisms, making the healing and healing process difficult. In order to promote the healing of infected wounds, dressings containing silver are developed. Silver is a metal with antimicrobial properties, widely used in the treatment of chronic wounds. The PVDF polymer and its composites are promising biomaterials due to their biocompatibility and their piezoelectric, pyroelectric and ferroelectric responses. The mixture of polymers and ceramics generates materials with potential capacity for tissue regeneration, combining characteristics of resistance, flexibility and easy processability of polymers and strong piezoelectric responses of ceramics. The present work aims to develop PVDF/BaTiO<sub>3</sub> and P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> membranes with piezoelectric and antimicrobial properties for applications in wound treatment. Therefore, after making the membranes, silver impregnation was carried out in some samples. For the characterization of the material, physical chemical and microstructural techniques of isolated composites and impregnated with silver were used. The contact angle measurement was used to assess the hydrophilicity of the material, the hemocompatibility was assessed with the hemolysis test and the antimicrobial activity of the membranes was assessed by the diffusion method on Kirby Bauer agar and biofilm formation using ATCC strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Characterization tests demonstrated that the membranes were synthesized with piezoelectric properties and that the silver was successfully impregnated. Contact angle measurements confirmed the hydrophilicity of the material and hemocompatibility tests showed that the membranes can be used in contact with blood. The microbiological tests showed that PVDF/BaTiO<sub>3</sub> and P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> membranes showed antimicrobial activity after silver impregnation, which makes the material promising in the treatment of chronic infected wounds.

Keywords: Wounds, Biofilms, Polyvinylidene fluoride, Polyvinylidenetrifluorethylene fluoride.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

PVDF: Polifluoreto de Vinilideno

P(VDF-TRFE): Polifluoreto de Vinilideno Trifluoretileno

BaTiO<sub>3</sub>: Titanato de Bário

F: Flúor

C: Carbono

H: Hidrogênio

Ba: Bário

Ti: Titânio

Ag: Prata

AgNPs: Nanopartículas de prata

Ag<sup>0</sup>: Prata metálica

Ag<sup>+</sup>: Prata iônica

AgNO<sub>3</sub>: Nitrato de Prata

OH: Hidroxila

ROS: Espécies Reativas de Oxigênio

-SH: Tíol

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

LP: Lesão por Pressão

UVC: Úlcera Vasculogênica Crônica

MRSA: Estafilococo Meticilina Resistente

BaCO<sub>3</sub>: Carbonato de Bário

NIPS: Separação de Fase Não Induzida por Solvente

DMF: Dimetilformamida

TG: Análise Termogravimétrica

DSC: Calorimetria Diferencial Exploratória

N<sub>2</sub>: Nitrogênio

FTIR: Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier

IV: Infravermelho

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

ATCC: *American Type Culture Collection*

*S. aureus*: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

*P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

GT: Grupo Teste

GC: Grupo Controle

BHI: *Brain Heart Infusion*

UFC: Unidade Formadora de Colônia

EDS: Espectroscopia por Energia Dispersiva

$m$ : Coeficiente de Atrito

$\varphi$ : Porosidade Aparente

$\rho$ : Densidade

A: Absorbância da Amostra

$C_n$ : Absorbância do Controle Negativo

$C_p$ : Absorbância do Controle Positivo

R: Taxa de Hemólise

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Recursos públicos utilizados no tratamento de feridas.....	18
Figura 2 Etapas da cicatrização de feridas.....	20
Figura 3 Ferida infectada necrótica no braço.....	21
Figura 4 Diagrama esquemático e micrografia eletrônica de varredura de diferentes etapas na formação de biofilme de <i>Streptococcus suis</i> .....	26
Figura 5 Monômero de Polifluoreto de Vinilideno.....	29
Figura 6 Desenho esquemático das cadeias do PVDF e suas respectivas fases.....	30
Figura 7 Estrutura polimérica do P(VDF-TrFE) na fase $\beta$ .....	31
Figura 8 Estrutura Perovskita tetragonal do BaTiO <sub>3</sub> .....	32
Figura 9 As quatro principais vias do mecanismo citotóxico da prata.....	36
Figura 10 Efeito zumbi de bactérias mortas pela prata.....	37
Figura 11 Delineamento experimental desse trabalho.....	40
Figura 12 Apresentação da confecção das membranas.....	42
Figura 13 Representação da medição do ângulo de contato formado entre os compósitos e a água.....	45
Figura 14 Apresentação do ajuste da suspensão para a escala 0,5 de MC Farland.....	46
Figura 15 Representação do procedimento de cultivo do biofilme.....	48
Figura 16 Esquema da preparação das membranas para o ensaio de hemólise.....	49
Figura 17 Esquema descritivo da técnica de análise de hemólise.....	50
Figura 18 Curvas termogravimétricas das membranas de PVDF/BaTiO <sub>3</sub> isoladas e PVDF/BaTiO <sub>3</sub> associadas a prata.....	51
Figura 19 Curvas termogravimétricas das membranas de P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> isoladas e P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> associadas a prata.....	52
Figura 20 Curvas DSC das membranas de PVDF/BaTiO <sub>3</sub> e PVDF/BaTiO <sub>3</sub> associadas a prata.....	54
Figura 21 Curvas DSC das membranas de P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> associadas a prata.....	54
Figura 22 Espectro do FTIR do compósito PVDF/BaTiO <sub>3</sub> .....	56
Figura 23 Espectro do FTIR do compósito PVDF/BaTiO <sub>3</sub> e PVDF/BaTiO <sub>3</sub> /Ag.....	57
Figura 24 Representação esquemática da estrutura química do P(VDF-TrFE).....	57
Figura 25 Espectro do FTIR do compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> .....	58

Figura 26 Espectro do FTIR do compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> /Ag.....	59
Figura 27 Micrografia obtida por MEV: A) PVDF/BaTiO <sub>3</sub> isolado e B) PVDF/BaTiO <sub>3</sub> com prata em aumento de 3000 vezes.....	60
Figura 28 Micrografia de MEV do PVDF/BaTiO <sub>3</sub> /Ag com EDS para análise da presença da prata.....	60
Figura 29 Micrografia obtida por MEV: A) P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> e B) P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> /Ag com aumento de 3000 vezes.....	61
Figura 30 Micrografia de MEV com EDS no compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> com prata.....	62
Figura 31 Média do diâmetro dos halos de inibição (mm) de PVDF/BaTiO <sub>3</sub> , PVDF/BaTiO <sub>3</sub> + AgNO <sub>3</sub> , PVDF/TrFE/BaTiO <sub>3</sub> e PVDF/TrFE/BaTiO <sub>3</sub> + AgNO <sub>3</sub> no teste disco-difusão em ágar para <i>Staphylococcus aureus</i> . Os valores são expressos pela em média ± erro padrão da média com n = 3. *P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/BaTiO <sub>3</sub> . #P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/TrFE/BaTiO <sub>3</sub> .....	64
Figura 32 Média do diâmetro dos halos de inibição (mm) de PVDF/BaTiO <sub>3</sub> , PVDF/BaTiO <sub>3</sub> + AgNO <sub>3</sub> , PVDF/TrFE/BaTiO <sub>3</sub> e PVDF/TrFE/BaTiO <sub>3</sub> + AgNO <sub>3</sub> no teste disco-difusão em ágar para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Os valores são expressos pela em média ± erro padrão da média com n = 3. *P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/BaTiO <sub>3</sub> . #P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/TrFE/BaTiO <sub>3</sub> .....	65
Figura 33 Crescimento bacteriano no teste da formação de biofilmes das membranas isoladas com <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> (A) e crescimento bacteriano no teste de formação de biofilmes nas membranas associadas à prata (B).....	67
Figura 34 Média do número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) em <i>Staphylococcus aureus</i> . Os resultados são apresentados como a média ± erro padrão médio (SEM) de 5-7 amostras por grupo. *P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/BaTiO <sub>3</sub> . #P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/TrFE/BaTiO <sub>3</sub> .....	68
Figura 35 Média do número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) em <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Os resultados são apresentados como a média ± erro padrão médio (SEM) de 5-7 amostras por grupo. *P<0,05 quando comparado com o	

grupo PVDF/BaTiO <sub>3</sub> . #P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/TrFE/BaTiO <sub>3</sub> .....	69
Figura 36 Controle positivo e controle negativo do teste de hemólise.....	70
Figura 37 Porcentagem hemolítica das membranas de PVDF/BaTiO <sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> com e sem prata.....	72

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 Variedade de curativos atualmente utilizados no tratamento de feridas crônicas.....	23
Tabela 2 Propriedades de um curativo ideal.....	23
Tabela 3 Principais bactérias aeróbias e anaeróbias contaminantes da pele e feridas.....	24
Tabela 4 Variação do ângulo de contato no decorrer do tempo.....	62
Tabela 5 Taxa de hemólise das amostras analisadas.....	71
Tabela 6 Taxas de hemólise definidas pela ASTM F756-08.....	72

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>1.1 FERIDAS.....</b>	<b>17</b>
<b>1.1.1 CLASSIFICAÇÃO DAS FERIDAS .....</b>	<b>19</b>
<b>1.1.2 TRATAMENTO DE FERIDAS .....</b>	<b>22</b>
<b>1.1.3 FERIDAS INFECTADAS E BIOFILMES .....</b>	<b>24</b>
<b>1.2 MATERIAIS PIEZOELÉTRICOS .....</b>	<b>27</b>
<b>1.3 POLÍMERO PVDF E O COPOLÍMERO P(VDF-TrFE) .....</b>	<b>28</b>
<b>1.4 A CERÂMICA BaTiO<sub>3</sub>.....</b>	<b>31</b>
<b>1.5 PVDF E SEUS COMPÓSITOS COMO BIOMATERIAL.....</b>	<b>33</b>
<b>1.6 PRATA COMO AGENTE ANTIMICROBIANO .....</b>	<b>35</b>
<b>2 OBJETIVO .....</b>	<b>39</b>
<b>2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>39</b>
<b>3 MÉTODOS E DESCRIÇÃO DA PESQUISA .....</b>	<b>40</b>
<b>3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>40</b>
<b>3.2 CONDICIONAMENTO DO PÓ TITANATO DE BÁRIO (BaTiO<sub>3</sub>) .....</b>	<b>41</b>
<b>3.3 SÍNTESE DAS MEMBRANAS DOS COMPÓSITOS PVDF/ BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> E IMPREGNAÇÃO DA PRATA .....</b>	<b>41</b>
<b>3.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC) .....</b>	<b>43</b>
<b>3.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO .....</b>	<b>43</b>
<b>3.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) e EDS .....</b>	<b>44</b>
<b>3.7 MOLHABILIDADE.....</b>	<b>44</b>
<b>3.8 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS .....</b>	<b>45</b>
<b>3.8.1 DISCO DIFUSÃO EM ÁGAR .....</b>	<b>45</b>
<b>3.8.2 FORMAÇÃO DE BIOFILMES .....</b>	<b>47</b>
<b>3.9 ENSAIO DE HEMOCOMPATIBILIDADE .....</b>	<b>49</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>

<b>4.1 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC) .....</b>	<b>51</b>
<b>4.2 ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO.....</b>	<b>55</b>
<b>4.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....</b>	<b>59</b>
<b>4.4 MOLHABILIDADE.....</b>	<b>62</b>
<b>4.5 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS .....</b>	<b>63</b>
<b>4.5.1 DISCO DIFUSÃO EM ÁGAR .....</b>	<b>63</b>
<b>4.5.2 FORMAÇÃO DE BIOFILMES .....</b>	<b>66</b>
<b>4.5.3 ENSAIO DE HEMOCOMPATIBILIDADE .....</b>	<b>70</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>73</b>
<b>6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>74</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 FERIDAS

A pele, maior órgão do corpo humano, possui funções importantes como: atuar como barreira para patógenos estranhos; regular a temperatura corporal; ser responsável pelas sensações e prevenir a desidratação do corpo (KANJI; DAS, 2017). A principal função da pele é a proteção ao meio externo.

Ferida significa qualquer rompimento da estrutura e das funções normais do tegumento e cicatrização, bem como uma série de eventos que iniciam em decorrência do trauma (TOLFO *et al.*, 2020). Após o início de uma ferida segue-se o reparo tecidual, um processo complexo que envolve proliferação celular, migração e remodelamento, com a finalidade de reestabelecer a função da pele. Falhas no processo de cicatrização podem prolongar o tempo de reparo, levar a complicações como dor, infecções, amputações, tempo de internação e aumentar as taxas de mortalidade (POBLETE JARA *et al.*, 2015).

As feridas foram chamadas de “epidemia silenciosa” porque qualquer que seja a causa possuem um impacto substancial sobre os que sofrem com elas, seus cuidadores e sobre o sistema de saúde e viver com uma ferida afeta seriamente a qualidade de vida. O custo humano se manifesta por dor, angústia, isolamento social, ansiedade, internação prolongada, morbidade crônica ou mesmo mortalidade. Além disso, geram custos altos com materiais, profissionais de saúde e permanência no hospital (LINDHOLM; SEARLE, 2016).

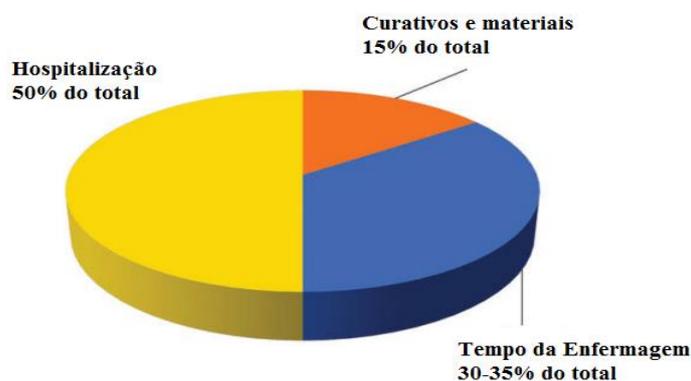
O termo ferida crônica é usado para definir feridas que não cicatrizaram espontaneamente dentro de 3 meses. Esse tipo de ferida se tornou frequente nos países ocidentais e um verdadeiro desafio para equipes de enfermagem e médicos. Elas representam um custo estimado de 25 bilhões de dólares anualmente nos EUA e de 2 a 4% do orçamento nos países ocidentais (DRAGO *et al.*, 2019).

Como exemplo tem-se feridas após extensas queimaduras e feridas em pacientes portadores de diabetes. O tratamento é trabalhoso e caro, além de ter alto risco de infecção e, por vezes ser necessária intervenção cirúrgica. A amputação de membros em pessoas diabéticas varia de 10 a 20 vezes mais que da população em geral, sendo que a cada 30 segundos, em algum lugar do mundo, ocorrem amputações de parte de membro

ou membro inteiro em decorrência do diabetes. A carga de cuidados de saúde associada a feridas cresce a cada dia devido ao aumento de diabetes e obesidade. Até 2030 é estimada a prevalência de 552 milhões de pessoas vivendo com diabetes e a gestão de feridas nesses pacientes é um desafio, pois muitos mecanismos envolvidos no processo de cicatrização são modificados na presença do diabetes (SHAH *et al.*, 2019).

Estudos referentes aos anos de 2012 e 2013 no Reino Unido demonstraram que nesse período havia 2,2 milhões de pacientes portadores de algum tipo de ferida, o que corresponde a 4,5% da população adulta do país. O uso dos recursos em feridas crônicas foi bem maior que o gasto com o tratamento de feridas que cicatrizaram, sendo que o custo anual do gerenciamento dessas feridas inclui profissionais de saúde, material para curativos e medicamentos. Foram gastos anualmente cerca de 5,3 bilhões de libras, onde 2,1 bilhões foram utilizados em feridas que cicatrizaram e 3,2 bilhões para feridas crônicas, o que representa um gasto em média 135% maior, evidenciando o substancial gasto dos sistemas de saúde com o tratamento de feridas crônicas (GUEST *et al.*, 2017).

Segundo Lindholm, Searle. (2016). estima-se que em uma população de 1 milhão de pessoas, aproximadamente 3500 pessoas estão vivendo com uma ferida, das quais 525 terão suas feridas por mais de 1 ano e que, 27 a 50% dos leitos hospitalares estão ocupados por pacientes que necessitam de alguma forma de tratamento para feridas. Outra estimativa é de que 3% do total de custos do sistema de saúde sejam empregados para o tratamento de feridas, o que nos Estados Unidos corresponde a 25 bilhões de dólares gastos anualmente. A Figura 1 representa a divisão dos recursos usados no tratamento de feridas.



**Figura 1:** Recursos públicos utilizados no tratamento de feridas.

Fonte: Adaptado de Lindholm, Searle. (2016).

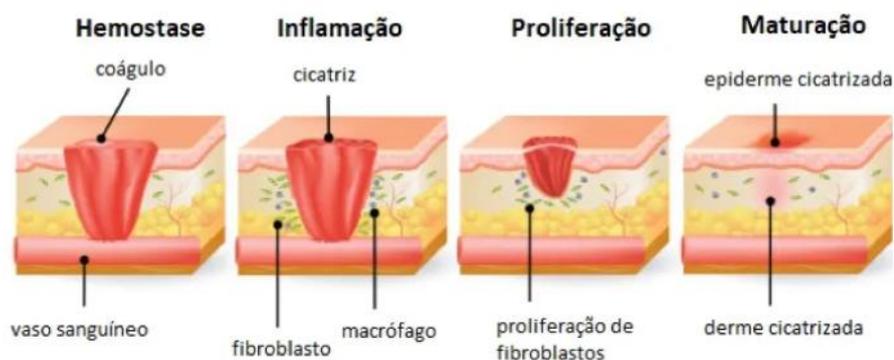
No Brasil, o aumento da expectativa de vida causa preocupação em profissionais e gestores dos sistemas de saúde, isso porque o envelhecimento da população é acompanhado pelo aumento das doenças crônicas. Um estudo em Teresina, Piauí avaliou a presença de feridas crônicas em idosos assistidos pela atenção básica. Dentre as feridas crônicas, foram avaliadas lesões por pressão (LP) e úlcera vasculogênica crônica (UVC), devido a essas feridas serem mais frequentes em idosos. Os dados mostraram uma prevalência de feridas crônicas estimados de 11,8% nos idosos, predominando LP com 5% e as regiões mais acometidas foram a sacral, plantar e terço distal da perna. A prevalência nesse estudo foi maior que aquelas observadas em estudos na Alemanha e na Irlanda, onde as taxas de prevalência de feridas crônicas são de 1,04% e 3,7% respectivamente (VIEIRA; ARAÚJO, 2018).

### **1.1.1 CLASSIFICAÇÃO DAS FERIDAS**

Quanto à profundidade, as feridas podem ser classificadas como superficial ou epidérmica espessura parcial ou espessura total. Nas feridas superficiais ou epidérmicas apenas a epiderme foi lesada. As células epiteliais respondem à injúria em 24 a 48 horas. Elas fecham sem deixar qualquer cicatriz. Nas feridas de espessura parcial a epiderme e parte da derme são destruídas, atingindo parcialmente os folículos capilares e as glândulas sudoríparas. A cicatriz dessas feridas geralmente fica imperceptível. Nas feridas de espessura total há destruição da epiderme, da derme e do subcutâneo. Os tecidos profundos como músculos ou ossos podem estar envolvidos. Neste tipo, a cicatrização é mais complexa e de longa duração. Quanto mais extenso o traumatismo, maior é o número de elementos lesados (ABAZARI *et al.*, 2020; CÔRTEZ, 2013).

Quanto ao tempo de evolução as feridas dividem-se em agudas e crônicas. Uma ferida aguda ocorre após um trauma ou cirurgia e se move através dos estágios do processo de cura (hemostasia, inflamação, proliferação e maturação) e o seguem de forma previsível (SHAH *et al.*, 2019). Trata-se de feridas traumáticas, com ruptura da vascularização e rápida hemostasia. Respondem prontamente ao tratamento, costumam exigir cuidados restritos ao local e, num ambiente ideal, cicatrizam em 4 a 14 dias. Entretanto, as crônicas, são feridas de longa duração e de difícil cicatrização, ou após cicatrizarem, recidivam. Nas feridas crônicas acontece um desvio do processo cicatricial fisiológico (CÔRTEZ, 2013).

O processo normal de cicatrização começa com a formação de coágulos de fibrina, o que é denominado hemostasia. As plaquetas dos vasos sanguíneos danificados são expostas a matriz extracelular em caso de ferimentos e danos ao tecido e a fibrina se liga a monócitos e neutrófilos e participa da fase inflamatória, que dura 4 dias em condições normais. As células inflamatórias promovem o recrutamento e a proliferação de fibroblastos, células endoteliais vasculares e queratinócitos durante a fase proliferativa, a partir daí a matriz extracelular é substituída por tecido de granulação. Os fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos que promovem a contração da ferida e redução da sua área. Após o completo fechamento da ferida, a remodelação do tecido ocorre abaixo da derme e pode levar até 1 ano ou mais para ser concluída (KANJI, DAS., 2017; TOTTOLI *et al.*, 2020). A sequência dos processos de cicatrização de feridas está ilustrada na Figura 2.



**Figura 2:** Etapas da cicatrização de feridas.

Fonte: Adaptado de SHAH et al. (2019).

Uma recente classificação de feridas em pacientes diabéticos foi elaborada pela Sociedade Americana de Cirurgia Vascular para acompanhar e diagnosticar a isquemia, com o objetivo de mensurar o risco de amputação e os benefícios em promover a revascularização do membro inferior ameaçado com base em três fatores: a) Ferida (*Wound*); b) Isquemia (*Ischemia*) e; c) Infecção (*foot Infeccion*). Com relação à classificação das feridas ficou definido como: Para a ferida, grau 0 quando não há ferida; grau 1 – ferida superficial que acomete no máximo dois dedos; grau 2 – ferida na parte anterior do pé podendo acometer mais de dois dedos, apresentar ou não exposição óssea e de tendão e/ou presença de úlcera superficial no calcanhar; grau 3 – ferida extensa no pé e/ou úlcera cuja profundidade já acometeu o calcâneo (LUZ, 2021).

Com relação ao conteúdo microbiano as feridas podem ser classificadas como limpas (assépticas), ou seja, estão isentas de microrganismos patogênicos, sem falhas

técnicas, em tecidos estéreis ou de fácil descontaminação; as feridas podem ser infectadas (sépticas), ou seja, colonizadas ou com contaminação grosseira por detritos ou microrganismos como parasitas, bactérias, vírus ou fungos. Apresentam agente infeccioso local, intensa reação inflamatória, destruição de tecidos, exsudação purulenta e odor característico (BORGES *et al.*, 2016; CÔRTEZ *et al.*, 2013).

Em feridas sépticas, à medida que a carga bacteriana aumenta para níveis críticos a cicatrização fica prejudicada e tem-se a infecção. Os sinais locais de infecção são má cicatrização, aumento rápido do tamanho da ferida, aumento da cobertura de fibrina, aumento do tecido de granulação com exsudato, odor desagradável, aumento da dor, formação de pus local ou formação de abscesso (POWERS *et al.*, 2016; CEFALU *et al.*, 2017). Na Figura 3 está representada uma ferida com sinais locais de infecção.



**Figura 3:** Ferida infectada necrótica no braço.

Fonte: Adaptado de CEFALU *et al.*( 2017).

Feridas que não seguem esse processo de cura são conhecidas como feridas crônicas e resultam em tempos de recuperação prolongados. A maioria das feridas crônicas permanece no estágio inflamatório e não progridem para a fase de proliferação e cura. O processo de cicatrização é afetado por fatores relacionados ao paciente como imunodeficiência adquirida, doenças periféricas vasculares, lesão tecidual em decorrência de radioterapia, bem como uma variedade de medicamentos utilizados pelo paciente e doenças metabólicas como o diabetes (SHAH *et al.*, 2019).

### 1.1.2 TRATAMENTO DE FERIDAS

“Curar feridas” é historicamente uma das práticas mais básicas e essenciais da civilização humana. Dos papiros do Egito aos campos de batalha da Criméia existem relatos de cuidados como a criação de ataduras e curativos caseiros com mel, graxa e algodão para evitar infecção. Atualmente há um crescente corpo de literatura para informar tanto práticas mais simples como tecnologicamente mais avançadas no manejo das feridas (POWERS *et al.*, 2016).

Curativos são produtos técnicos que visam criar um ambiente de cicatrização ideal para feridas, permitindo umidade adequada por remoção do exsudato excessivo e proteção da contaminação bacteriana. O sucesso do curativo depende da avaliação precisa das propriedades da ferida com posterior seleção do curativo mais adequado. As categorias de curativos incluem filmes oclusivos, ideais para proteção versátil e hidrocoloides, que podem ser usados para remover delicadamente exsudatos de feridas crônicas (DEUTSCH; EDWARDS; MYERS, 2017).

Os curativos devem cobrir a ferida e acelerar o processo de cura. Existem os curativos tradicionais, denominados inertes (gaze, algodão) que são usados devido ao seu baixo custo e processo simples de fabricação, porém tem sua aplicação limitada por não manter a umidade necessária ao leito da ferida e possuir propensão à adesão de tecido de granulação. Curativos modernos são mais adequados por proporcionar ambiente úmido, ter melhor biocompatibilidade, degradabilidade e, além disso, aliviar a dor (SHI *et al.*, 2020). A Tabela 1 apresenta os curativos modernos, suas características, condições de uso e indicação.

**Tabela1:** Variedade de curativos atualmente utilizados no tratamento de feridas crônicas

<b>Variedade</b>	<b>Descrição</b>	<b>Características</b>	<b>Condições adequadas</b>
<b>Hidrogel</b>	Rede tridimensional de polímeros hidrofílicos	Hidratação, remoção de tecido necrótico e monitoramento da ferida sem retirar o curativo.	Úlceras de pressão, feridas cirúrgicas, queimaduras, dermatite por radiação.
<b>Hidrocoloide</b>	Hidrogel misturado com borracha sintética e materiais viscosos	Excelente propriedade de absorção de exsudatos.	Ferida exsudativa grave
<b>Alginato</b>	Polissacarídeos derivados de alga marrom	Excelente propriedade de absorção de exsudatos e hemostasia.	Feridas infectadas e não infectadas, com grande quantidade de exsudato.
<b>Espuma</b>	Consiste em poliuretano ou é baseada em silicone	Semipermeabilidade, isolamento térmico, atividade antimicrobiana.	Feridas infectadas
<b>Filme</b>	Consiste em adesivo poroso e poliuretano fino transparente	Propriedades de debridamento autolítico, impermeável aos líquidos e bactérias.	Feridas do epitélio e feridas superficiais com exsudato limitado.

Fonte: Adaptado de SHI *et al.*(2020).

Desde a década de 1970 a bioengenharia de curativos tem evoluído para se tornar um complemento viável do tradicional curativo principalmente para feridas de difícil cicatrização. Esses curativos usam componentes da pele humana para imitar a arquitetura da pele normal, de modo que não só recuperam a epiderme como otimizam o ambiente de cura. São desenvolvidos na tentativa de produzir o curativo ideal (POWERS *et al.*, 2016). As propriedades de um curativo ideal estão listadas na tabela 2.

**Tabela 2:** Propriedades de um curativo ideal

<b>PROPRIEDADES DE UM CURATIVO IDEAL</b>
Prevenir a contaminação
Manter a umidade adequada
Requer trocas pouco frequentes
Absorvente
Passível de conformação
Antimicrobiano
Remover odores
Não causar dor
Promover desbridamento
Ter baixo custo

Fonte: Adaptado de DEUTSCH; EDWARDS; MYERS (2017).

### 1.1.3 FERIDAS INFECTADAS E BIOFILMES

As infecções bacterianas agudas da pele são causadas predominantemente por cocos Gram positivos aeróbicos, principalmente por estreptococos beta-hemolíticos e *Staphylococcus aureus*. Em contraste, as feridas crônicas são frequentemente contaminadas com espécies da microbiota normal da pele e, ocasionalmente, organismos Gram negativos (CEFALU *et al.*, 2017). Na tabela 3 estão listados os contaminantes mais comuns da pele e feridas.

**Tabela 3:** Principais bactérias aeróbicas e anaeróbicas contaminantes da pele e feridas.

<b>Contaminantes mais comuns da pele e feridas.</b>	
<b>Aeróbias</b>	<b>Anaeróbias</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacteroides</i> spp
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Fusobacterium</i> spp
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Peptostreptococcus</i> spp
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Veillonella</i> spp
<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina resistente (MRSA)	<i>Porphyromonas</i> spp
<i>Enterococcus faecalis</i>	
Coliformes	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	

Fonte: Adaptado de CELAFU *et al.* (2017).

Biofilmes são agregações complexas de microrganismos caracterizadas pela secreção de uma matriz adesiva e protetora. As células microbianas que crescem no biofilme são incluídas em uma matriz polimérica composta de polissacarídeos, proteínas, glicopeptídeos e DNA. Dessa forma os microrganismos ficam protegidos e estabelecem intercomunicação através de sinais químicos e físicos para aumentar a integridade do biofilme (DRAGO *et al.*, 2019).

Eles se desenvolvem em superfícies bióticas e abióticas incluindo dispositivos médicos, ortopédicos e fragmentos de tecidos mortos. Em feridas crônicas, acredita-se que o biofilme seja responsável pela demora na cicatrização. Aproximadamente 93% das úlceras venosas são colonizadas por *Staphylococcus aureus* e 52% por *Pseudomonas aeruginosa*. Geralmente na fase inicial da ferida, microrganismos endógenos são geralmente destruídos pelo sistema imune, porém a presença do biofilme protege a bactéria tanto do sistema imune quanto de antibióticos (JARA *et al.*, 2020).

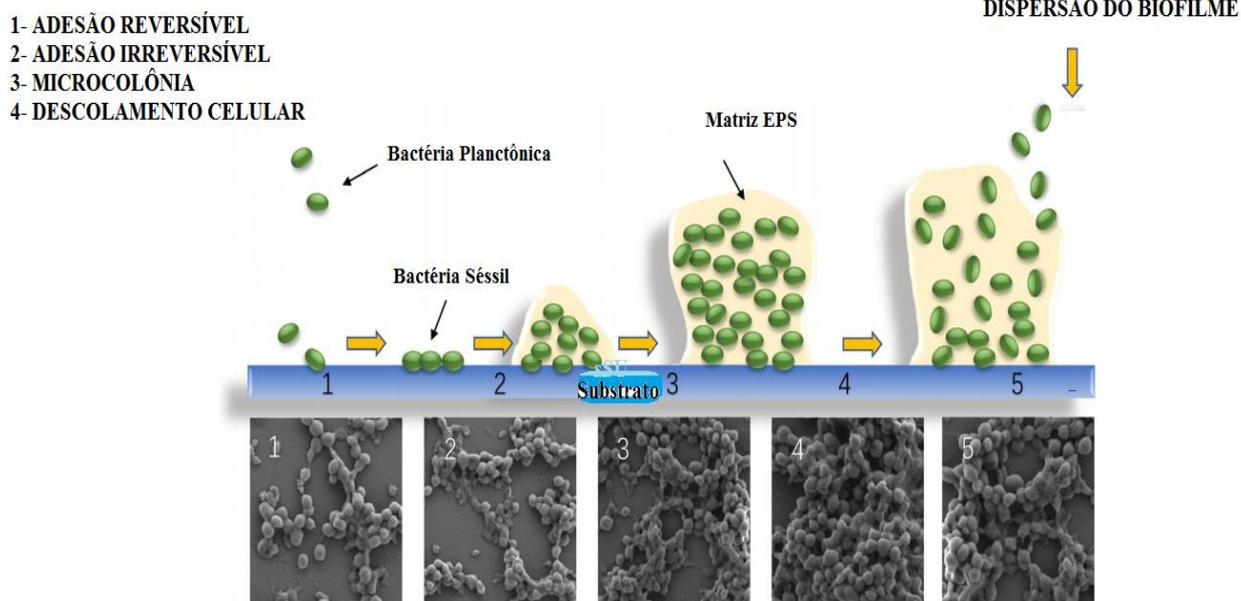
A formação do biofilme bacteriano começa quando uma bactéria planctônica encontra pelo caminho uma superfície revestida por filme através dos movimentos flagelares. Superadas as forças repulsivas eletrostáticas entre o substrato e a superfície celular bacteriana ocorre a adesão. Após a fixação a superfície ter ocorrido, a microcolônia se desenvolve rapidamente. Nesse ponto, as bactérias são envolvidas em uma matriz protetora e começam a expressar o fenótipo do biofilme. Quando o biofilme se estabelece e amadurece na superfície ele libera células planctônicas que migram até um novo local para colonização (OMAR *et al.*, 2017; KUMARAVEL *et al.*, 2021).

O modo de vida do biofilme fornece proteção contra a dessecação melhor que quando a bactéria está em vida livre. Resistência ou tolerância aos antibióticos são propriedades emergentes relacionadas aos biofilmes. Resistência denota uma característica genética hereditária que é adquirida por mutação ou troca de genes que permanece mesmo quando as células do biofilme são dispersas. Por outro lado, tolerância denota capacidade específica dos biofilmes e que, se perde após a dispersão das células. Graças a essas características, sugere-se que o biofilme possa ser visto como uma fortaleza, na qual resistência antimicrobiana, tolerância e sobrevivência formam os pilares (FLEMING; RUMBAUGH, 2017).

Os fatores de risco para a formação de biofilmes são diabetes, insuficiência venosa, desnutrição, câncer, antibioticoterapia, internação prolongada e sistema imunológico do hospedeiro. O uso de implantes, próteses, cateteres e outros dispositivos favorecem a formação de biofilmes, o que muitas vezes leva a infecção associada à utilização desses dispositivos. Além disso, feridas, endocardite, periodontite, osteomielite e dermatite atópica podem estar associadas a biofilmes (DRAGO *et al.*, 2019).

Muitas doenças infecciosas são causadas ou exacerbadas pelos biofilmes. Doenças infecciosas orais são exemplos de interações dinâmicas entre microrganismos, hospedeiro e a dieta do hospedeiro, que levam ao estabelecimento de biofilmes patogênicos ou placa dental (BOWEN *et al.*, 2018).

*Streptococcus suis* é uma bactéria Gram positiva, importante agente zoonótico que pode causar artrite, meningite, broncopneumonia, septicemia e outras doenças em humanos e animais que podem estar relacionadas com a formação de biofilmes, podendo, portanto, comprometer seriamente a saúde pública. A Figura 4 explica como se dá a formação do biofilme por *Streptococcus suis*.



**Figura 4:** Diagrama esquemático e micrografia eletrônica de varredura de diferentes etapas na formação de biofilme de *Streptococcus suis*. As diferentes etapas da formação de biofilme incluem a fixação inicial de bactérias plancônicas à superfície sólida, fixação irreversível ao longo da superfície em camada única de formação e micro colônias, fusão de microflora múltipla e crescimento para cima, maturação do biofilme com formação de uma estrutura tridimensional e dispersão celular.

Fonte: Adaptado de Yi *et al.* (2020).

Além de bactérias, leveduras do gênero *Candida* também tem a capacidade de formar biofilmes. A *Candida albicans* é a espécie mais relacionada à candidíase oral, graças a sua capacidade de produzir biofilmes em próteses que se tornam reservatórios de fungos (BÉRGAMO *et al.*, 2018; BRITO *et al.*, 2020).

As infecções crônicas por biofilmes são persistentes e muito difíceis de erradicar. Muitas vezes elas respondem incompletamente aos antibióticos prescritos com base na concentração inibitória mínima e geralmente o quadro se repete quando o tratamento termina, por isso a aplicação da concentração inibitória mínima para tratamento de feridas crônicas e infecções relacionadas à presença de biofilmes costuma ser menos efetiva (OMAR *et al.*, 2017).

As feridas crônicas representam um ambiente ideal para a formação de biofilmes devido à adesão de microrganismos facilitada pela presença de tecido necrótico e detritos. Estudos mostram que os biofilmes estão presentes em 60-80% dos pacientes

com feridas crônicas infectadas e apenas 6% em portadores de feridas com infecções agudas (DRAGO *et al.*, 2019).

Curativos bioativos e algumas formulações naturais, polímeros sintéticos e semissintéticos são empregados como suporte na cura de feridas. O desenvolvimento desses materiais tem grande potencial para melhorar a regeneração tecidual na cicatrização de feridas principalmente na forma de *scaffolds* que permitem a adesão, migração e proliferação de várias moléculas de sinalização que induzem a remodelação e cicatrização de feridas (SHAH *et al.*, 2019).

## 1.2 MATERIAIS PIEZOELÉTRICOS

Os materiais piezoelétricos estão cada vez mais sendo alvo de pesquisa na área biomédica. Isso se deve a sua interessante propriedade de gerar campos elétricos mediante a aplicação de tensões mecânicas (GENCHI *et al.*, 2016; RIBEIRO *et al.*, 2018).

Capazes de fornecer sinais elétricos sem a necessidade de um dispositivo de estimulação externa e, além disso, melhorar o ambiente elétrico fisiológico para estimular o reparo dos tecidos (TANDON; BLAKER; CARTMELL, 2018).

A palavra “piezo” é originária da palavra grega “piezin” que significa pressão, assim piezoeletricidade pode ser traduzida como “eletricidade induzida por pressão”. Biomateriais que exibem características piezoelétricas possuem comportamento eletromecânico ao transformar energia mecânica em polarização elétrica sem a aplicação de tensão externa (KAPAT *et al.*, 2020). São considerados inteligentes devido ao fato de traduzirem a pressão mecânica sobre eles em sinais elétricos.

O requisito básico do material para exibir piezoeletricidade depende de sua estrutura cristalina. Esses materiais possuem uma grande variedade de aplicações como transdutores, atuadores e sensores. Além disso, tem aplicações significativas na engenharia de tecidos como biomaterial eletroativo para reparação de tecidos como o neuronal, reparação e regeneração da pele, ossos e cartilagens (JACOB *et al.*, 2018).

### 1.3 POLÍMERO PVDF E O COPOLÍMERO P(VDF-TrFE)

A atividade piezoelétrica do polímero polifluoreto de vinilideno (PVDF) foi relatada por Kawai, em 1969. O PVDF é um polímero semicristalino amplamente utilizado em muitas aplicações como transdutor eletroacústico, sensor de pressão e memória ferroelétrica de acesso aleatório. A fase  $\beta$  é fortemente polar e exibe melhores opções piezoelétricas e ferroelétricas. Como o PVDF tem alto teor de fase  $\beta$  é o polímero piezoelétrico mais aplicado em sistemas eletromecânicos flexíveis (LI *et al.*, 2019).

O PVDF é comumente utilizado em membranas para destilação devido a sua estabilidade química, momento dipolo também muito alto e como eletrólito polimérico para baterias ou também como elemento ativo em dispositivos de captação de energia devido a suas notáveis propriedades piroelétricas e piezelétricas (RUSSO *et al.*, 2018).

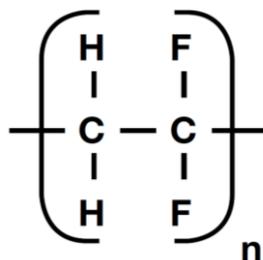
Também possui aplicabilidade na fabricação de microfibras e tem sido muito estudado na área de bioengenharia para a produção de compósitos biocompatíveis, que são responsáveis por induzir crescimento ósseo, síntese de tecidos artificiais e próteses (DIAS *et al.*, 2017). Devido a sua alta flexibilidade e não toxicidade é usado em uma variedade de aplicações biomédicas desde engenharia de tecidos a suportes para dispositivos implantáveis. Seu copolímero, polifluoreto de vinilideno trifluoretileno (PVDF-TrFE) também apresenta citocompatibilidade, e mostrou influência positiva sobre adesão e proliferação celular, além de regeneração de cartilagens neurais e articulares (JACOB *et al.*, 2018).

Estudos anteriores demonstraram que o PVDF e seu copolímero P(VDF-TrFE) possuem ótima flexibilidade mecânica, processamento simples e excelente biocompatibilidade e, por isso são candidatos ideais para a produção de sensores táteis de grande área e captação de energia de atividades humanas (CHEN; HAN; SHEN, 2017).

A produção de misturas e compósitos nas quais se associa propriedades mecânicas às magnéticas resulta no desenvolvimento de polímeros condutores, como o PVDF. Este polímero é facilmente processável em filmes flexíveis, apresenta interessantes propriedades mecânicas, ópticas, térmicas e possui resistência ao ataque de produtos químicos. (DIAS *et al.*, 2017).

Polímero semicristalino hidrofóbico modificado, o PVDF possui baixa energia superficial e boa capacidade de eletrofiliação. Sua energia de superfície em membranas é

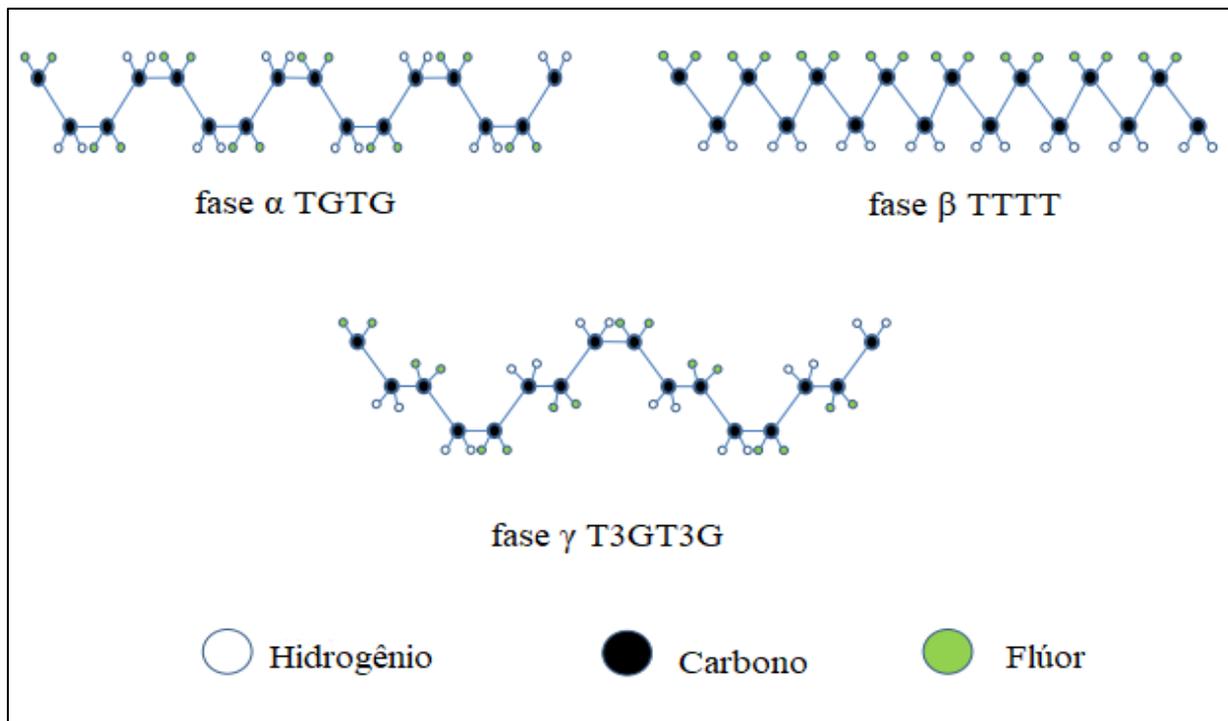
de  $30,3 \times 10^3$  N/m e o ângulo de contato de aproximadamente  $120$  a  $130^\circ$  (AN *et al.*, 2017). É formado por monômeros de fluoreto de polivinilideno ( $\text{CH}_2\text{-CF}_2$ ) como mostrado na Figura (4), apresenta boas propriedades piezoelétricas, resistência química e propriedades mecânicas e é solúvel em solventes polares como dimetilacetamida, dimetilformamida e ésteres, e a polarização do composto ocorre entre os grupos de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CF}_2$  (MARTINS, 2010).



**Figura 5:** Monômero de Polifluoreto de Vinilideno.

Fonte: MARTINS, 2010

A forma cristalina do polímero muda de acordo com o método de preparação, sendo observadas cinco fases diferentes devido ao seu processamento: fase  $\alpha$  (conformação *trans-gauche* TGTG'), fase  $\beta$  (conformação total *trans* TTTT), fase  $\gamma$  (alternância tripla-*trans-gauche* T3GT3G'), fase  $\delta$  (alternância *trans-gauche* TGTG') e  $\epsilon$  (alternância tripla-*trans-gauche*). (TANDON; BLAKER; CARTMELL, 2018). Essas conformações determinam a natureza polar/apolar da cadeia polimérica, como pode ser visto na Figura 6.



**Figura 6:** Desenho esquemático das cadeias do PVDF e suas respectivas fases.

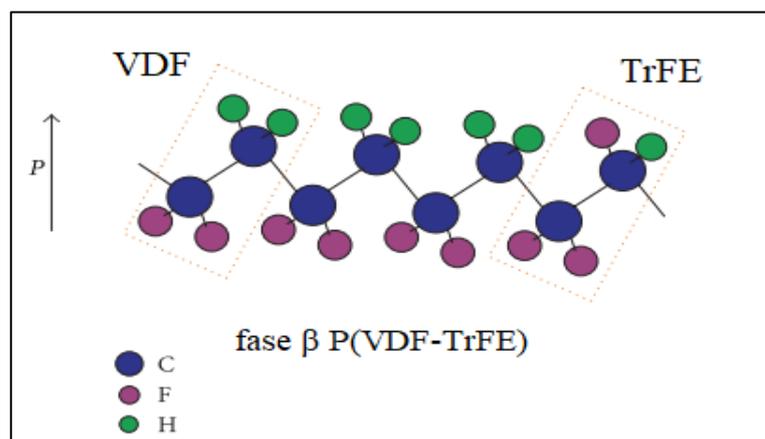
Fonte: Adaptado de Tandon; Blaker; Cartmell. (2018).

A fase que possui maiores características piezoelétricas, piroelétricas e ferroelétricas é a fase  $\beta$  (MARTINS; LOPES; LANCEROS-MENDEZ, 2014), o que o torna um polímero eletricamente ativo. A alta eletronegatividade dos átomos de flúor presente nas cadeias poliméricas e o alinhamento espontâneo dos dipolos C-F na fase  $\beta$  conferem ao PVDF suas propriedades dielétricas (VACCHE *et al.*, 2014; SINGH, GAUR, 2018).

Apesar destas características, a alta hidrofobicidade do PVDF pode dificultar determinadas aplicações influenciando na absorção do material (BERA; MANDAL; SARKAR, 2016). No entanto, é possível atribuir ao polímero características hidrofílicas através da adição de outros componentes durante seu processamento, como, por exemplo, o óxido de grafeno e a cerâmica BaTiO<sub>3</sub>, além de agregar novas propriedades a este material compósito (LARIOS *et al.*, 2018).

O copolímero Poli fluoreto de vinilideno-trifluoretileno, P(VDF-TrFE) apresenta estrutura semicristalina e cristalinidade inferior quando comparado com o PVDF. Porém, se a razão molar de VDF for alterada (variação de 50 a 80% em mols) quando ligado ao TrFE, é possível obter uma conformação muito semelhante a  $\beta$ -PVDF, aumentando assim o as características piezelétricas. O copolímero se cristaliza na fase  $\beta$

independente da técnica de processamento utilizada (COSTA *et al.*, 2013; VACCHE *et al.*, 2012). A fase  $\beta$  do copolímero está representada estruturalmente na Figura 7.



**Figura7:** Estrutura polimérica do P(VDF-TrFE) na fase  $\beta$ .

Fonte: Adaptado de Mai *et al.* (2015).

Uma característica que torna o copolímero P(VDF-TrFE) um material promissor é que este já se encontra na fase  $\beta$ , demonstrando melhores propriedades ferroelétricas quando comparado ao PVDF. Isso ocorre porque os íons de F, C e H possuem alta eletronegatividade entre si e, como o F atrai a maioria dos elétrons, ocorre a polarização dos átomos que compõem o material (BARKOULA *et al.*, 2008). Estudos demonstram que a adição de TrFE no PVDF pode promover a formação da fase  $\beta$  devido ao efeito do impedimento estérico. Baseado nas suas características, o P(VDF-TrFE) tem despertado o interesse de muitos pesquisadores e sua aplicação tem sido expandida em diversos tipos de materiais (LI *et al.*, 2019).

## 1.4 A CERÂMICA BaTiO<sub>3</sub>

O titanato de bário (BaTiO<sub>3</sub>) é um material ferroelétrico com diversas aplicações, o qual se destaca por sua alta permissividade dielétrica, baixas perdas dielétricas e ótimas propriedades piroelétricas e piezoelétricas (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

O BaTiO<sub>3</sub> foi o primeiro material cerâmico onde a ferroeletricidade foi descoberta e também o primeiro material piezoelétrico a ser testado para reparo ósseo,

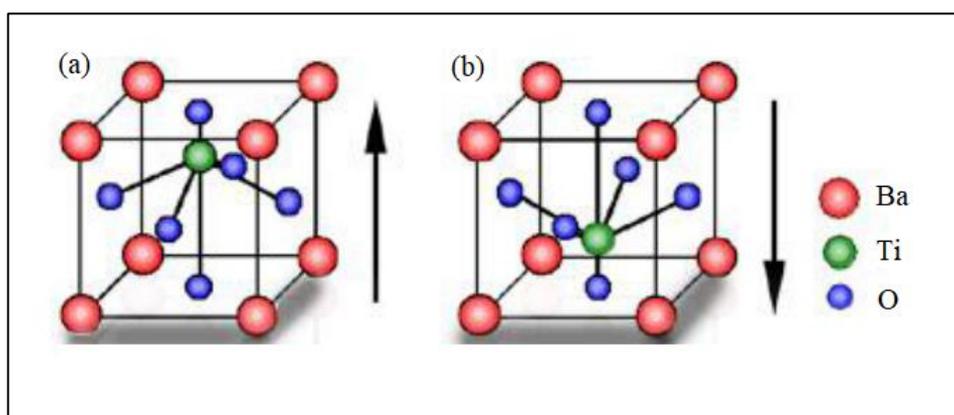
com excelente biocompatibilidade e promoção de alto grau de crescimento (ACOSTA *et al.*, 2017). Pode apresentar cinco tipos de estruturas cristalinas diferentes: hexagonal, cúbica, tetragonal, ortorrômbica e romboédrica na forma  $ABO_3$  onde A e B são cátions metálicos e O representa o oxigênio. A forma estrutural cúbica é a mais comum e conhecida por perovskita (NEIVA *et al.*, 2017).

Os titanatos fazem parte dos materiais cerâmicos dielétricos e semicondutores, apresentando assim grande potencial para aplicações tecnológicas (MAGALHÃES *et al.*, 2017). Apresentam vantagens como alta rigidez, bons coeficientes piezoelétricos e tem baixa toxicidade devido a sua insolubilidade (SU *et al.*, 2020).

A toxicidade do  $BaTiO_3$  a longo prazo é frequentemente estudada porque, como a maioria das perovskitas, exibe dissolução de íons em fluídos biológicos. Além disso, estudos demonstraram que íons  $Ba^{+2}$  podem ser absorvidos pelo material ósseo inorgânico e que  $Ba^{+2}$  é incorporado em matriz óssea da mesma forma que o cálcio, porém sem efeitos prejudiciais ao tecido (ACOSTA *et al.*, 2017).

Segundo Oscarson. (2015), a toxicidade dos compostos de bário depende da sua solubilidade. Após absorção  $Ba^{+2}$  se acumula no esqueleto e é insolúvel, por isso é pouco provável que cause efeitos adversos.

A estrutura cristalina da cerâmica está representada na Figura 8. Neste caso, observa-se uma estrutura cúbica, formada por átomos de Ba nos vértices (A), átomos de Ti no centro da célula unitária (B) e átomos de O no centro das faces do cubo, caracterizando assim a estrutura perovskita  $ABO_3$ .



**Figura 8:** Estrutura Perovskita tetragonal do  $BaTiO_3$ . (a) Deslocamento do átomo de Ti induzindo uma polarização paralela à direção do campo aplicado; (b) Deslocamento do átomo de Ti induzindo uma polarização contrária à (a) através da aplicação de um campo oposto.

Fonte: Adaptado de Almadhoun (2011).

Esta cerâmica demonstrou ser biocompatível em diversos estudos *in vitro* e *in vivo*, além de indicar alto potencial regenerativo em materiais a base de BaTiO<sub>3</sub> como implantes. Ainda, a mesma é capaz de induzir a proliferação celular e a osteoindução graças as suas propriedades ferromagnéticas (GIMENES *et al.*, 2019).

## 1.5 PVDF E SEUS COMPÓSITOS COMO BIOMATERIAL

Materiais inertes, porosos, permeáveis e mecanicamente estáveis são necessários para apoiar aplicações biomédicas que estarão em contato direto com o sangue (ARUMUGAM *et al.*, 2019). O desempenho biológico de um material depende da sua capacidade de imitar o microambiente e induzir resposta celular. Essa propriedade é demonstrada em alguns materiais piezoelétricos, inclusive o PVDF (TANDON; BLAKER; CARTMELL, 2018).

O polímero PVDF e seus copolímeros são muito utilizados como biomateriais devido a sua melhor resposta eletroativa e suas respostas piezo, piro e ferroelétricas quando comparados aos demais polímeros. Estes materiais possuem alta flexibilidade e são biocompatíveis, conferindo aos mesmos uma variedade de aplicações, possuem alta resistência química e física, além de propriedades termoplásticas. No entanto esse material não é biodegradável, o que limita sua aplicabilidade (JACOB *et al.*, 2018).

Recentemente, materiais a base de carbono e PVDF carregados eletricamente condutivos e piezoelétricos se mostram mais favoráveis nos estudos *in vitro*. Biomateriais eletricamente carregados e condutores favorecem a aderência, proliferação e maturação de uma ampla variedade de linhagens celulares. Tem sido reportado também como influência positiva no crescimento, desenvolvimento e diferenciação de fibroblastos, células neonatais e células tronco (ARUMUGAM *et al.*, 2019).

O P(VDF-TrFE) é um copolímero biocompatível com excelente estabilidade química e pode suportar o crescimento celular, o que faz dele um material promissor para a construção de revestimentos bioativos. Revestimentos bioativos são projetados para promover estabilidade química, visando prevenir efeitos colaterais tóxicos ou respostas inflamatórias dos implantes, bem como potencializar a osteocondutividade (TANG *et al.*, 2020).

Segundo ADADI *et al.*, 2020 fibras piezoelétricas de P(VDF-TrFE) são flexíveis, de baixo custo, leves, biocompatíveis e podem ser utilizadas para a aplicação em reparos cardíacos. Sua estrutura fornece morfologia para apoiar o crescimento e a adesão das células, sua porosidade permite a infiltração e facilita a difusão para a regeneração do tecido. Além disso, tem a capacidade de fornecer informações sobre a atividade contrátil do tecido de reparo.

Estudos recentes mostraram que o copolímero influencia positivamente na adesão e crescimento de células osteoblásticas e fibroblastos, além de serem adequadas em aplicações para reparação e regeneração de tecidos (NUNES-PEREIRA *et al.*, 2015; LOPES *et al.*, 2016).

A mistura de polímeros e cerâmicas gera novos biomateriais com potencial capacidade de regeneração do tecido ósseo combinando com características vantajosas de resistência, flexibilidade e fácil processabilidade de polímeros e fortes respostas piezoelétricas da cerâmica (LOPES *et al.*, 2013; SPICER, 2020).

Membranas de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> combinam características mecânicas dos polímeros com a biocompatibilidade das cerâmicas e sua utilização pode ser uma alternativa benéfica em procedimentos que requerem regeneração óssea e, conseqüentemente podem ser exploradas como alternativa no tratamento da regeneração tecidual que envolve o uso de biomateriais e em tratamento de doenças como a osteoporose (SCALIZE *et al.*, 2016).

Materiais piezoelétricos promovem o crescimento de pele, acelerando a cicatrização de feridas (DU *et al.*, 2020) e, além disso a porosidade facilita a transferência de nutrientes e formação da vascularização, possibilitando rápida regeneração dos tecidos (ALDALBAHI *et al.*, 2020).

PVDF e seus compósitos são biocompatíveis e a piezoelectricidade causada pela deformação mecânica pode melhorar a atividade de fibroblastos *in vivo* e *in vitro*, por isso são potenciais candidatos para aplicações em cicatrização de feridas (GUO *et al.*, 2020).

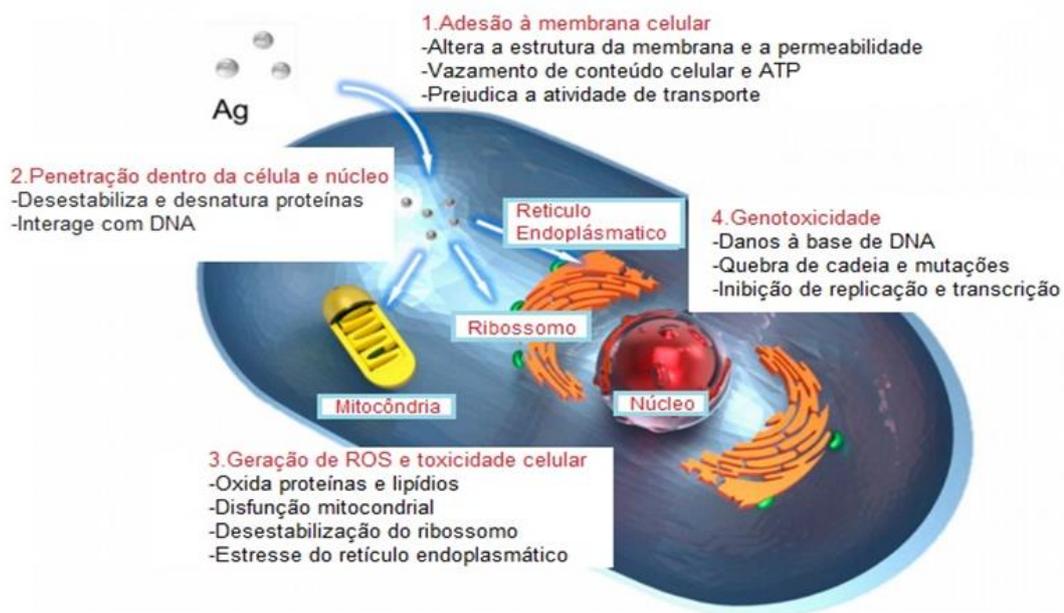
## 1.6 PRATA COMO AGENTE ANTIMICROBIANO

A incorporação de materiais com propriedades biocidas tem sido considerada uma maneira eficaz de conferir propriedades antimicrobianas a membranas. Dentre esses materiais se destaca a prata, que quando introduzida dentro das membranas inibe efetivamente o crescimento de células bacterianas e evita a formação de biofilmes na superfície das mesmas (ZENG *et al.*, 2016).

A prata (Ag) é um metal de transição, altamente condutor e estável e atua como agentes anti-incrustantes, sua principal aplicação biomédica. A incorporação de Ag em membranas de polímeros reduz drasticamente a adesão bacteriana sem alterar as propriedades das membranas. A mudança na adesão bacteriana é atribuída à lise da célula, ligação de proteína citosólica e a presença de espécies reativas de oxigênio (ROS) (BROKESH; GAHARWAR, 2020; ZAKIA *et al.*, 2020).

Desde 1857 a prata ocupa um lugar fundamental na medicina como um dos primeiros agentes antimicrobianos empregados para prevenir e tratar infecções em feridas. O uso da prata era limitado a sua forma elementar ( $\text{Ag}^0$ ) ou como nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ). Um grande avanço na tecnologia ocorreu com a introdução de prata nos curativos, o que demonstrou maior eficácia devido a maior oxidação da superfície e formação de óxido de prata. Nesse processo cria-se um reservatório de íons prata ( $\text{Ag}^+$ ) disponíveis e ocorre liberação de hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) no leito da ferida e o resultado é uma atividade altamente eficaz contra os microrganismos (KALAN *et al.*, 2017).

Materiais contendo prata estão sendo utilizados em vários campos da medicina, devido às suas características físicas, químicas e antimicrobianas. A ação antibacteriana da Ag ainda não está bem elucidada (LEE; JUN, 2019; CIOBANU; ILISEI; LUCA, 2014). Alguns mecanismos propostos para explicá-la estão representados na Figura 9.

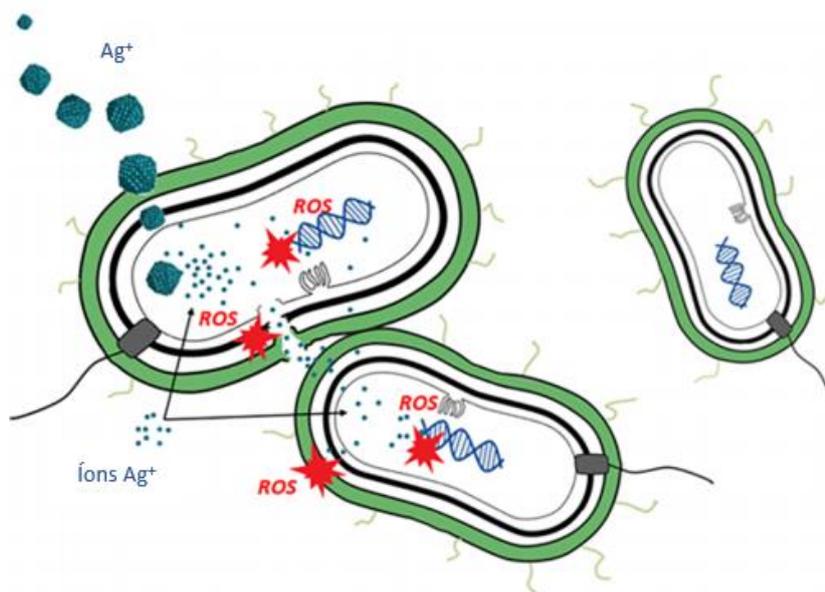


**Figura 9:** As quatro principais vias do mecanismo citotóxico da Ag: 1, Ag adere à superfície de uma célula danificando sua membrana e alterando a atividade de transporte; 2, Ag penetra dentro da célula e interagem com inúmeras organelas celulares e biomoléculas, que podem afetar a função celular correspondente; 3, Ag participa na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) dentro da célula levando a um dano celular e; 4, Ag induz genotoxicidade.

Fonte: Adaptado de Lee; Jun. (2019).

A ação da prata depende do tipo de composto de prata envolvido e de seu alvo celular. Parece, porém, que os compostos biologicamente ativos estão sempre em sua forma catiônica,  $Ag^+$ , seja liberada no organismo a partir de sais de prata, complexos ou nanopartículas. Os mecanismos citotóxicos dos íons prata são baseados em uma série de danos causados pelo  $Ag^+$  nas células bacterianas ou cancerígenas (MEDICI *et al.*, 2016; EBRAHIMINEZHAD *et al.*, 2016). Outra hipótese para explicar o mecanismo de ação antimicrobiana da prata é que os íons  $Ag^+$  podem formar ligações químicas com os grupos tióis (-SH) presentes nos aminoácidos, causando alteração na permeabilidade da célula bacteriana ocasionando sua morte ou íons  $Ag^+$  podem interagir com o ácido desoxirribonucleico (DNA) da bactéria impedindo a reprodução celular. O uso da prata é particularmente interessante porque comumente não induz resistência bacteriana (BOTELHO *et al.*, 2020).

Um mecanismo interessante da atividade bactericida é o efeito “zumbi”, onde as espécies metálicas não são desativadas pela morte da bactéria e podem exercer seu efeito bactericida repetidamente. Bactérias mortas por prata servem como reservatório de liberação de cátions letais e são capazes de induzir a morte em bactérias vivas quando entram em contato com estas (WAKSHLAK; PEDAHZUR; AVNIR, 2015). O efeito “zumbi” está ilustrado na Figura 10.



**Figura 10:** Efeito zumbi de bactérias mortas pela prata que se tornam mortais para outras bactérias.

Fonte: MEDICI *et al.* (2019).

A prata exibe eficiência de inibição contra diferentes tipos de microrganismos patogênicos, por isso é utilizada como antibacteriano, antifúngico, em cateteres, curativos para feridas e cremes para curar queimaduras na pele (ELMEHBAD; MOHAMED, 2020). A atividade antibacteriana dos íons prata ( $\text{Ag}^+$ ) é diretamente proporcional à sua concentração, biodisponibilidade e depende do microrganismo alvo, apesar disso, tem se mostrado eficiente mesmo em pequenas concentrações (MAILLARD, HARTEMANN, 2013; STARON *et al.*, 2020).

Íons de prata podem formar compostos insolúveis com os grupos sulfidríla na parede celular de bactérias. Quando isso ocorre, há comprometimento das funções de enzimas, transporte de elétrons e consequente bloqueio da cadeia respiratória (MENDES *et al.*, 2012).

Aprimoramento nas formulações com prata e curativos para feridas representa importante inovação para tecnologia, pois novas opções terapêuticas para prevenção e controle de infecções em feridas são extremamente necessárias para melhorar a qualidade de vida dos pacientes bem como diminuir a taxa de mortalidade (KALAN *et al.*, 2017).

Portanto, baseados em todos os dados descritos o presente trabalho teve como objetivo desenvolver membranas porosas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/ BaTiO<sub>3</sub>, associá-las com a prata e avaliar a biocompatibilidade e atividade microbiológica dos mesmos para serem utilizados como curativos no tratamento de feridas.

## 2 OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver membranas de PVDF/ BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>, associadas ou não a AgNO<sub>3</sub>, e avaliar a possível atividade antimicrobiana das membranas visando aplicação na área biomédica, em especial como curativo para feridas.

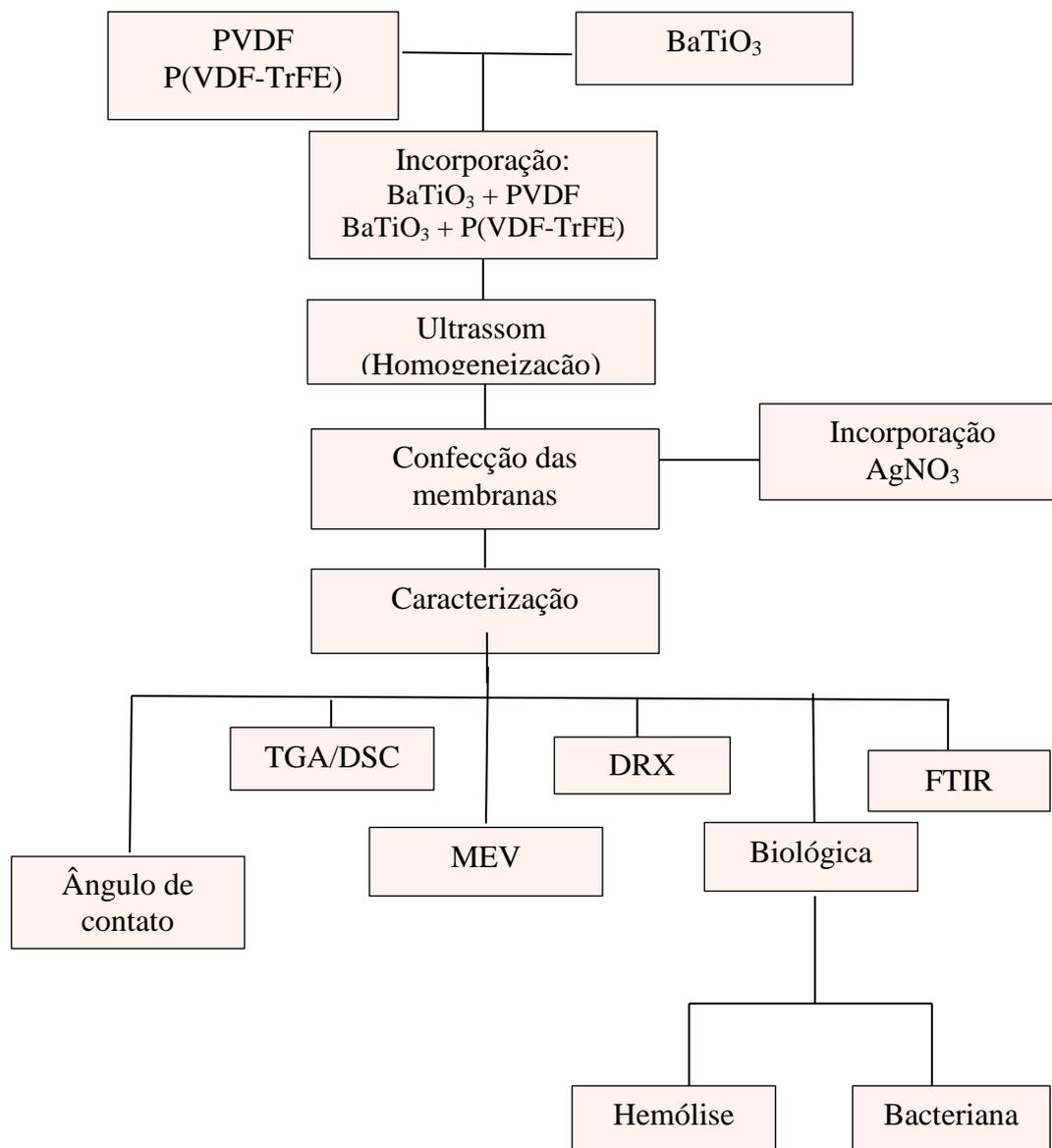
### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- \* Produzir as membranas dos compósitos PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> e impregnar com prata;
- \* Caracterizar os compósitos PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> isolados e impregnados com prata;
- \* Avaliar a molhabilidade das membranas através da determinação do ângulo de contato;
- \* Estudar a hemocompatibilidade das membranas isoladas e associadas com a prata;
- \* Avaliar a atividade microbiológica das membranas através do método de Kirby Bauer e formação de biofilmes.

## 3 MÉTODOS E DESCRIÇÃO DA PESQUISA

### 3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental desse trabalho está representado na Figura 11



**Figura 11:** Delineamento experimental desse trabalho.

### 3.2 CONDICIONAMENTO DO PÓ TITANATO DE BÁRIO (BaTiO<sub>3</sub>)

O pó Titanato de Bário adquirido comercialmente (Sigma Aldrich, 99,9%, <2 µm, BaTiO<sub>3</sub>) foi calcinado utilizando-se um forno mufla a uma temperatura de 1380°C por um período de 4 horas. Essa calcinação aumenta as partículas da cerâmica e evita a formação de contaminantes, como o BaCO<sub>3</sub>. Após a calcinação foi adicionado 20 mL de álcool isopropílico ao pó e esta mistura foi levada ao moinho planetário de alta energia, em jarro de ágata de 50 mL e bolas de moagem com diâmetro de 5 mm. As bolas ocupavam  $\frac{3}{4}$  do volume total. O moinho planetário foi utilizado a uma frequência de 40 Hz por 1 hora. Em seguida, a mistura foi seca em estufa a 60°C por um período de 24h. Após o período de secagem, utilizou-se um almofariz/pistilo de porcelana para promover a desaglomeração das partículas.

### 3.3 SÍNTESE DAS MEMBRANAS DOS COMPÓSITOS PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> E IMPREGNAÇÃO DA PRATA

A síntese dos compósitos foi realizada em laboratório com temperatura controlada de 25°C. Pastilhas de Polifluoreto de vinilideno e pós de Poli (fluoreto de vinilideno-trifluoretileno) utilizados para a síntese foram adquiridos comercialmente. O Polifluoreto de vinilideno (PVDF) (Kynar<sup>®</sup>) utilizado para a síntese do compósito em estudo foi pesado. A massa de 4,806 g deste polímero foi dispersa em 32 mL de Dimetilformamida (99,8%, Sigma Aldrich, DMF) e solubilizada a 50°C.

O P(VDF-TRFE) (Arkema Piezotech FC 20) possui em sua composição 20% (em mol) de TrFE e 80% (em mol) de PVDF. A massa de 4,914 g deste copolímero foi dispersa em 32,76 mL de Dimetilformamida (99,8%, Sigma Aldrich, DMF) na proporção de 15g/100 mL e solubilizada a 50°C.

Após a completa dissolução dos copolímeros, o pó de BaTiO<sub>3</sub> foi lentamente adicionado às soluções de PVDF/DMF e de P(VDF-TrFE)/DMF até sua total dispersão. Em seguida, as dispersões foram submetidas por 6 minutos em ultrassom de alta potência, sob refrigeração em banho de água/gelo para serem homogêneas.

Para a confecção das membranas as misturas homogêneas foram depositadas em pulverizador comercial e posteriormente pulverizadas em refratários contendo água

deionizada como mostra a Figura 12. A distância entre o pulverizador e o refratário foi de aproximadamente 200 mm.



**Figura 12:** Representação da confecção das membranas.  
Fonte: Autor

Em seguida as membranas foram retiradas da água e colocadas em estufa a 100°C por 12 horas para garantir a completa evaporação do solvente e de gotículas de água residuais (SIMÕES, 2018).

Para a síntese dos compósitos foram utilizadas concentrações de 10% em volume da cerâmica BaTiO<sub>3</sub>. Para calcular a massa do copolímero em relação à cerâmica, foi utilizado a Equação 1 (GIMENES, 2005) :

$$m_{cerâmica} = (\phi \cdot \rho_{cerâmica} \cdot m_{copolímero}) \div (1 - \phi) \cdot \rho_{copolímero} \quad (1)$$

onde  $\phi$  corresponde à fração volumétrica de cerâmica no compósito.

Após a síntese das membranas foi realizada a impregnação de algumas amostras com a prata. As amostras foram imersas em 50 mL de solução 0,5M de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) recém preparada com pH 6,5 a  $22^\circ\text{C}$  por um período de 48 horas. Após esse tempo, as amostras foram cuidadosamente imersas em água destilada para lavagem das mesmas e depois secas a  $60^\circ\text{C}$  por 24 horas (CIOBANU; ILISEI; LUCA, 2014).

### **3.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)**

A análise térmica é um conjunto de técnicas que estuda as relações entre as propriedades da amostra e a temperatura, enquanto a amostra passa por processos de aquecimento ou resfriamento de maneira controlada (BANNACH; PERPÉTUO, 2011). A análise termogravimétrica permite observar as variações de massa da amostra e estabilidade térmica do material em determinada temperatura e a calorimetria diferencial de varredura possibilita a caracterização das alterações cristalinas do composto em estudo, tais como temperatura de fusão e cristalização, transição vítrea e de Curie (GIMENES, 2005).

Assim, submeteu-se as membranas de PVDF/ $\text{BaTiO}_3$  e P(VDF-TrFE)/ $\text{BaTiO}_3$  com e sem prata ao equipamento da Mettler Toledo TG 50 pertencente ao laboratório de Biomateriais da UNIFEI/Itajubá, à uma faixa de temperatura de  $25^\circ\text{C}$  a  $1000^\circ\text{C}$  e taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}$  por minuto para análise termogravimétrica. O gás de arraste empregado na análise foi o  $\text{N}_2$ .

Para a calorimetria diferencial de varredura o equipamento utilizado foi Shimadzu DSC 60 do laboratório de Biomateriais da UNIFEI/Itajubá. As medidas foram realizadas na faixa de temperatura de  $100^\circ\text{C}$  a  $250^\circ\text{C}$  a uma taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}$  por minuto, sob atmosfera de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) e fluxo de gás de 50 mL/min.

### **3.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO**

A espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica que permite a análise da interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética. Dessa forma, como as moléculas possuem um arranjo específico de átomos, a absorção da radiação infravermelha (IV) por moléculas orgânicas ocorre em

frequências específicas possibilitando a caracterização das ligações e átomos em bandas características (SOLOMONS, 2011).

No presente trabalho utilizou-se o FTIR para estudar a fase cristalina  $\beta$  presente nas membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> isoladas e impregnadas com a prata, onde as membranas foram colocadas diretamente no equipamento na posição do feixe luminoso. As análises foram realizadas no intervalo de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup> e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>. Para cada amostra realizou-se 16 varreduras no equipamento Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spectrometer da Central Analítica do Instituto de Físico-Química (IFQ) da UNIFEI/Itajubá.

### **3.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) e EDS**

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é um instrumento utilizado na caracterização da topografia da superfície, composição e propriedades de um determinado material, uma vez que gera imagens com grande profundidade de foco, o que permite avaliar o tamanho e morfologia das partículas (FERREIRA, 2016).

Espectroscopia por energia dispersiva (EDS) é uma análise feita em conjunto com o MEV, utilizada para mapear os elementos da amostra (LUGG *et al.*, 2015). Permite mapeamento de superfície para detectar quase todos os elementos, exceto H, He, Li e Be (BAHARRA *et al.*, 2018).

Utilizou-se a técnica para avaliar a distribuição das partículas dos pós cerâmicos na matriz polimérica após a síntese das membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> com e sem prata, estudar a porosidade das membranas e confirmar a incorporação da prata.

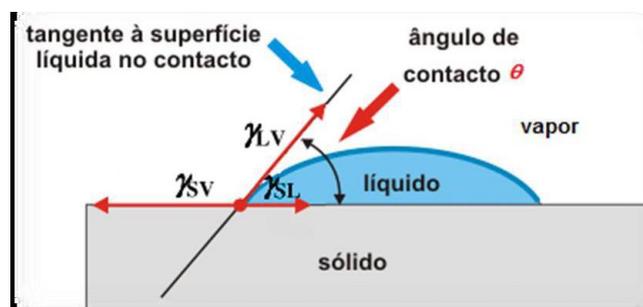
Foi utilizado o Microscópio Eletrônico da marca Shimadzu, Modelo SS-550, do laboratório de microanálise da UNIFEI/Itajubá. As membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> isoladas e com prata foram analisadas diretamente no aparelho, com utilização de elétrons secundários e metalizadas com ouro.

### **3.7 MOLHABILIDADE**

O ângulo de contato caracteriza a hidrofiliabilidade da superfície se a água tiver sido utilizada como agente umectante. Ângulos de contato inferiores a 90° designam as superfícies como hidrofílicas e indica que o umedecimento da superfície é favorável e o

fluido se espalhará por uma grande área, enquanto as superfícies com ângulos de contato acima de  $90^\circ$  são consideradas hidrofóbicas e geralmente significa que o umedecimento da superfície não é favorecido (STRNAD *et al.*, 2016).

A molhabilidade é uma propriedade físico-química das superfícies que permite a compreensão da tendência ou não de espalhamento de um líquido sobre a superfície de um material. Uma das técnicas mais comuns baseia-se na teoria de Young-Laplace, onde se mede a tangente entre uma gota de líquido e a superfície do material, conforme a Figura 13 representa. Assim, pode-se definir se o material é hidrofóbico ou hidrofílico, quando o líquido utilizado é a água (FARIAS, 2016).



**Figura 13:** Representação da medição do ângulo de contato.

Fonte: Farias, 2016.

No presente trabalho, avaliou-se o ângulo de contato pelo método de gota séssil, onde  $10 \mu\text{L}$  de água deionizada foram depositados sobre a superfície das amostras de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> com e sem prata na temperatura controlada de  $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ . Foram realizadas 4 medidas com intervalos de 20 minutos. Para a análise utilizou-se o goniômetro Kruss Easy Drop pertencente ao Laboratório de Central Analítica da UNIFEI – Itajubá.

## 3.8 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

### 3.8.1 DISCO DIFUSÃO EM ÁGAR

Disco difusão em ágar (Método de Kirby Bauer) é o mais antigo método de teste de sensibilidade aos antimicrobianos utilizado na prática clínica em laboratórios. Trata-se de um método versátil e permite testar a maioria das bactérias patogênicas. Para a

realização dos testes foram utilizadas as normas do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BRCAS- EUCAST, 2021).

Foram preparadas duas suspensões bacterianas: *Staphylococcus aureus* American Type Culture Collection (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* American Type Culture Collection (ATCC 27853). Após o preparo, as suspensões foram ajustadas em densitômetro para a escala 0,5 de MC Farland, ilustrado na Figura 14, o que corresponde a  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Posteriormente, com o auxílio de *swab* estéril, as suspensões foram semeadas em placas de ágar Mueller Hinton e a seguir, as membranas, previamente preparadas foram adicionadas ao meio. Como controle, discos comerciais de penicilina e meropenem foram adicionados às placas com *S.aureus* e *P.aeruginosa*, respectivamente.

As placas foram incubadas em estufa microbiológica a 35°C por 18 horas e, após esse tempo foram realizadas as medidas do diâmetro dos halos de inibição.

Os testes foram feitos em triplicata e as análises estatísticas foram realizadas usando análise de variância (ANOVA) e o pós-teste de Tukey. Os valores foram expressos como a média  $\pm$  erro padrão com  $n = 3$  e  $P < 0,05$  como nível de significância (DA SILVA et al., 2021)



**Figura 14:** Representação do ajuste da suspensão para a escala 0,5 de MC Farland.

Fonte: Autor.

### 3.8.2 FORMAÇÃO DE BIOFILMES

Os testes para avaliar a formação do biofilme foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Centro de Estudos, Investigação e Inovação em Materiais Biofuncionais da UNIFEI/Itajubá, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Daniela Sachs. Para o estudo, utilizou-se a cepa *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), uma vez que a presença dessas bactérias em feridas é fortemente observada (BARRETO *et al.*, 2015; CEFALU *et al.*, 2017).

Os ensaios foram realizados de acordo com Pinheiro *et al.* (2020). Inicialmente preparou-se os meios de cultura infusão de cérebro e coração (BHI) na forma de caldo e ágar, de acordo com as especificações do fabricante. Ambas as soluções foram esterilizadas em autoclave a 127°C por um período de 15 minutos juntamente com todos os materiais que seriam utilizados nos testes.

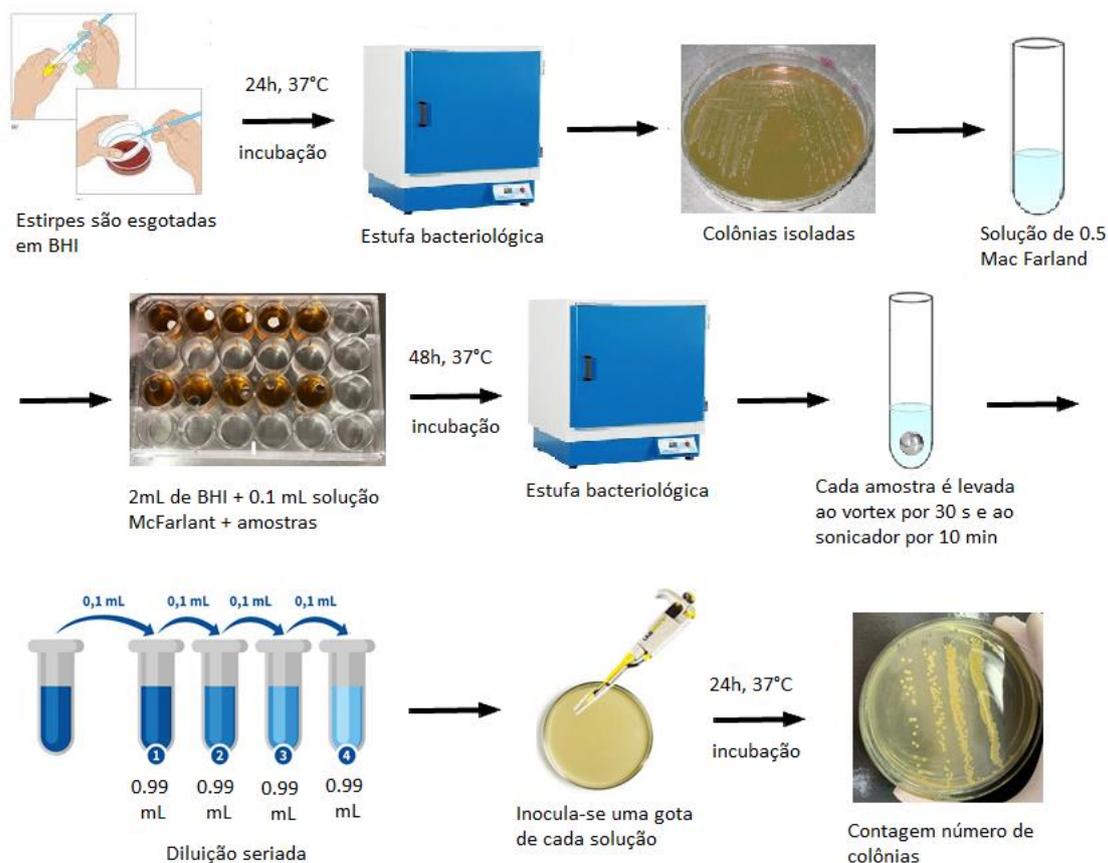
O meio de cultura BHI-ágar foi distribuído em placas de Petri, onde as estirpes de bactérias foram inoculadas. Após, incubou-se as placas em estufa microbiológica a 37°C por 24 horas. Colônias isoladas das placas foram adicionadas em um tubo de ensaio com 3 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% estéril até obter-se a turbidez 0,5 na escala Mc Farland ( $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>).

Para realizar o ensaio, as amostras foram subdivididas em dois grupos: Grupo Teste (G<sub>T</sub>): amostras de PVDF/ BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> impregnadas com prata e Grupo Controle (G<sub>C</sub>): amostras de PVDF/ BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>.

Em uma placa contendo 24 poços adicionou-se 2 mL de caldo BHI suplementado com 1% de glicose para a formação de biofilme e 100 µL da suspensão do inóculo bacteriano correspondente a 0,5 na escala de Mac Farland em cada poço. Em seguida, as amostras de controle e impregnadas com prata foram colocadas em cada poço e levadas para a estufa por 48 horas à 37° C.

Posteriormente as amostras foram colocadas em tubos Falcon com 3 mL de solução de cloreto de sódio 0,9%, levadas ao agitador vórtex modelo MA-162 e marca Marconi por 2 minutos e lavadas em ultrassom, modelo USC-1400A e marca Unique por 10 minutos, para a dispersão dos biofilmes e obtenção de uma solução bacteriana pura. A partir dessa solução, realizou-se uma diluição seriada onde foram obtidas concentrações de 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-6</sup> e 10<sup>-8</sup>. Após, 20 µL do inóculo bacteriano foi aplicado na parte superior da placa deixando a gota escorrer até o final. Incubou-se por 24h a 37°C.

A Figura 15 representa o procedimento de cultivo do biofilme:



**Figura 15:** Representação do procedimento de cultivo do biofilme.

Fonte: Autor.

Por fim, avaliou-se o crescimento das colônias na superfície das placas, as quais foram quantificadas através do cálculo das Unidades Formadoras de Colônias (UFC), descrita na Equação 2 (ZHENG *et al.*, 2012):

$$UFC (mL^{-1}) = \frac{n^{\circ} \text{ de colônias}}{\text{diluição da amostra} \times \text{volume inoculado}} \quad (2)$$

Procedeu-se os cálculos através do software GraphPad Prism, onde os valores obtidos foram transformados em  $\log_{10}$ . Os dados obtidos foram analisados por ANOVA e as diferenças foram avaliadas pelo pós-teste de Tukey, na qual os valores maiores que 0,05 foram considerados significativos.

### 3.9 ENSAIO DE HEMOCOMPATIBILIDADE

A hemólise descreve a ruptura dos glóbulos vermelhos e a liberação subsequente de moléculas intracelulares, particularmente após contato com a superfície de materiais. As moléculas liberadas podem induzir ativação plaquetária e aumentar a conversão de protrombina em trombina, ativando a coagulação do sangue. A hemoglobina livre no plasma é o analito clássico para o teste de hemólise (BRAUNE *et al.*, 2019).

Para utilização do material que estará em contato com o sangue é necessário que ele seja considerado não hemolítico (LI *et al.*, 2020)

Para avaliação da hemocompatibilidade realizou-se o teste de hemólise, o qual segundo a ASTM F756-08, é considerado como um teste de citotoxicidade *in vitro* que permite avaliar a sobrevivência ou lise das hemácias, ou seja, a resposta dos glóbulos vermelhos quando o material entra em contato com o sangue. Através da taxa de hemoglobina liberada, é possível determinar se o material pode ser considerado hemolítico, levemente hemolítico ou não hemolítico (DU *et al.*, 2020).

Inicialmente, esterilizou-se as membranas sob ação de luz ultravioleta durante 1 hora. Após, cada membrana foi incubada em 10 ml de solução de cloreto de sódio a 0,9 % e mantida em estufa a 37°C durante 30 minutos, conforme o esquema representado na figura 16.



**Figura 16:** Esquema da preparação das membranas para o ensaio de hemólise.

Fonte: Autor.

Após a preparação das membranas, coletou-se o sangue de um voluntário sadio, a vácuo em tubos contendo o anticoagulante citrato de sódio, sendo que após a retirada, os mesmos foram homogeneizados delicadamente para impedir a coagulação do sangue.

Em seguida, 4 mL do sangue total coletado foram diluídos em 5 mL de solução salina 0,9% a 37°C. Foram retirados 0,2 mL desta solução e adicionados aos tubos

falcon previamente preparados, os quais foram novamente levados à estufa a temperatura de 37°C por 1h. Para os controles, foram preparados dois tubos falcon de 15mL: O primeiro com 10 mL de solução de cloreto de sódio a 0,9 % e 0,2 mL de sangue para o controle negativo, o qual espera-se 0% de hemólise e o segundo com 10 ml de água destilada e 0,2 mL de sangue para o controle positivo, onde deve ocorrer 100 % de hemólise.

Após o período de incubação, centrifugou-se os tubos por 5 minutos a 2500 rpm em uma centrífuga Bio Eng modelo BE 4000 – Brushless do laboratório de análises microbiológicas, situado no prédio Biomateriais na UNIFEI/Itajubá. Ao final, realizou-se a leitura da absorbância do sobrenadante das amostras centrifugadas em um espectrofotômetro Femto C432, no comprimento de onda de 540 nm.

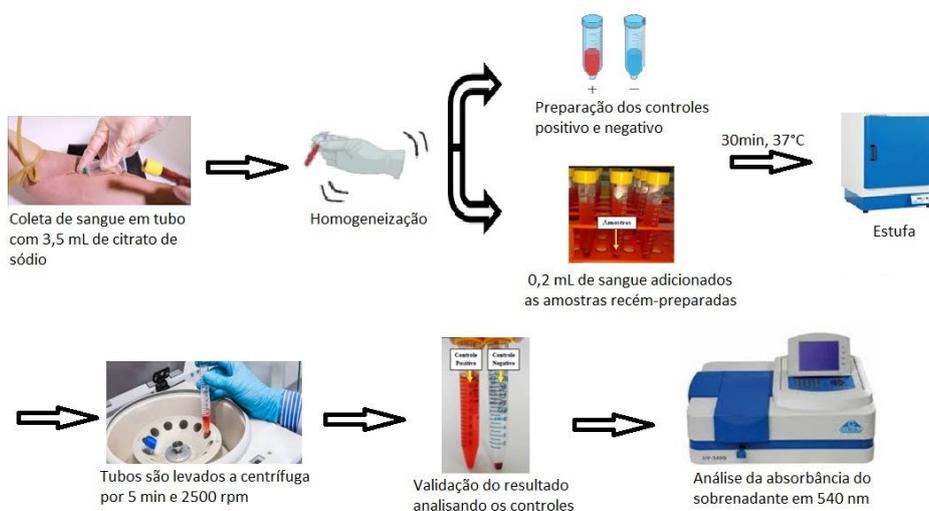
Com os valores de absorbância obtidos das amostras de ambos os grupos, assim como do controle (+) e (-), a taxa de hemólise (%) foi calculada de acordo com a Equação (LIU *et al.*, 2016):

$$R = \frac{(A-Cn)}{(Cp-Cn)} \times 100 \quad (3)$$

Onde A corresponde à absorbância da amostra, Cn à absorbância do controle negativo (-) e Cp à absorbância do controle positivo (+).

Considerou-se  $p < 0,05$  para indicar uma diferença estatística significativa da taxa de hemólise entre os grupos estudados.

O esquema ilustrativo, apresentado na figura 17, representa o ensaio de hemólise acima descrito:



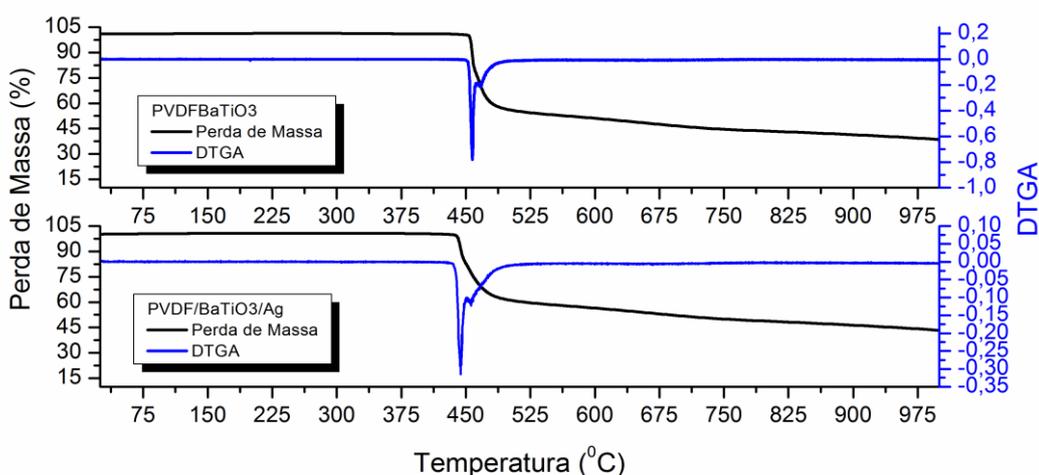
**Figura 17:** Esquema descritivo da técnica de análise de hemólise.  
Fonte: Autor.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG) E CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

A Figura 18 mostra as curvas de degradação térmica do PVDF/BaTiO<sub>3</sub> isolado e associado a prata. Nela podemos observar que o PVDF/BaTiO<sub>3</sub> possui estabilidade térmica até aproximadamente 400°C. A partir dessa temperatura apresenta perda de 62% da sua massa inicial até aproximadamente 500°C, onde a maior velocidade de perda se dá em 457°C como mostra o pico da curva DTGA. Valores semelhantes foram encontrados nos estudos de MENDES *et al.* (2012), FU *et al.* (2015) e SHARMA; QUAMARA; GAUR (2018). Ao final do experimento restaram 38% da massa inicial, o que pode ser atribuído ao BaTiO<sub>3</sub>, uma vez que este não sofre perdas de massa significativas com o aumento da temperatura (HAROON; RAI; UDDIN, 2019).

Com relação à curva termogravimétrica do PVDF/BaTiO<sub>3</sub> associado a prata observa-se que não ocorreram mudanças significativas na degradação térmica do compósito, porém com a adição da prata nota-se um aumento da quantidade de resíduo e da estabilidade térmica do material como visto em SANCHES *et al.* (2015), ULLAH *et al.* (2019) e SUNIL *et al.* (2020).

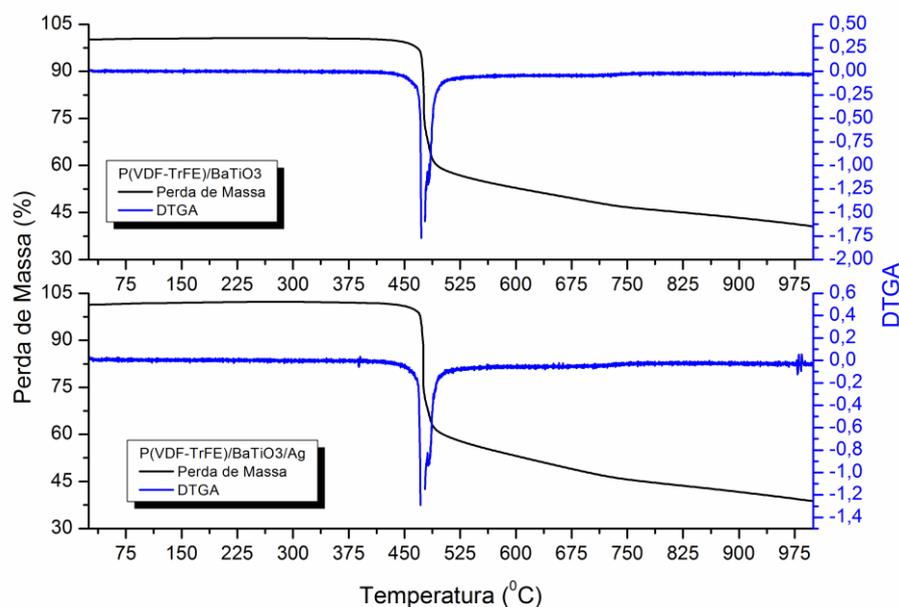


**Figura 18:** Curvas termogravimétricas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e PVDF/BaTiO<sub>3</sub> associado a prata.

Fonte: Autor

A análise da curva de degradação térmica do P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> na Figura 19 mostra que o compósito possui estabilidade térmica até aproximadamente 445°C. A partir dessa temperatura, apresenta perda de cerca de 60% da massa inicial e a principal região de degradação está entre 445-515°C. A maior velocidade de perda de massa se dá em 476°C como mostra o pico da curva DTGA e ao final do experimento tem-se um resíduo de aproximadamente 40% da massa inicial, provavelmente atribuído ao BaTiO<sub>3</sub>. Estes eventos podem ser confirmados através dos estudos de GENCHI *et al.* (2016) e GUAN; XU; GONG (2020). Já a curva termogravimétrica do P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> associado a prata não apresentou diferença de comportamento com relação a curva do copolímero isolado.

As curvas que representam o processo térmico dos materiais estudados indicam estabilidade térmica até 400°C. Uma vez que os compósitos serão utilizados como biomateriais, eles devem ser estáveis à temperatura do corpo humano que está entre 35 e 37°C e poderão ser submetidos a temperaturas de até 134°C nos processos de esterilização (KIM *et al.*, 2017). Observa-se que nesses valores de temperatura não ocorre eventos que caracterizem degradação do material.



**Figura 19:** Curvas termogravimétricas de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> associado a prata.

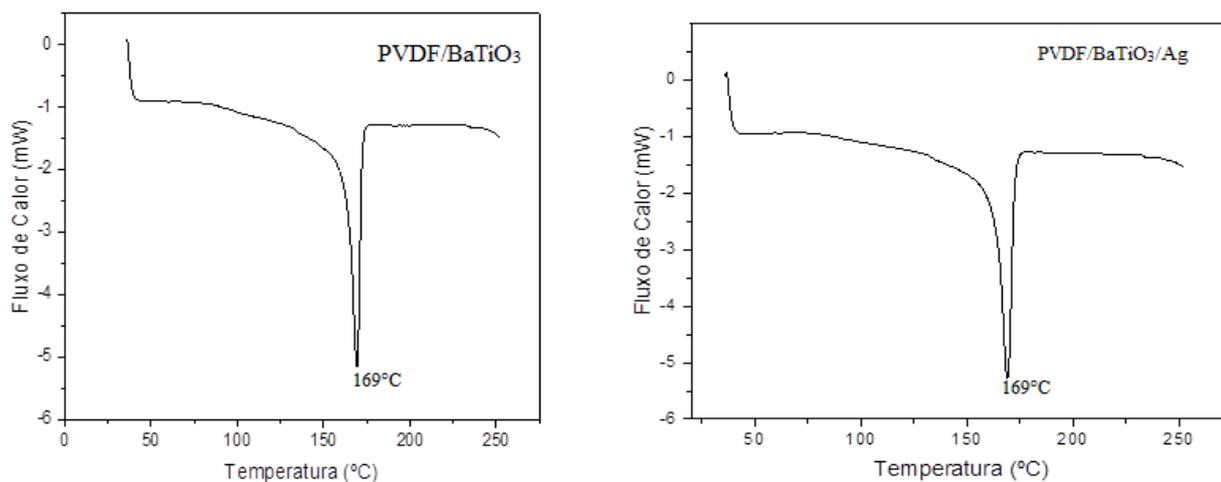
A Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) é uma técnica utilizada para obter as temperaturas e o fluxo de calor envolvido com as transições dos materiais em função do tempo e da temperatura. Estas transições podem estar associadas a alterações físicas e químicas e reações químicas de reticulação, decomposição, desidratação ou dissociação (MOTHÉ, 2009).

Nesse trabalho, a análise DSC foi feita com o objetivo de verificar a mudança na cristalinidade do material. Pode-se observar na Figura 20 os termogramas de aquecimento das membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> isoladas e das mesmas associadas a prata. Durante o aquecimento o pico endotérmico em 169°C é característico do ponto de fusão da membrana de PVDF/BaTiO<sub>3</sub>, mesmo valor encontrado por SANCHEZ *et al.* (2015). Já nos estudos de ABDOLMALEKI, AGARWALA (2020) esse pico se deu em 166°C.

Quanto às características do DSC, os picos não dependem apenas da fase cristalina, mas também de características como morfologia, defeitos, tamanho cristalino e processo de obtenção. A literatura não permite definir uma única temperatura de fusão para as diferentes fases do PVDF, mas sim um intervalo, que no caso das fases  $\alpha$  e  $\beta$  está entre 167-172°C. O valor encontrado no experimento, 169°C se encontra dentro desse intervalo, porém é necessária complementação com o FTIR para confirmar a presença da fase  $\beta$  do PVDF (MARTINS, LOPES, LANCEROS-MENDEZ, 2013).

Com relação à influência do BaTiO<sub>3</sub> na cristalinidade do material, estudos demonstram que a temperatura de fusão é dependente da proporção PVDF/BaTiO<sub>3</sub>. O valor encontrado nesse estudo corresponde à temperatura de fusão do compósito que possui 90% em massa PVDF e 10% em massa de BaTiO<sub>3</sub>, dados que corroboram com os estudos de GONZALES-BENITO *et al.* (2019).

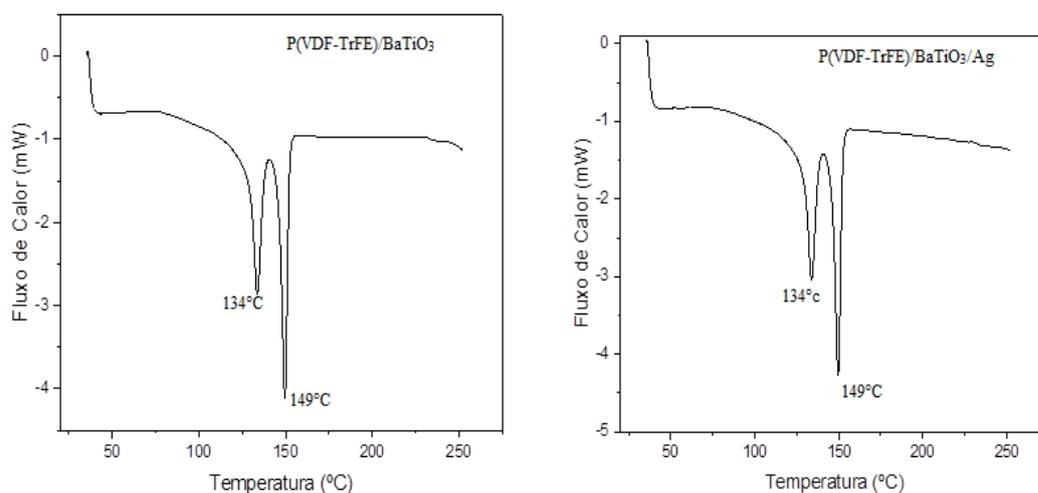
Podemos observar que após a impregnação da prata nas membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> a temperatura de fusão não sofreu alteração, indicando que a prata não influenciou a cristalinidade do material.



**Figura 20:** Curvas DSC de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e PVDF/BaTiO<sub>3</sub> associado a prata

Fonte: Autor

Pode-se observar na Figura 21 um pico endotérmico em 134°C e outro em 149°C que se relacionam respectivamente com a temperatura de Curie e com a temperatura de fusão do componente cristalino do compósito. Valores semelhantes foram obtidos em GIMENES (2005) e GENCHI *et al.* (2016). A análise da curva de DSC nesse estudo está de acordo com a literatura e demonstra que a adição de BaTiO<sub>3</sub> não interfere significativamente na mudança de fase do P(VDF-TrFE), uma vez que a temperatura de fusão do copolímero isolado é aproximadamente 148°C (ZHUANG *et al.*, 2020). De maneira semelhante ao que ocorre com as membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub>, após impregnação da prata não há mudança significativa no perfil do DSC.



**Figura 21:** Curvas DSC de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> associado a prata.

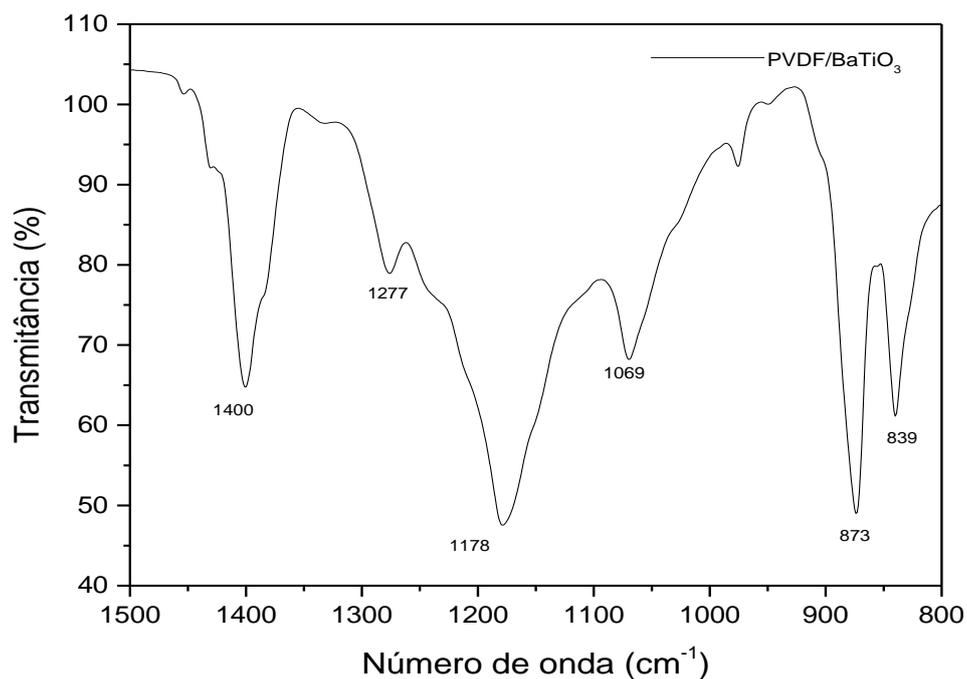
Fonte: Autor

## 4.2 ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier é uma ferramenta analítica utilizada para a identificação de diferentes grupos funcionais que constituem um composto. É uma técnica que fornece informações sobre fragmentos moleculares e presença de alguns grupos funcionais específicos de moléculas orgânicas (HOSPODAROVA; SINGOVSKA; STEVULONA, 2018).

A Figura 22 representa as bandas de absorção de FTIR relativas às vibrações das ligações químicas das membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub>. Nela são visualizadas bandas em 839 cm<sup>-1</sup>, que corresponde ao estiramento simétrico de CF<sub>2</sub> e em 873 cm<sup>-1</sup> deformação angular assimétrica no plano associados aos grupos de CH<sub>2</sub> e CF<sub>2</sub> e ao estiramento assimétrico do grupo CF<sub>2</sub>, indicando a presença da fase β do PVDF. Esses dados corroboram com a literatura onde se encontra que bandas próximas a 840 cm<sup>-1</sup> são características da fase β do PVDF, assim como bandas em 880 cm<sup>-1</sup> (AN *et al.*, 2016; SILAKAEW, THONGBAI, 2019; ABDOLMALEKI, AGARWALA, 2020; SHARMA, GAUR, 2021).

A banda na região 1069 cm<sup>-1</sup> corresponde também à fase β do PVDF e na região de 1178 cm<sup>-1</sup> representa o estiramento assimétrico e deformação angular assimétrica no plano do grupo CF<sub>2</sub> assim como encontrado em ABEDNEJAD *et al.* (2019). Em 1277 cm<sup>-1</sup> e 1400 cm<sup>-1</sup> tem-se bandas correspondentes à vibração de CH<sub>2</sub>. Bandas referentes ao BaTiO<sub>3</sub> se sobrepõem as do PVDF ( ABDOLMALEKI, AGARWALA, 2020).

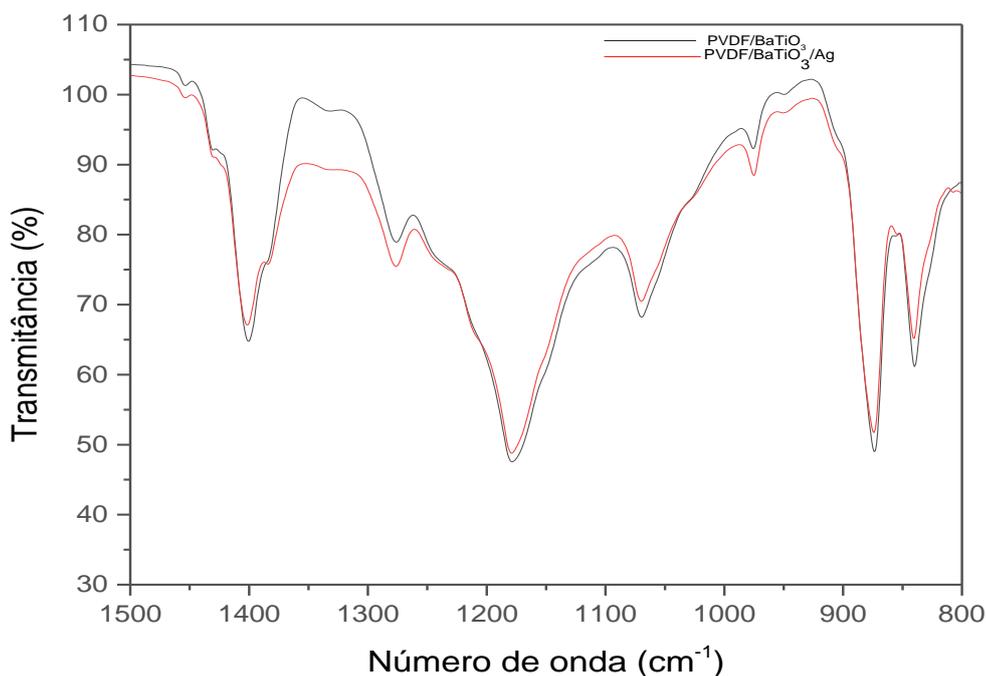


**Figura 22:** Espectro do FTIR do compósito PVDF/BaTiO<sub>3</sub>.

Fonte: Autor

Após a impregnação da prata, as membranas foram submetidas a um novo experimento de FTIR para estudar a influência da prata nas vibrações das moléculas do PVDF/BaTiO<sub>3</sub>. Os gráficos comparativos estão representados na Figura 23.

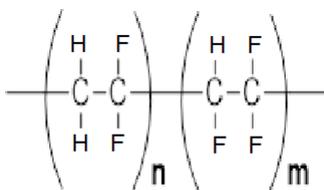
A análise da figura mostra que não foram observadas mudanças no espectro de FTIR das membranas impregnadas com prata quando comparado com as membranas do compósito isolado.



**Figura 23:** Espectro do FTIR do compósito PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag.

Fonte: Autor

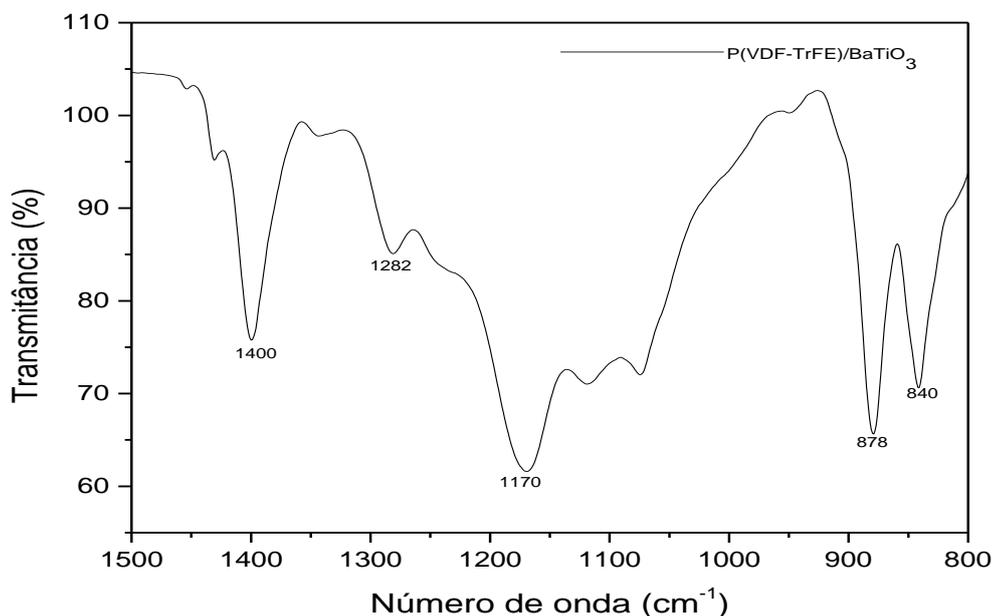
A seguir foi discutido o espectro de FTIR das membranas de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> isoladas e com prata para comparação. Assim como ocorreu com PVDF/BaTiO<sub>3</sub> as bandas de absorção se referem principalmente ao copolímero P(VDF-TrFE), cuja estrutura química evidenciando suas ligações está representada na Figura 24.



**Figura 24:** Representação esquemática da estrutura química do P(VDF-TrFE).

Fonte: Autor

A figura 25 representa as bandas de absorção de FTIR relativas às vibrações das ligações químicas características do P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>.

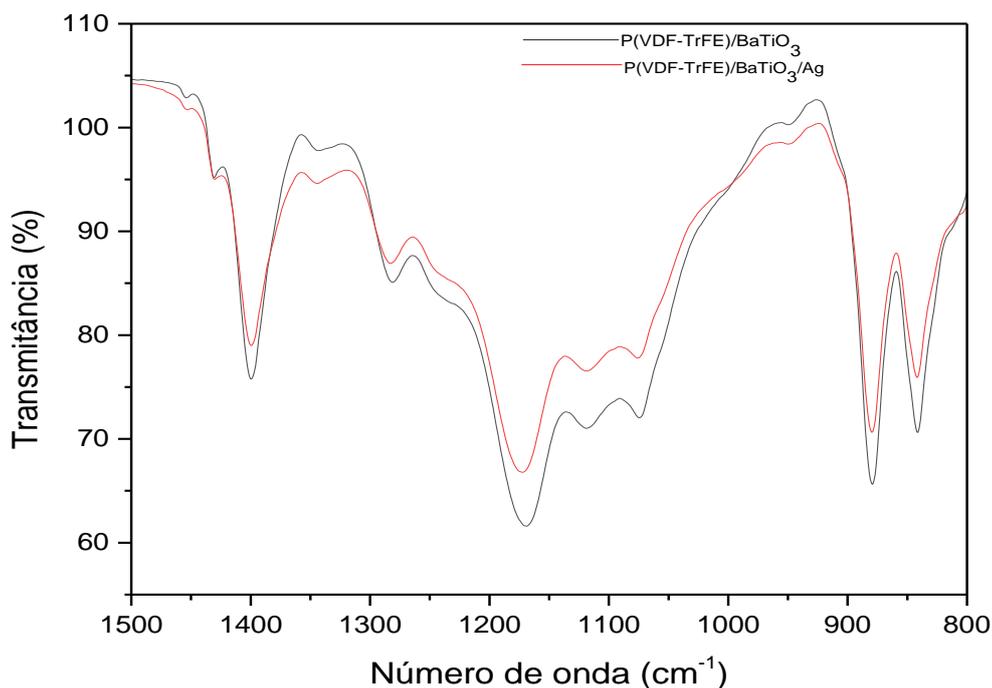


**Figura 25:** Espectro do FTIR do compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>.

Fonte: Autor

No espectro do FTIR do P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> as bandas mais importantes são as observadas em 840 cm<sup>-1</sup> características de ligações CF<sub>2</sub> e CC, 1282 cm<sup>-1</sup> que corresponde a ligações CH<sub>2</sub>, CC e CCC e em 1400 cm<sup>-1</sup> que representam CH<sub>2</sub> e CC. Essas bandas caracterizam a fase β do P(VDF-TrFE) como já foi visualizado nos estudos de Martins *et al.* (2016) e Zhuang *et al.* (2020). A presença de bandas nessas regiões sugere que o processo de desenvolvimento do material favoreceu a formação da fase ferroelétrica β do copolímero (GUAN; XU; GONG, 2020).

Os espectros de FTIR das membranas de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> isoladas e associadas a prata estão representados na Figura 26. Nota-se que, da mesma maneira que o PVDF/BaTiO<sub>3</sub>, o compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> não apresentou mudanças no espectro do FTIR após impregnação da prata.

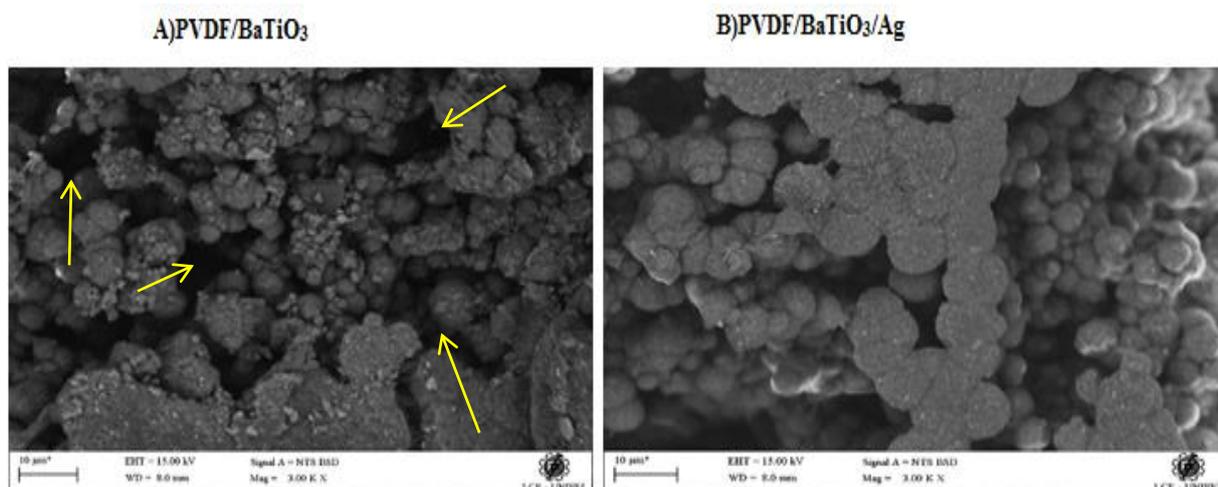


**Figura 26:** Espectro do FTIR do compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/Ag.

Fonte: Autor

### 4.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

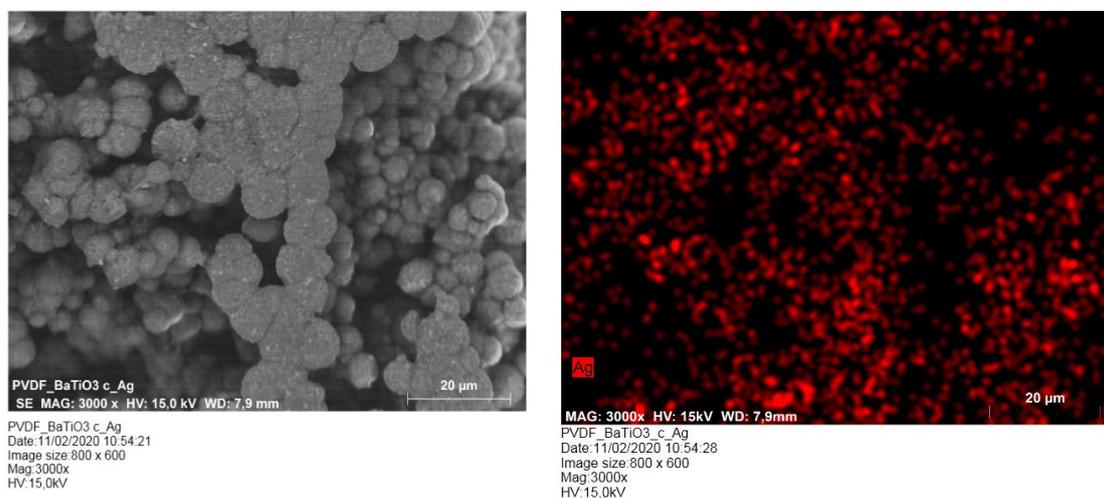
A Microscopia Eletrônica de Varredura foi utilizada para mensurar a morfologia dos materiais compósitos, verificar a presença de poros e, juntamente com o EDS, confirmar a presença da prata após sua impregnação nas membranas. A Figura 27 mostra pequenos monolitos, brilhantes, na matriz polimérica que corresponde as partículas de BaTiO<sub>3</sub>. As áreas indicadas pelas setas realçam presença de poros no material. Nota-se que após a impregnação da prata ocorre uma diminuição dos poros presentes no material, semelhante ao que ocorreu nos estudos de RAM *et al.* (2020).



**Figura 27:** Micrografia obtida por MEV: A) PVDF/BaTiO<sub>3</sub> isolado e B) PVDF/BaTiO<sub>3</sub> com prata em aumento de 3000 vezes.

Fonte: Autor

A presença quantitativa da prata no material está representada na Figura 28, onde observa-se que com o MEV associado ao EDS foi evidenciada a presença da prata na forma de partículas coradas em vermelho distribuídas na matriz do compósito.



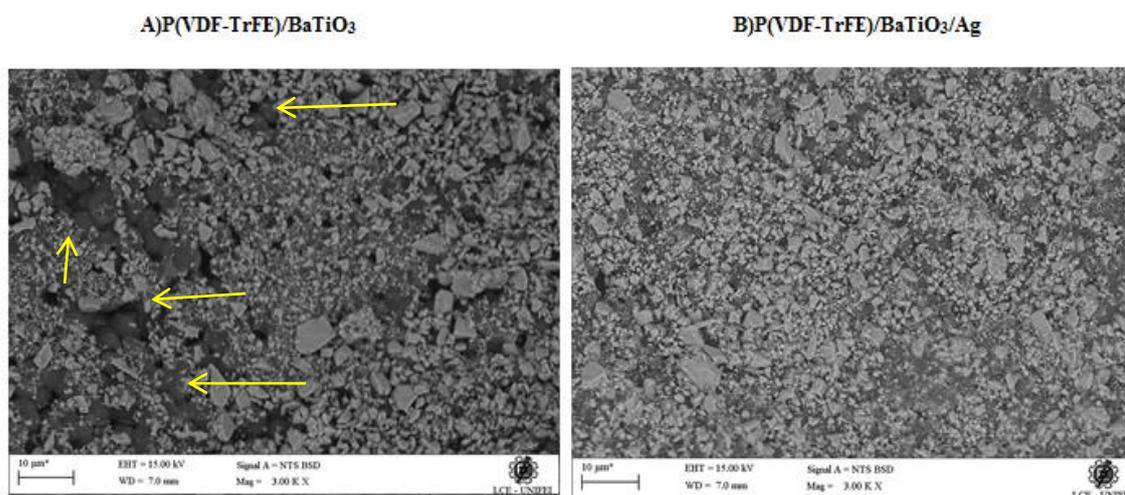
**Figura 28:** Micrografia de MEV do PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag com EDS para análise da presença da prata.

Fonte: Autor

A Figura 29 mostra a micrografia do filme de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> isolado e após a impregnação da prata com aumento de 3000 vezes. Pela imagem pode-se notar a presença de monolitos, estruturas brilhantes, com tamanhos variáveis. Essas partículas

correspondentes ao  $\text{BaTiO}_3$ , se encontram dispersas na área mais escura da micrografia, que corresponde a matriz de P(VDF-TrFE) como discutido em GUO *et al.* (2020).

Após impregnação da prata ainda pode-se observar monolitos de tamanhos variados e aglomerados de partículas na matriz, porém ocorreu redução no número de poros observados na superfície da membrana, evidenciando que a prata, além de revestir a superfície, também ocupa o interior dos poros. Eventos que também ocorreram nos experimentos de MOHAN *et al.* (2020).

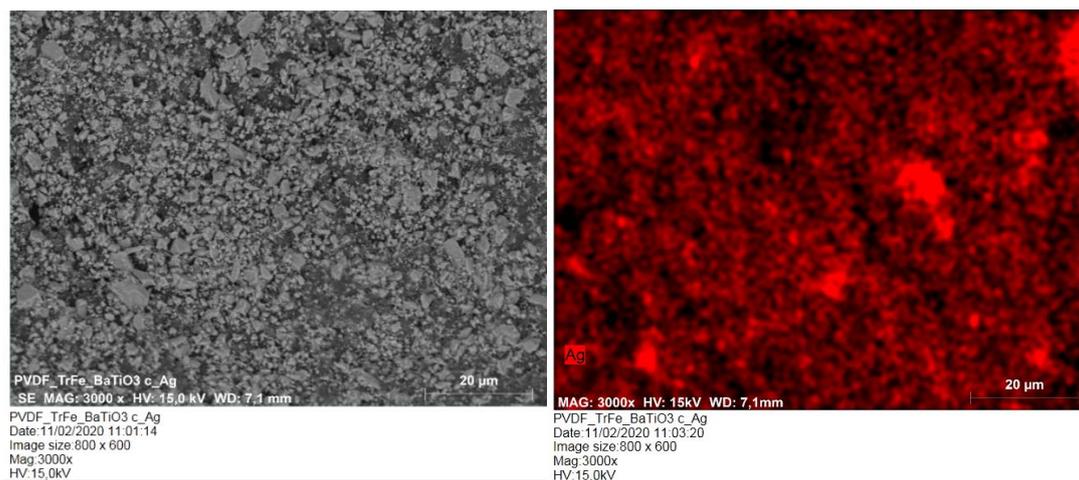


**Figura 29:** Micrografia obtida por MEV: A) P(VDF-TrFE)/ $\text{BaTiO}_3$  e B) P(VDF-TrFE)/ $\text{BaTiO}_3$ /Ag com aumento de 3000 vezes.

Fonte: Autor

Ao comparar a superfície da membrana de PVDF/ $\text{BaTiO}_3$  e a superfície da membrana de P(VDF-TrFE)/ $\text{BaTiO}_3$  nota-se que a primeira apresenta um número maior de poros de diferentes tamanhos. Para esses materiais a topografia da superfície, incluindo a textura e a porosidade, é fundamental para criar condições que permitam a adesão celular e a deposição de matriz extracelular para a regeneração dos tecidos (AZIMI *et al.*, 2019).

Nesse estudo, foi confirmada a presença qualitativa da prata impregnada na superfície, o que está demonstrado na Figura 30, onde se observa as partículas de prata com distribuição uniforme coradas de vermelho.



**Figura 30:** Micrografia de MEV com EDS no compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> com prata.

Fonte: Autor

#### 4.4 MOLHABILIDADE

Para caracterizar a molhabilidade de uma superfície utiliza-se a determinação do ângulo de contato. Materiais hidrofílicos formam com a água ângulos menores que 90° (PRAKASH; RAJ; PRASANTH, 2017). A tabela abaixo apresenta a variação do ângulo de contato do compósito com a água no decorrer do tempo.

**Tabela 4:** Variação do ângulo ( $\theta$ ) de contato no decorrer do tempo

Tempo (Minutos)	( $\theta$ ) PVDF/BaTiO <sub>3</sub>	( $\theta$ ) PVDF/BaTiO <sub>3</sub> /Ag	( $\theta$ ) P(VDF- TrFE)/ BaTiO <sub>3</sub>	( $\theta$ ) P(VDF- TrFE)/ BaTiO <sub>3</sub> /Ag
0	85 ± 0,82	74,8 ± 1,14	76,6 ± 1,78	71,6 ± 3,28
10	80,3 ± 0,55	68,2 ± 1,05	65,4 ± 2,07	64,8 ± 3,76
20	75,4 ± 0,67	61,8 ± 0,70	63,5 ± 3,77	47 ± 2,39

Fonte: Autor

Observando a tabela 4 é possível verificar que ângulo de contato ( $\theta$ ) é menor que 90° em todas as membranas, inclusive após a impregnação da prata e que, com o passar do tempo o ângulo diminui e ocorre adsorção da gota de água, o que indica que os

compósitos PVDF/BaTiO<sub>3</sub>, PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag, P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>, P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/Ag são hidrofílicos, propriedade importante para que sejam utilizados como biomaterial. Resultados semelhantes foram encontrados nos estudos de GITTENS *et al.*(2014) e SACKKEY *et al.* (2020).

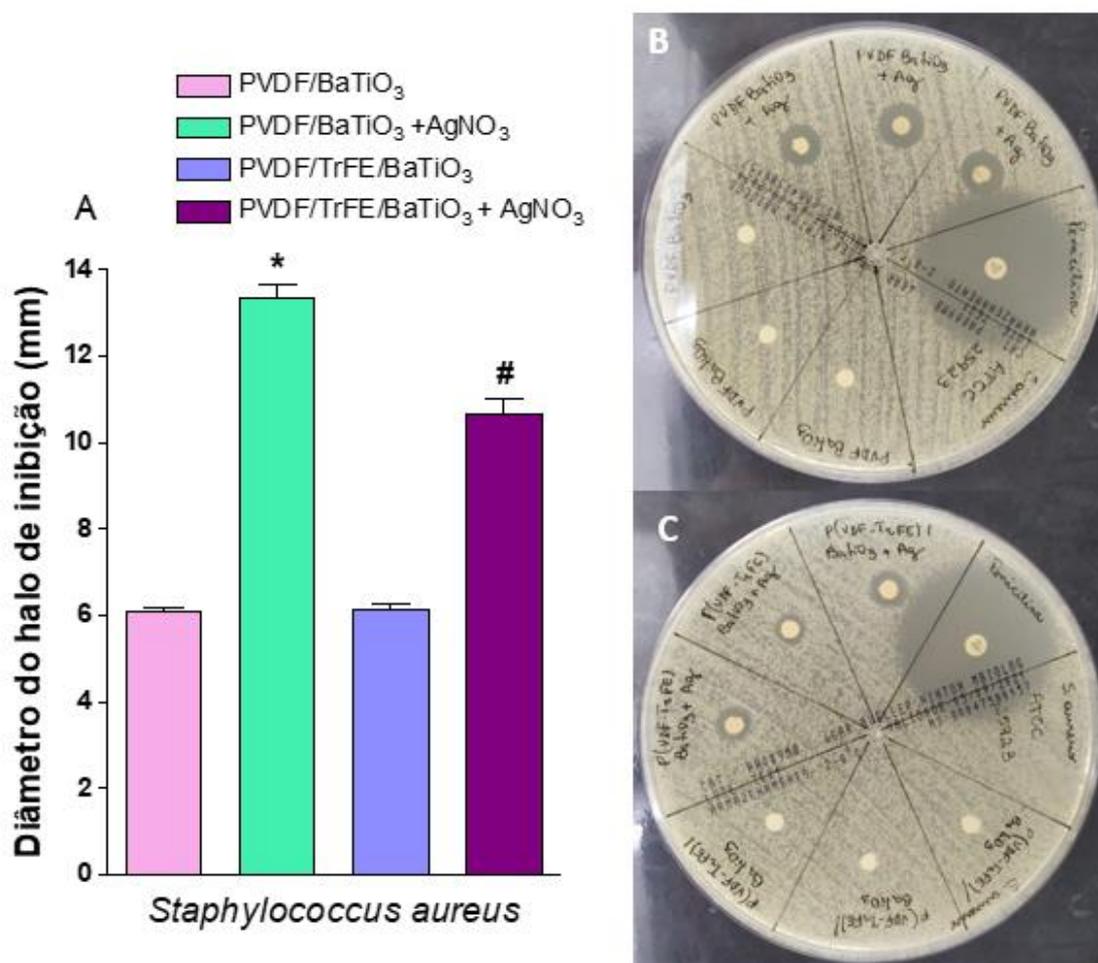
## 4.5 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

### 4.5.1 DISCO DIFUSÃO EM ÁGAR

A avaliação microbiológica foi realizada com a finalidade de avaliar a atividade antibacteriana das membranas antes e após a impregnação da prata. A Figura 31 apresenta os halos de inibição no teste de disco difusão em ágar (Kirby Bauer) para a bactéria *Staphylococcus aureus*. Esse método é muito utilizado em laboratórios de análises clínicas e permite inferir se o microrganismo é sensível ou resistente a determinados antibióticos, através da medida do diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano (BALOUIRI *et al.*, 2016).

As membranas isoladas, tanto de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> como de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> não apresentaram halos de inibição do crescimento bacteriano, indicando que as mesmas não possuem atividade antibacteriana. Já as membranas impregnadas com prata apresentaram halos de inibição em média de aproximadamente 14 mm para PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag e em média 11 mm para P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/Ag. O halo de inibição da penicilina, antibiótico utilizado como controle para o teste, foi de 46 mm.

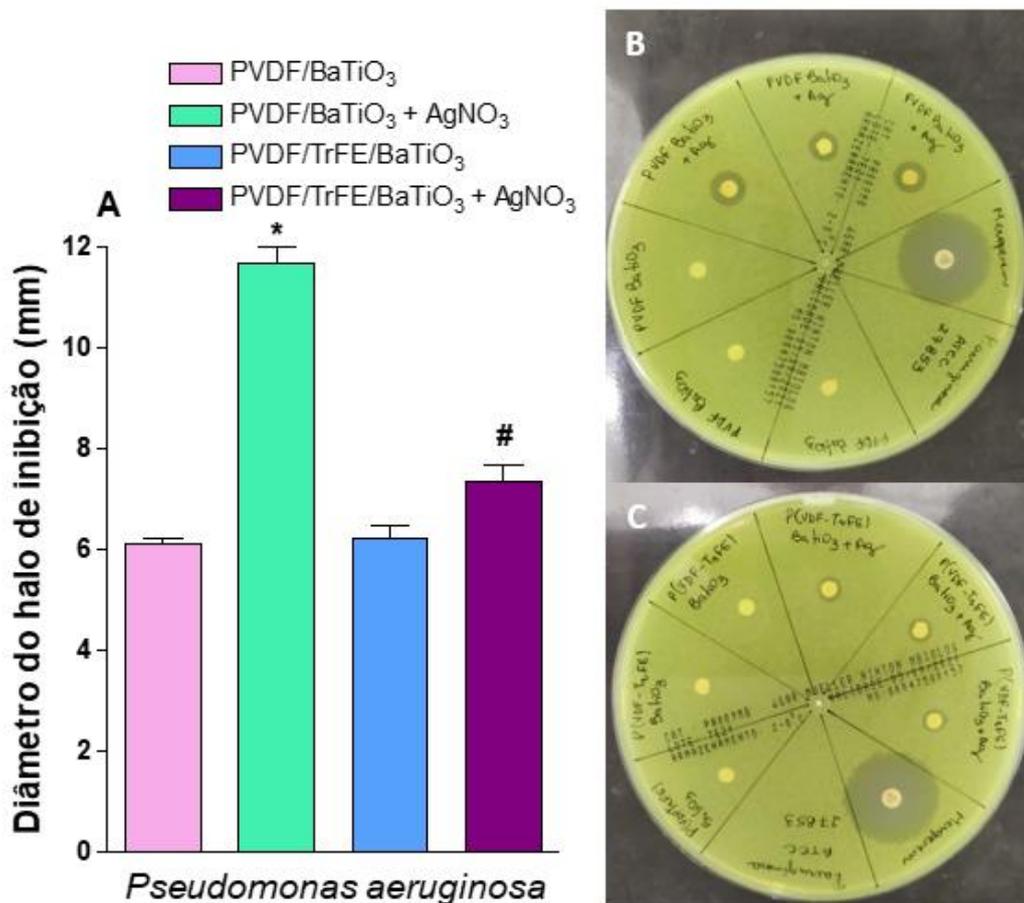
Os resultados obtidos mostram que, após impregnação da prata as membranas apresentaram atividade antibacteriana, através da inibição do crescimento de *S. aureus*.



**Figura 31:** Média do diâmetro dos halos de inibição (mm) de PVDF/BaTiO<sub>3</sub>, PVDF/BaTiO<sub>3</sub> + AgNO<sub>3</sub>, PVDF/TrFE/BaTiO<sub>3</sub> e PVDF/TrFE/BaTiO<sub>3</sub> + AgNO<sub>3</sub> no teste disco-difusão em ágar para *Staphylococcus aureus*. Os valores são expressos pela em média ± erro padrão da média com n = 3. \*P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/BaTiO<sub>3</sub>. #P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/TrFE/BaTiO<sub>3</sub>.

Fonte: Autor

Resultados semelhantes foram encontrados para *Pseudomonas aeruginosa* como mostra a Figura 32 onde as membranas isoladas não inibiram o crescimento bacteriano e as membranas impregnadas com prata, PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/Ag apresentaram média dos halos de inibição de aproximadamente 12 mm e 7 mm respectivamente. O diâmetro do halo do meropenem, antibiótico utilizado como controle do teste, foi de 33 mm.



**Figura 32.** Média do diâmetro dos halos de inibição (mm) de PVDF/BaTiO<sub>3</sub>, PVDF/BaTiO<sub>3</sub> + AgNO<sub>3</sub>, PVDF/TrFE/BaTiO<sub>3</sub> e PVDF/TrFE/BaTiO<sub>3</sub> + AgNO<sub>3</sub> no teste disco-difusão em ágar para *Pseudomonas aeruginosa*. Os valores são expressos pela em média ± erro padrão da média com n = 3. \*P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/BaTiO<sub>3</sub>. #P<0,05 quando comparado com o grupo PVDF/TrFE/BaTiO<sub>3</sub>.

Fonte: Autor

Foi possível observar também que PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag apresentou valores significativamente maiores dos halos de inibição quando comparado com P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/Ag (P< 0,05) e portanto, apresentou maior atividade antimicrobiana no ensaio de disco difusão em ágar. Esse resultado, provavelmente pode ser atribuído ao fato da membrana de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> possuir uma maior quantidade de poros em sua superfície (como visualizado no MEV) e com isso abrigar maiores concentrações de prata que se difundiu no ágar, como visto em MENDES *et al.* (2012) e TORRES-FLORES *et al.* (2021).

Com relação às cepas de bactérias utilizadas no ensaio, ocorreu maior inibição do crescimento de *S.aureus* quando comparado a *P. aeruginosa*, pois é possível notar que tanto as membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag como P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/Ag apresentaram halos maiores para *S.aureus*. A diferença observada nos halos de inibição pode estar relacionada com as características citológicas das cepas utilizadas, principalmente com a superfície externa. A parede celular da bactéria Gram-positiva (*S.aureus*) é única e consiste de uma camada espessa, composta de múltiplas camadas de peptidoglicano responsável pela manutenção da célula e sua rigidez. Pode ser que a prata atue na fragmentação do polissacarídeo (BALOUIRI *et al.*, 2016; HELOU,2018).

A característica diferencial da bactéria Gram-negativa (*P. aeruginosa*) é a presença de uma dupla membrana que rodeia a célula bacteriana e apenas uma camada de peptidoglicano. Além disso, bactérias Gram-negativas possuem um envelope que fornece proteção contra a ação de antibióticos, devido à presença de lipopolissacarídeos na membrana externa e bombas de efluxo abrangendo todo o envelope (VANDERA *et al.*, 2020).

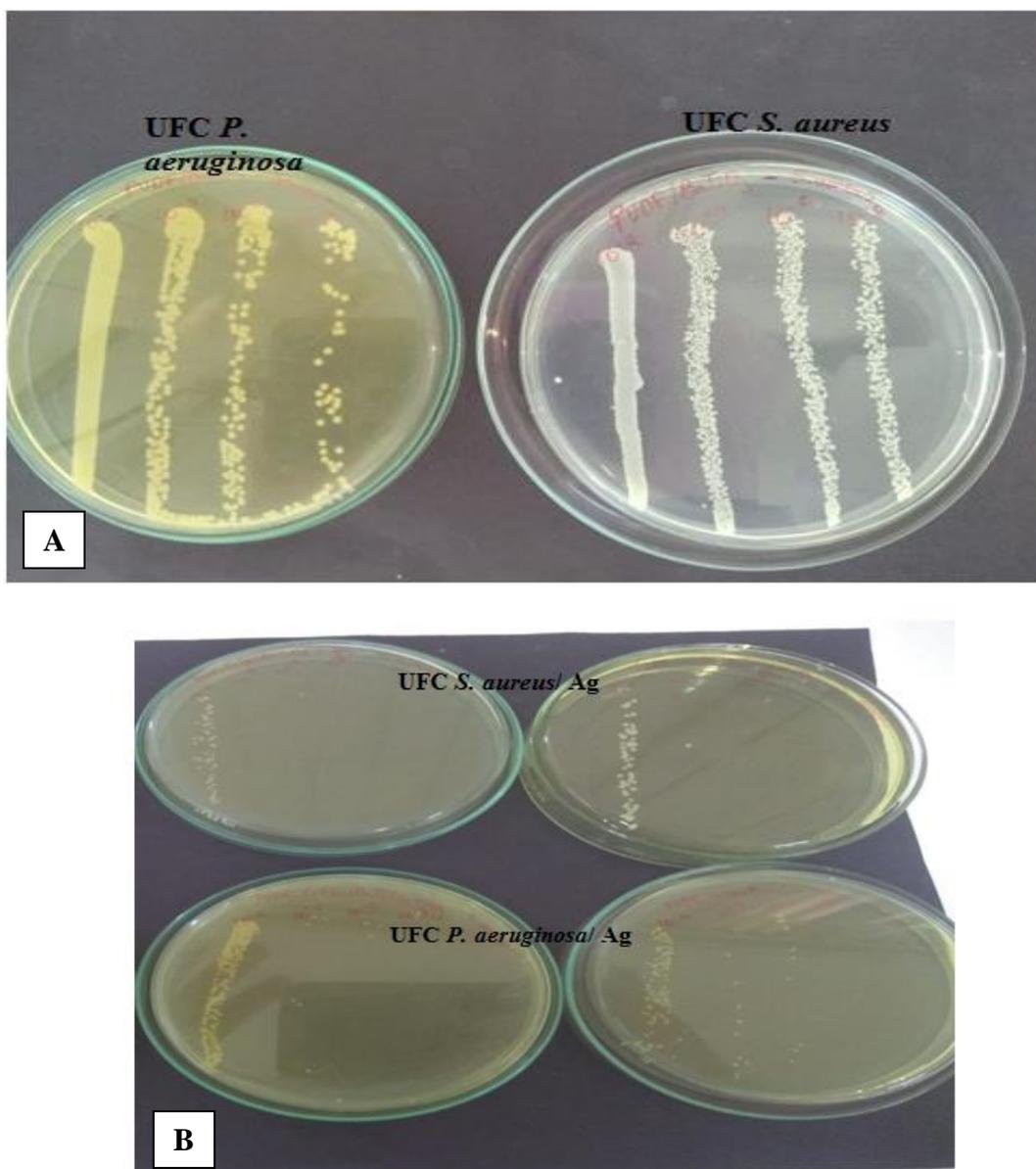
Segundo Randal *et al.* (2013) e Maillard, Hartemann. (2013), a resistência à prata por parte dos microrganismos Gram-negativos pode resultar da aquisição de plasmídeos, que conferem resistência através de mutação cromossômica, o que pode talvez explicar a maior resistência da *P. aeruginosa* quando comparada ao *S. aureus* nos ensaios com as membranas impregnadas com a prata.

#### 4.5.2 FORMAÇÃO DE BIOFILMES

Biofilmes protegem as bactérias das defesas do hospedeiro e geralmente são associadas a infecções nasocomiais em dispositivos como cateteres, válvulas cardíacas, próteses ósseas e feridas (OTTO, 2013 a).

Na Figura 33 estão ilustradas placas de ágar BHI com o crescimento bacteriano de *S.aureus* e *P. aeruginosa* dos ensaios de formação de biofilmes, nas membranas isoladas (A) e nas membranas em que a prata foi impregnada (B). Nas placas, da esquerda para a direita temos os crescimentos nas seguintes diluições: 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-8</sup>, respectivamente. Nota-se um crescimento elevado de UFC em todas as diluições onde as membranas estavam isoladas, já nas placas onde a prata estava presente, ocorreu uma expressiva diminuição do crescimento bacteriano, o que indica que a

impregnação da prata conferiu atividade antimicrobiana as membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>.

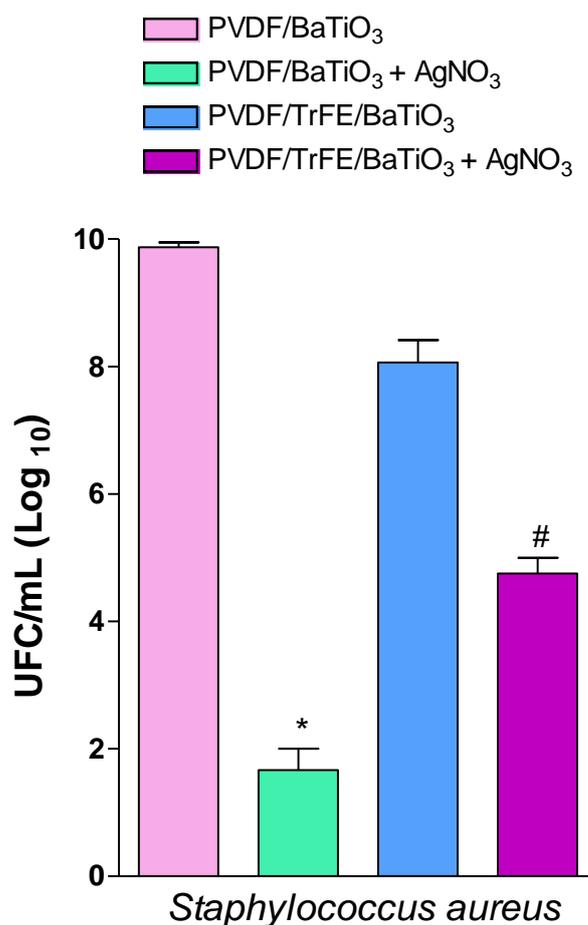


**Figura 33:** Crescimento bacteriano no teste da formação de biofilmes das membranas isoladas com *S. aureus* e *P. aeruginosa* (A) e crescimento bacteriano no teste de formação de biofilmes nas membranas associadas à prata (B).

Fonte: Autor

A Figura 34 apresenta o comportamento adesivo das cepas de *S. aureus* em contato com as superfícies das membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> com e sem prata. Nota-se que, com a impregnação da prata nas membranas ocorreu

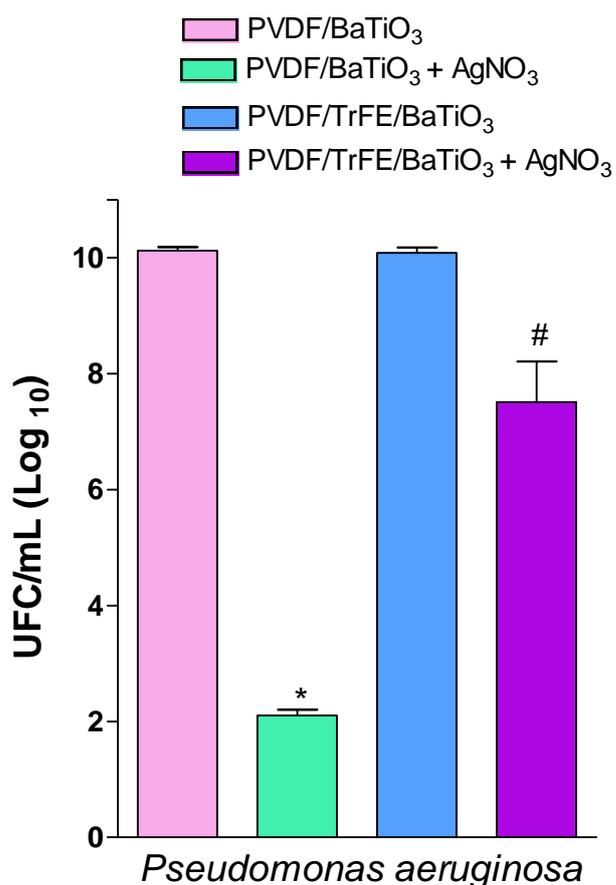
diminuição da formação de biofilmes de *S. aureus*, sendo mais expressiva em PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag em concordância com o teste da disco difusão em ágar. Esses dados confirmam que materiais contendo prata são capazes de controlar o crescimento de biofilmes de bactérias consideradas resistentes como *S. aureus*, como discutido por CHENG *et al.*(2020).



**Figura 34:** Média do número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) em *Staphylococcus aureus*. Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  erro padrão médio (SEM) de 5-7 amostras por grupo. \* $P < 0,05$  quando comparado com o grupo PVDF/BaTiO<sub>3</sub>. # $P < 0,05$  quando comparado com o grupo PVDF/TrFE/BaTiO<sub>3</sub>.

Fonte: Autor

Da mesma forma que para *S. aureus*, as membranas impregnadas com prata controlaram o crescimento dos biofilmes quando em contato com cepas de *P. aeruginosa* como pode ser evidenciado na Figura 35.



**Figura 35:** Média do número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) em *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados são apresentados como a média  $\pm$  erro padrão médio (SEM) de 5-7 amostras por grupo. \* $P < 0,05$  quando comparado com o grupo PVDF/BaTiO<sub>3</sub>. # $P < 0,05$  quando comparado com o grupo PVDF/TrFE/BaTiO<sub>3</sub>.

Fonte: Autor

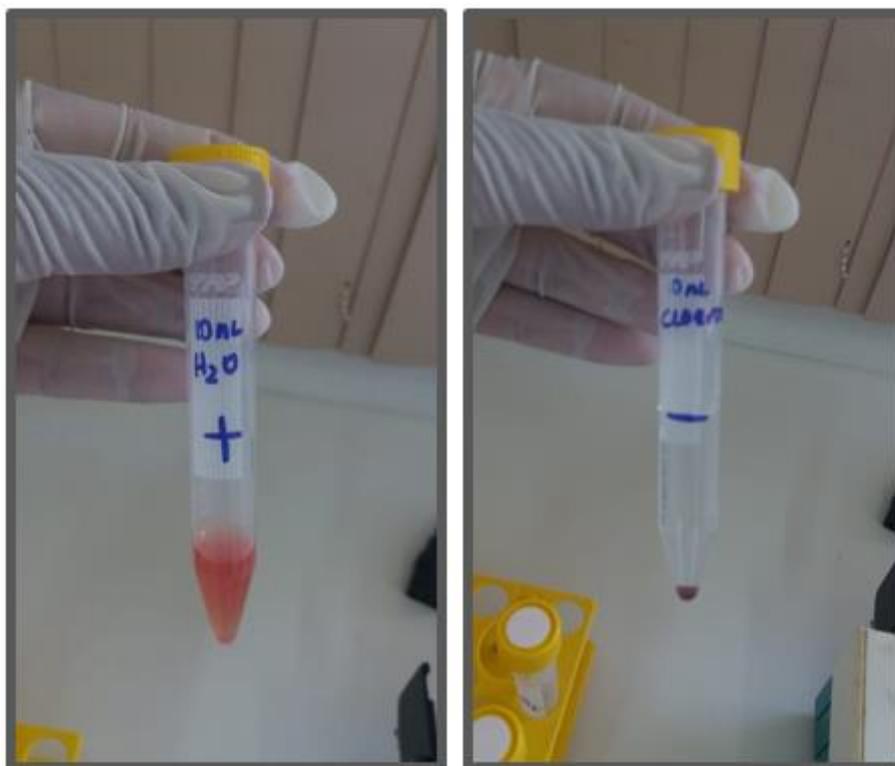
Membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag apresentaram controle na formação de biofilmes significativamente maior ( $P < 0,05$ ) que P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/Ag. É possível afirmar que isso ocorreu pela expressiva diminuição do número de UFC, tanto nos ensaios com *S. aureus* como em *P. aeruginosa*, embora, assim como no teste de disco difusão, as membranas tiveram maior atividade antimicrobiana para *S. aureus*.

Esses resultados demonstraram que as membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/Ag e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/Ag possuem atividade antimicrobiana devido a ação da prata e que apresentaram atividade antimicrobiana tanto para *S. aureus* quanto para *P. aeruginosa*, sendo portanto materiais promissores para o tratamento de feridas.

### 4.5.3 ENSAIO DE HEMOCOMPATIBILIDADE

A hemólise pode causar a liberação de hemoglobina, componentes intracelulares e substâncias tromboplásticas pela ruptura dos glóbulos vermelhos do sangue. A atividade hemolítica é uma propriedade importante porque determina a biocompatibilidade do material quando em contato com o sangue (MOHAN, 2020).

Para a efetuação dos cálculos da taxa de hemólise foram feitos os controles positivo e negativo para a hemólise, como mostra a Figura 36. Observa-se que no tubo do controle positivo, o sobrenadante está vermelho, indicando a presença de hemoglobina que foi liberada após a lise das hemácias. Já no tubo referente ao controle negativo, o sobrenadante está límpido e se formou um botão de hemácias íntegras no sedimento, o que caracteriza a ausência de hemólise.



**Figura 36:** Controle positivo e controle negativo do teste de hemólise.

Fonte: Autor

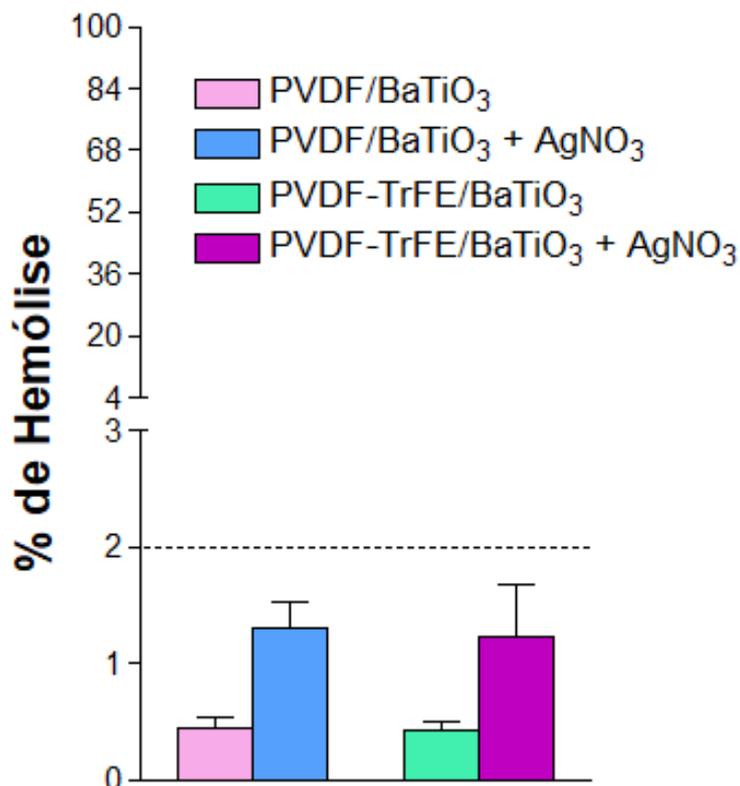
Após a leitura das absorvâncias em 540 nm, as porcentagens de hemólise foram calculadas e estão representadas na tabela 5.

Tabela 5: Taxa de hemólise das amostras analisadas

Tubos	Hemólise PVDF/BaTiO <sub>3</sub> (%)	Hemólise PVDF/BaTiO <sub>3</sub> /Ag (%)	Hemólise P(VDF-TrFE)/ BaTiO <sub>3</sub> (%)	Hemólise P(VDF-TrFE)/ BaTiO <sub>3</sub> /Ag (%)
1	0,19	1,17	0,59	0,97
2	0,29	0,78	0,19	0,84
3	0,49	1,25	0,48	0,88
4	0,68	1,68	0,59	1,62
5	0,58	0,97	0,28	1,23
<b>Média</b>	0,45	1,17	0,43	1,11

Nota-se que a média das taxas de hemólise das membranas varia de 0,43 a 1,17%, portanto esses materiais podem ser considerados não hemolíticos por apresentarem taxas de hemólise abaixo de 2%.

A comparação dos valores das porcentagens de hemólise das amostras de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> com e sem prata está demonstrada na Figura 37. Os resultados foram avaliados estatisticamente, considerando  $p < 0,05$ , não havendo diferenças significativas entre as amostras. Deste modo, foi possível observar que tanto as membranas de PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> isoladas como as impregnadas com prata não apresentaram atividade hemolítica, ou seja, quando em contato com o sangue *in vitro*, não causaram a destruição das células sanguíneas.



**Figura 37:** Porcentagem hemolítica das membranas PVDF/ BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> com e sem prata.

Fonte: Autor

As taxas para a ocorrência de hemólise podem ser encontradas na norma ASTM F756-08 (2013), as quais estão representadas na Tabela 6.

**Tabela 6:** Taxas de hemólise definidas pela ASTM F756-08.

Índice Hemolítico	Grau Hemolítico
0 – 2	Não hemolítico
2 – 5	Levemente hemolítico
> 5	Hemolítico

Os dados obtidos mostram que o P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> isolado ou impregnado com prata podem ser classificados como não hemolíticos por apresentarem taxas de hemólise abaixo de 2% segundo o protocolo internacional ASTM F756-08 de 2013 (DU *et al.*, 2020).

## 5 CONCLUSÃO

No desenvolvimento do material a análise do MEV e EDS revelaram que os compósitos PVDF/BaTiO<sub>3</sub> e P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> foram produzidos de modo que se obteve membranas porosas e ocorreu a impregnação da prata.

Os dados obtidos utilizando as técnicas físico-químicas nos permitiram caracterizar as membranas, confirmar a piezoelectricidade e estão em conformidade com a literatura.

Através da determinação do ângulo de contato conclui-se que as membranas são hidrofílicas, o que torna o material promissor para ser utilizado como cobertura em feridas.

O ensaio de hemocompatibilidade mostrou que tanto as membranas isoladas como as impregnadas com prata são hemocompatíveis, podendo ser utilizadas em contato com o sangue.

Os testes microbiológicos revelaram que após a impregnação da prata as membranas apresentaram atividade antibacteriana, indicando que o material desenvolvido tem potencial para ser utilizado em curativos no tratamento de feridas.

## 6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABAZARI, M. et al. A Systematic Review on Classification, Identification, and Healing Process of Burn Wound Healing. **International Journal of Lower Extremity Wounds**, p. 1-13, 2020.

ABEDNEJAD, A. et al. Polyvinylidene fluoride–Hyaluronic acid wound dressing comprised of ionic liquids for controlled drug delivery and dual therapeutic behavior. **Acta Biomaterialia**, v. 100, p. 142-157, 2019.

ABDOLMALEK, H.; AGARWALA, S. PVDF-batio3 nanocomposite inkjet inks with enhanced  $\beta$ -phase crystallinity for printed electronics. **Polymers**, v. 12, n. 10, p. 1-12, 2020.

ALDALBAHI, A. et al. Core-shell Au@Se nanoparticles embedded in cellulose acetate/polyvinylidene fluoride scaffold for wound healing. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 9, n. 6, p. 15045-15056, 2020.

ACOSTA, M. et al. BaTiO<sub>3</sub>-based piezoelectrics: Fundamentals, current status, and perspectives. **Applied Physics Reviews**, v. 4, n. 4, 2017.

ADADI, N. et al. Electrospun Fibrous PVDF-TrFe Scaffolds for Cardiac Tissue Engineering, Differentiation, and Maturation. **Advanced Materials Technologies**, v. 5, n. 3, p. 1-11, 2020.

ALMADHOUN, M. **Process Optimization of P(VDF-TrFE)-BaTiO<sub>3</sub> Nanocomposites for Storage Capacitor Applications**. [s.l.] King Abdullah University of Science and Technology, 2011.

AN, A. K. et al. PDMS/PVDF hybrid electrospun membrane with superhydrophobic property and drop impact dynamics for dyeing wastewater treatment using membrane distillation. **Journal of Membrane Science**, v.525, n. October, 2016, p. 57-67, 2017.

ARUMUGAM, R. et al.  $\beta$ -PVDF based electrospun nanofibers—A promising material for developing cardiac patches. **Medical Hypothesis**, v. 122, n. July 2018, p. 31-34, 2019.

ASTM INTERNATIONAL: F756-08. **Standard Practice for Assessment of Hemolytic Properties of Materials 1Practice**, 2013.

AZIMI, B. et al. Electrospinning Piezoelectric Fibers for Biocompatible Devices. **Advanced Healthcare Materials**, v. 9, n. 1, p. 1-39, 2020.

BAHARARA, J. et al. Silver nanoparticles synthesized coating with *zataria multiflora* leaves extract induced apoptosis in hela cells through p53 activation. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 2, p. 627-639, 2018.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.

BANNACH, G.; PERPÉTUO, G. L. Efeitos da história térmica nas propriedades do polímero pet: um experimento para ensino de análise térmica. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1825-1829, 2011.

BARKOULA, N. M. et al. Fatigue properties of highly oriented polypropylene tapes and all-polypropylene composites. **Polymers and Polymer Composites**, v. 16, n. 2, p. 101–113, 2008.

BARRETO, B. M. F. et al. Molecular monitoring of Staphylococcus aureus in chronic lesions: a descriptive study. **Online Braz. J. of nurse**, v. 14, p. 392-395, 2015.

BERA, B.; MANDAL, D.; DAS SARKAR, M. Sensor Made of PVDF/grapheme Electrospinning Fiber and Comparison between Electrospinning PVDF Fiber and PVDF/grapheme Fiber. **Imperial Journal of Interdisciplinary Research**, v. 2, n. 5, p. 1411-1413, 2016.

BÉRGAMO, V. Z. et al. New trends to combat Candida biofilm in dental prosthetics. **Clinical Biomedical Research**, v. 38, n. 2, p. 156-166, 2018.

BORGES, E. L. et al. Prevenção de recidiva de úlcera varicosa: um estudo de coorte. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 29, n. 1, p. 9-16, 2016.

BOTELHO, M. P. J. Verification of the antibacterial and antifungal capacity of silver nanoparticles incorporated to dental plasters. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 19371-19380, 2020.

BOWEN, W. H. et al. Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 229-242, 2018.

Br CAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Documentos. 2021. Disponível em: <http://www.brcast.org.br>

BRAUNE, S. et al. In Vitro Thrombogenicity Testing of Biomaterials. **Advanced Healthcare Materials**, v. 8, n. 21, 2019.

BRITO, A. C. M. et al. Adesão de biofilmes monoespécie de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* em diferentes superfícies de resinas compostas convencionais e bulk fill. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 49, p. 1-10, 2020.

BROKESH, A. M.; GAHARWAR, A. K. Inorganic Biomaterials for Regenerative Medicine. **ACS Applied Materials and Surfaces**, v. 12, n. 5, p.5319-5344, 2020.

CEFALU J. E.; BARRIER, K. M.; DAVIS, A. H. Wound Infections in Critical Care. **Crit Care Nurs Clin North Am**, v. 29, n. 1, p.81-96, 2017.

CHEN, X.; HAN, X.; SHEN, Q. D. PVDF-Based Ferroelectric Polymers in Modern Flexible Electronics. **Advanced Eletronics Materials**, v.3, n.5, 2017.

CIOBANU, G.; ILISEI, S.; LUCA, C. Hydroxyapatite-silver nanoparticles coatings on porous polyurethane scaffold. **Materials Science and Engineering C**, v. 35, n. 1, p. 36-42, 2014.

CÔRTEZ, S.M.S. O Tratamento de Ferida: Um Artigo de Revisão Wound Treatment: A Revision Article, **Revista de Divulgação Científica Sena Aires** 2013, p. 55-64

COSTA, C. M. et al. Composition-dependent physical properties of poly[(vinylidene fluoride)-co-trifluoroethylene]-poly(ethylene oxide) blends. **Journal of Materials Science**, v. 48, n. 9, p. 3494–3504, 2013.

DA SILVA, P. V. et al. Physical–chemical and antimicrobial activity of sulfadiazine sodium salt with  $\beta$ -cyclodextrin supramolecular systems. **Chemical Papers**, v.75, n. 8, p. 3881-3890, 2021.

DEUTSCHI, C. J.; EDWARDS, D. M.; MYERS, S. Wound dressings. **British Journal of Hospital Medicine**, v. 78, n. 7, p. 116-126, 2017.

DIAS, G. D. C. et al. Preparation and characterization the composite PVDF/Pani with nickel particles. **Polimeros**, v. 27, p. 116-126, 2017.

DRAGO, F. et al. The microbiome and its relevance in complex wounds. **European Journal of Dermatology**, v. 29, n. 1, p. 6-13, 2019.

DU, J. et al. Mechanically Robust, Self-Healing, Polymer Blends and Polymer/Small Molecule Blend Materials with High Antibacterial Activity. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 12, n. 24, p. 26966-26972, 2020.

EBRAHIMINEZHAD, A. et al. Ancient and novel forms of silver in medicine and biomedicine. **J. Adv. Med. Sci. Appl. Technol.** v. 2, p. 122– 128, 2016.

ELMEHBAD, N. Y.; MOHAMED, N. A. Designing, preparation and evaluation of the antimicrobial activity of biomaterials based on chitosan modified with silver nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 92-103, 2020.

FARIAS, J. M. **Comparação, in vitro, da hidrofiliabilidade de superfície em seis tipos de implantes usados em medicina dentária**. 2016. 122f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Oral) – Universidade do Porto, Porto.

FERREIRA, I. L. **Preparação e caracterização de biomateriais poliméricos para avaliação da viabilidade de uso como phantom biológico**. 2016. 164 f. Tese (Doutorado em Física) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

FLEMING, D.; RUMBAUGH, K. Approaches to Dispersing Medical Biofilms. **Microorganisms**, v. 5, n. 2, p. 15, 2017.

FU, J. et al. Improving Dielectric Properties of PVDF Composites by Employing Surface Modified Strong Polarized BaTiO<sub>3</sub> Particles Derived by Molten Salt Method. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 7, n. 44, p. 24480-24491, 2015.

GENCHI, G. G. et al. P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>Nanoparticle Composite Films Mediate Piezoelectric Stimulation and Promote Differentiation of SH-SY5Y Neuroblastoma Cells. **Advanced Healthcare Materials**, v. 5, n. 14, p. 1808–1820, 2016.

GIMENES, R. Síntese e Caracterização de Compósitos Poli (fluoreto de vinilideno-trifluoretileno)/Titanato de Bário para uso em Regeneração Tecidual Guiada . p. 206, 2005.

GIMENES, R. et al. Promotion of bone repair of rabbit tibia defects induced by scaffolds of P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> composites. **Bulletin of Materials Science**, v. 42, n. 5, p. 1-6, 2019.

GITTENS, A. R. et al. A Review on the Wettability of Dental Implant Surfaces II: Biological and Clinical Aspects. **Acta Biomaterials**, v. 10, n. 7, p. 2907-2918, 2014.

GONZÁLEZ-BENITO, J. et al. PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/carbon nanotubes ternary nanocomposites prepared by ball milling: Piezo and dielectric responses. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 29, p. 1-14, 2019.

GUAN, X.; XU, B.; GONG, J. Hierarchically architected polydopamine modified BaTiO<sub>3</sub>@P(VDF-TrFE) nanocomposite fiber mats for flexible piezoelectric nanogenerators and self-powered sensors. **Nano Energy**, v. 70, n. January, p. 104516, 2020.

GUEST, J. F. et al. Health economic burden that different wound types impose on the UK's National Health Service. **International Wound Journal**, v. 14, n. 2, p. 322-330, 2017.

GUO, H. et al. Organic phosphonic acid-modified BaTiO<sub>3</sub>/P(VDF-TrFE) composite with high output in both voltage and power for flexible piezoelectric nanogenerators. **Materials Today Energy**, v. 17, 2020.

HAARON, A.; RAI, P.; UDDIN, I. Synthesis, Characterization and Dielectric Properties of BaTiO<sub>3</sub> Nanoparticles. **International Journal of nanoscience**, v. 19, n. 1, p. 1-8, 2020.

HELOU, G. M. R. **Biossíntese de nanopartículas de prata utilizando Cinnamomum zeylanicum em matriz de hidrogel para aplicação biomédica**. 2018. 127 f. Tese-Doutorado em Materiais para Engenharia- Universidade Federal de Itajubá, Itajubá.

HOSPORADOVA, V.; SINGVSKA, E.; STEVULONA, N. Characterization of Cellulosic Fibers by FTIR Spectroscopy for Their Further Implementation to Building Materials. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 09, n. 06, p. 303-310, 2018.

JACOB, J. et al. Piezoelectric smart biomaterials for bone and cartilage tissue engineering. **Inflammation and Regeneration**, v. 38, n. 1, p. 2, 2018.

JARA, C. P. et al. Novel fibrin-fibronectin matrix accelerates mice skin wound healing. **Bioactive Materials**, v. 5, n. 4, p. 949-962, 2020.

KALAN, L. R. et al. Targeting biofilms of multidrug-resistant bacteria with silver oxynitrate. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 49, n. 6, p. 719-726, 2017.

KANJI, S.; DAS, H. Advances of Stem Cell Therapeutics in Cutaneous Wound Healing and Regeneration. **Mediators of Inflammacion**, v. 2017, 2017.

KAPAT, K. et al. Piezoelectric Nano-Biomaterials for Biomedicine and Tissue Regeneration. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 44, 2020.

KIM, J. et al. High-Performance Piezoelectric, Pyroelectric, and Triboelectric Nanogenerators Based on P(VDF-TrFE) with Controlled Crystallinity and Dipole Alignment. **Advanced Functional Materials**, v. 27, n. 22, p. 1–8, 2017.

KUMARAVEL, V. et al. Antimicrobial TiO<sub>2</sub> nanocomposite coatings for surfaces, dental and orthopaedic implants. **Chemical Engineering Journal**, v. 416, n. December 2020, p. 129071, 2021.

LARIOS, G. S. et al. Síntese e Caracterização de Submicrofibras de PVDF/GO via BlowSpinning. **Journal of Experimental Techniques and Instrumentation**, v.1, n. 4, p. 1-8, 2018.

LEE, S. H.; JUN, B. Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, 2019.

LI, Q. et al. A Flow Velocity Measurement Method Based on a PVDF Piezoelectric Sensor. **Sensors (Switzerland)**, v.19, n.7, 2019.

LI, J. AN. Et al. Enhancing biocompatibility and corrosion resistance of biodegradable MgZn-Y-Nd alloy by preparing PDA/HA coating for potential application of cardiovascular biomaterials. **Materials Science and Engineering C**, v. 109, n. September 2019, p. 110607, 2020.

LINDHOLM, C.; SEARLE, R. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. **International Wound Journal**. v. 13, p. 5-15, 2016.

LIU, H. et al. Improving hemocompatibility and accelerating endothelialization of vascular stents by a copper-titanium film. **Materials Science and Engineering C**, v. 69, p. 1175–1182, 2016.

LOPES, H. B. et al. Gene Expression Analysis of Bone Tissue Grown on P(VDF-TrFE)/BT Membrane Implanted in Rat Calvarial Defects. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 71, n. 9, Supplement 1, p. e88–e89, 2013.

LOPES, H. B. et al. Participation of MicroRNA-34a and RANKL on bone repair induced by poly(vinylidene-trifluoroethylene)/barium titanate membrane. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 27, n. 13, p. 1369–1379, 2016.

LUGG, N. R. et al. On the quantitiveness of EDS STEM. **Ultramicroscopy**, v. 151, p. 150-159, 2015.

LUZ, A. R. sistema de classificação da sociedade de cirurgia vascular wound, ischemia, foot infection (wifi): caracterização das feridas. **Revista Enfermagem Atual**, v. 95, n. 33, 2021.

MAGALHÃES, R. S. et al. Síntese de BaTiO<sub>3</sub>e SrTiO<sub>3</sub> pelo método hidrotermal assistido por micro-ondas utilizando anatase como precursor de titânio. **Q uímica Nova**, v. 40, n. 2, p. 166-170, 2017.

MAI, M. et al. Ferroelectric Polymer Thin Films for Organic Electronics. **Journal of Nanomaterials**, v. 2015, 2015.

MAILLARD, J. Y.; HARTEMANN, P. Silver as an antimicrobial: facts and gaps in knowledge. **Critical reviews in microbiology**, v. 39, n. 4, p. 373-383, 2013.

MARTINS, J. N, 2010, “Preparação e caracterização de nanocompósitos de poli(fluoreto de vinilideno) com poss e nanotubos de carbono”, Dissertação de Mestrado, PPGCIMAT/UFRGS Rio Grande do Sul, RS, Brasil.

MARTINS, P.; LOPES, A. C.; LANCEROS-MENDEZ, S. Progress in Polymer Science Electroactive phases of poly ( vinylidene fluoride ): Determination , processing and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 39, n. 4, p. 683–706, 2014.

MEDICI, S. M. P.; NURCHI, V. M.; ZORODDU, M. A. Medical Uses of Silver: History, Myths, and Scientific Evidence. **Journal of Medicinal Chemistry**. 2019, v.62, p. 5923–5943.

MENDES, E. et al. The influence of particle size and AgNO<sub>3</sub> concentration in the ionic exchange process on the fungicidal action of antimicrobial glass. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, n. 6, p. 1518-1523, 2012.

MENDES, S. F. et al. Effect of filler size and concentration on the structure and properties of poly(vinylidene fluoride)/BaTiO<sub>3</sub> nanocomposites. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 3, p. 1378-1388, 2012.

MOHAN, A. et al. Silver nanoparticles impregnated pH-responsive nanohybrid system for the catalytic reduction of dyes. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 303, n. April, p. 110260, 2020.

MOTHÉ, C.G.; AZEVEDO, A.D. **Análise Térmica de Materiais**. Artiber,2009.

NEIVA, L. S. et al. Síntese de Materiais Cerâmicos com Estrutura Perovskita ( BaTiO<sub>3</sub>) e Análise das suas Características Estruturais e Constantes Dielétricas. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, p. 96–104, 2017.

NUNES-PEREIRA, J. et al. Poly(vinylidene fluoride) and copolymers as porous membranes for tissue engineering applications. **Polymer Testing**, v. 44, p. 234–241, 2015.

OLIVEIRA, M. A. et al. Structural and microstructural analyses on Smmodified BaTiO<sub>3</sub> obtained from the Pechini's method. **Ferroelectrics**, v. 533, n.1, p. 99–107, 2018.

OMAR, A. et al. Microbial Biofilms and Chronic Wounds. **Microorganisms**, v. 5, n. 1, p. 9, 2017.

OSKARSSON, A. Barium. **Handbook on the Toxicology of Metals: Fourth Edition**, v. 1, p. 625–634, 2015.

OTTO, M. Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. **Annual Review of Medicine**, v. 64, p. 175–188, 2013a.

PINHEIRO, L. C. S. et al. Synthesis of benzoylthiourea derivatives and analysis of their antibacterial performance against planktonic *Staphylococcus aureus* and its biofilms. **Letters in Applied Microbiology**, v. 71, n. 6, p. 645–651, 2020.

POBLETE JARA, C. et al. Biofilme e feridas crônicas: reflexões para o cuidado de enfermagem. **Revista Enfermagem Atual**, p. 76–80, 2015.

POWERS, J. G. et al. Wound healing and treating wounds Chronic wound care and management. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 607–625, 2016.

PRAKASH, C. G. J.; RAJ, C. C.; PRASANTH, R. Fabrication of zero contact angle ultra-super hydrophilic surfaces. **Journal of Colloid And Interface Science**, v. 496, p. 300–310, 2017.

RAM, F. et al. PVDF/BaTiO<sub>3</sub> films with nanocellulose impregnation: Investigation of

structural, morphological and mechanical properties. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 823, p. 153701, 2020.

RANDAL, C. P. et al. The silver cation ( $\text{Ag}^+$ ): Antistaphylococcal activity, mode of action and resistance studies. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 1, p. 131-138, 2013.

RIBEIRO, C. et al. Electroactive poly (vinylidene fluoride)-based structures for advanced applications. **Nature**, Portugal, v. 13, n. 4, p. 681-704, 2018.

RUSSO, P. et al. Single fibres of pyro-electrospun PVDF-HFP/MWCNT unveil high electrical conductivity. **Polymer**, v.159, n. October, p. 157-161, 2018.

SACKEY, J. et al. Antibacterial effect of silver nanoparticles synthesised on a polycarbonate membrane. **Materials Today: Proceedings**, v. 36, p. 336-342, 2020.

SANCHEZ, F. A.; GONZALEZ-BENITO, J. PVDF BaTiO<sub>3</sub>/Carbon Nanotubes Ternary Nanocomposites: Effect of Nanofillers and Processing. **Polymer Composites**, v. 38, n. 2, p. 1-9, 2015.

SCALIZE, P. H. et al. Poly(Vinylidene Fluoride-Trifluoroethylene)/barium titanate membrane promotes de novo bone formation and may modulate gene expression in osteoporotic rat model. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 27, n. 12, 2016.

SHAH, S. A. et al. Biopolymer-based biomaterials for accelerated diabetic wound healing: A critical review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 975-993, 2019.

SHARMA, M.; GAUR, A. Fabrication of PVDF/BaTiO<sub>3</sub>/NiO nanocomposite film as a separator for supercapacitors. **Journal of Energy Storage**, v. 38, n. October 2020, p. 102500, 2021.

SHARMA, M.; QUAMARA, J. K.; GAUR, A. Behaviour of multiphase PVDF in  $(1-x)$ PVDF/ $(x)$ BaTiO<sub>3</sub> nanocomposite films: structural, optical, dielectric and ferroelectric properties. **Journal of Materials Science: Materials in Electronics**, v. 29, n. 13, p. 10875-10884, 2018.

SHI, C. et al. Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds. **Frontiers Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, n. March, p. 1-17, 2020.

SILAKAEW, K.; THONGBAI, P. Significantly improved dielectric properties of multiwall carbon nanotube-BaTiO<sub>3</sub>/PVDF polymer composites by tuning the particle size of the ceramic filler. **RSC Advances**, v. 9, n. 41, p. 23498-23507, 2019.

SIMÕES, A. C. R. **Síntese de membranas/compósitos P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> associado ao peptídeo OGP com aplicações médicas**. 2018. Dissertação- Doutorado em Materiais para Engenharia- Universidade Federal de Itajubá, Itajubá.

SINGH, P. K.; GAUR, M. S. Enhancement of  $\beta$ -phase of P(VDF-TrFE)<sub>60/40</sub> by BaTiO<sub>3</sub> nanofiller. **Ferroelectrics**, v. 524, n. 1, 2018.

SOLOMONS, T. W. Graham; Fryhle, Craig B. **Química Orgânica**, vol. 1, 11 ed. LTC, 2011.

SPICER, C.D. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: the importance of polymer choice. **Polymer Chemistry**, v. 11, n. 2, p. 184-219, 2020.

STARON, P. et al. Sorption behavior of *Arachis hypogaea* shells against Ag<sup>+</sup> Ions and assessment of antimicrobial properties of the product. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 16, p. 19530-19542, 2020.

STRNAD, G. et al. Contact Angle Measurement on Medical Implant Titanium Based Biomaterials. **Procedia Technology**, v. 22, p. 946-953, 2016.

SU, Y. P. et al. Incorporation of barium titanate nanoparticles in piezoelectric PVDF membrane. **Journal of Membrane Science**, v. 640, n. september, p. 119861, 2021.

SUNIL, J. et al. Thermal properties of aqueous silver nanoparticle dispersion. **Materials Today: Proceedings**, v. 37, n. Part 2, p. 80-84, 2020.

TANDON, B.; BLAKER, J. J.; CARTMELL, S. H. Piezoelectric materials as stimulatory biomedical materials and scaffolds for bone repair. **Acta Biomaterialia**, v. 73, p. 1–20, 2018.

TANG, B. et al. Enhanced cellular osteogenic differentiation on CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/P(VDF-TrFE) nanocomposite coatings under static magnetic field. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Enhanced**, n. July, 2020.

TOLFO, G.R. et al. Nurse's performance in the care of chronic wounds in Primary Health Care: integrative review. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, 2020.

TORRES-FLORES, E. I. et al. Silver nanoparticles in natural zeolites incorporated into commercial coating: antibacterial study. **Applied Physics A: Materials Science and Processing**, v. 127, n. 1, p. 1-11, 2021.

TOTTOLI, E. M. et al. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 1-30, 2020.

ULLAH, S. et al. Silver sulfadiazine loaded zein nanofiber mats as a novel wound dressing. **RSC Advances**, v. 9, n. 1, p. 268-277, 2019.

VACCHE, S. D. et al. The effect of processing conditions on the morphology, thermomechanical, dielectric, and piezoelectric properties of P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> composites. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 11, p. 4763–4774, 2012.

VACCHE, S. D. et al. Effect of silane coupling agent on the morphology, structure, and properties of poly(vinylidene fluoride–trifluoroethylene)/BaTiO<sub>3</sub> composites. **Journal of Materials Science**, v. 49, n. 13, p. 4552–4564, 2014.

VANDERA, K. K. A. et al. Antibiotic-in-Cyclodextrin-in-Liposomes: Formulation

Development and Interactions with Model Bacterial Membranes. **Molecular Pharmaceutics**, v. 17, n. 7, p. 2354-2369, 2020.

VIEIRA, C. P. B.; ARAÚJO, T. M. E. Prevalência e fatores associados a feridas crônicas em idosos na atenção básica. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 52, n. e3415, p. 1-8, 2018.

WAKSHLAK, R. B.; PEDAHZUR, R.; AVNIR, D. Antibacterial activity of silver-killed bacteria: the "zombies" effect. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1-5, 2015.

YI, L. et al. Antibiotic resistance related to biofilm formation in *Streptococcus suis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 20, p. 8649-8660, 2020.

ZAKIA, M. et al. Development of silver nanoparticle-based hydrogel composites for antimicrobial activity. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 13, n. 1, p. 34-40, 2020.

ZENG, Z. et al. Graphene Oxide Quantum Dots Covalently Functionalized PVDF Membrane with Significantly Enhanced Bactericidal and Antibiofouling Performances. **Scientific Reports**, v. 6, n. February, p. 1-11, 2016.

ZHENG, Y. et al. Antimicrobial and osteogenic effect of Ag-implanted titanium with a nanostructured surface. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 875-884, 2012.

ZHUANG, Y. et al. Flexible composites with Ce-doped BaTiO<sub>3</sub>/P(VDF-TrFE) nanofibers for piezoelectric device. **Composites Science and Technology**, v. 200, n. April, p. 108386, 2020.