



**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU***  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS**  
**MATERIAIS**  
**MESTRADO ACADÊMICO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

**ANDRESSA ROCHA BYSTRONSKI**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE LÁTEX DE BORRACHA**  
**NATURAL CONTENDO PRÓPOLIS VERMELHA E COBRE PARA APLICAÇÕES**  
**BIOMÉDICAS**

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giovanela  
Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Nayrim Brizuela Guerra

**CAXIAS DO SUL**

**2023**

**ANDRESSA ROCHA BYSTRONSKI**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE LÁTEX DE BORRACHA  
NATURAL CONTENDO PRÓPOLIS VERMELHA E COBRE PARA APLICAÇÕES  
BIOMÉDICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Materiais da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giovanela  
Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Nayrim Brizuela Guerra

**CAXIAS DO SUL  
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Universidade de Caxias do Sul  
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

B997p Bystronski, Andressa Rocha

Preparação e caracterização de filmes de látex de borracha natural contendo própolis vermelha e cobre para aplicações biomédicas [recurso eletrônico] / Andressa Rocha Bystronski. – 2023.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2023.

Orientação: Marcelo Giovanela.

Coorientação: Nayrim Brizuela Guerra.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Látex. 2. Materiais biomédicos. 3. Própolis. I. Giovanela, Marcelo, orient.  
II. Guerra, Nayrim Brizuela, coorient. III. Título.

CDU 2. ed.: 633.9

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)  
Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

**ANDRESSA ROCHA BYSTRONSKI**

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE LÁTEX DE BORRACHA  
NATURAL CONTENDO PRÓPOLIS VERMELHA E COBRE PARA APLICAÇÕES  
BIOMÉDICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Materiais da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais.

Caxias do Sul, 16 de junho de 2023.

**Banca Examinadora**

Prof. Dr. Marcelo Giovanela (orientador)  
Universidade de Caxias do Sul

Dr<sup>a</sup>. Nayrim Brizuela Guerra (coorientadora)  
Universidade de Caxias do Sul

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Margarete Meier  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof. Dr. César Aguzzoli  
Universidade de Caxias do Sul

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janete Eunice Zorzi  
Universidade de Caxias do Sul

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Marialice e Cezar, por serem a minha base, por todos os esforços que fizeram para que eu conseguisse chegar até aqui. A toda a minha família, pelo carinho, amor e compreensão dedicados a mim. Ao meu namorado, Lucas Tomasetto Scopel, por estar sempre ao meu lado, por todo apoio e dedicação. Obrigada por tudo!

A todos os meus colegas de laboratório e amigos que fiz durante o mestrado.

À minha psicóloga Vanessa de Cesero Holuigue por não me deixar desistir e me manter de pé.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Giovanela e à minha coorientadora Dr<sup>a</sup> Nayrim Brizuela Guerra, por toda a paciência e auxílio durante essa jornada. Agradeço imensamente por ter trabalhado com vocês!

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Margarete Meier e ao Prof. Dr. Alexandre Michels pelas valiosas contribuições na banca de qualificação. Ao Prof. Dr. César Aguzzoli, que me auxiliou em vários momentos e à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janete Eunice Zorzi por aceitar o convite para fazer parte da banca.

Agradeço a todos os professores do PPGMAT, pelas valiosas contribuições à minha formação. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, muito obrigada!

Por fim, agradeço a Deus, sem o Qual nada disso seria possível.

## RESUMO

A cicatrização de feridas pode ser retardada em função da resistência e da tolerância a vários antimicrobianos tópicos que são frequentemente utilizados para essa finalidade. Nesse contexto, o desenvolvimento de curativos com materiais que possuem propriedades angiogênicas e bactericidas é desejável, uma vez que possibilitam tratar tais infecções por um longo período de tempo e de forma local. Nesse estudo foram preparados filmes de látex de borracha natural (LBN) contendo própolis vermelha e óxido de cobre (II)/nanopartículas de óxido de cobre (II) (CuO/CuONPs). Os filmes foram obtidos em diferentes condições de temperatura e tempo (65 °C por 24 h, 40 °C por 24 h, 40 °C por 12 h com circulação forçada de ar, e à temperatura ambiente). Tratamentos superficiais adicionais com plasma, utilizando os gases oxigênio, hidrogênio e uma mistura de ambos, além da deposição de cobre usando a técnica de *magnetron sputtering*, foram igualmente realizados. Os filmes foram então caracterizados pelas técnicas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (FTIR-ATR), microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG), espectroscopia por dispersão em energia (EDS) e fluorescência de raios X (XRF), e por medidas de ângulo de contato. A liberação de cobre dos filmes, por sua vez, foi avaliada pela técnica de espectroscopia de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), enquanto os ensaios antibacterianos foram realizados com inóculos de *Escherichia coli*. De modo geral, os filmes apresentaram caráter hidrofílico, com valores de ângulo de contato entre 22° e 65°; porém, com o passar do tempo, e devido ao envelhecimento do LBN, tornam-se mais hidrofóbicos. Além disso, os resultados obtidos a partir dos filmes que foram preparados por meio da incorporação direta de CuO/CuONPs ao látex indicaram ausência de atividade bactericida, uma vez que o cobre reage com a matriz polimérica, promovendo a desintegração dos mesmos com o passar do tempo e, conseqüentemente, impossibilitando a visualização do mesmo por MEV-FEG e EDS. Em contrapartida, os resultados inerentes aos filmes preparados por *magnetron sputtering* revelaram que o modo de acondicionamento influencia diretamente na atividade bactericida. Os filmes conservados em dessecador apresentaram propriedades bacteriostáticas a partir de 10 s de deposição de cobre, enquanto aqueles que ficaram sob a bancada apresentaram uma menor atividade bacteriostáticas, devido à formação de óxidos. A análise por meio das técnicas de MEV-FEG e EDS demonstrou que a quantidade de cobre na superfície das amostras e o aumento do ângulo de contato estão diretamente ligados ao tempo de deposição de cobre. O resultado de liberação de cobre foi 0,16 mg/L, estando bem abaixo do limite padrão para lançamento de efluentes. Finalmente, o conjunto de todos os resultados indicou que os filmes de LBN/própolis vermelha/cobre podem ser considerados uma alternativa frente aos curativos de feridas tradicionais; porém, estudos mais aprofundados principalmente de caráter biológico, como de citotoxicidade, e a melhora da hidrofiliidade dos filmes são ainda necessários.

**Palavras-chave:** Látex de borracha natural. Própolis vermelha. Cobre. Biomaterial. Antibacteriano. Filmes. *Magnetron sputtering*.

## ABSTRACT

Wound healing can be delayed due to resistance and tolerance to several topical antimicrobials that are often used for this purpose. In this context, the development of dressings with materials that have angiogenic and bactericidal properties is desirable, since they make it possible to treat such infections for a long period of time and locally. In this study, natural rubber latex (NRL) films containing red propolis and copper (II) oxide/copper (II) oxide nanoparticles (CuO/CuONPs) were prepared. The films were obtained under different conditions of temperature and time (65 °C for 24 h, 40 °C for 24 h, 40 °C for 12 h with forced air circulation, and at room temperature). Additional surface treatments with plasma, using oxygen, hydrogen and a mixture of both gases, in addition to copper deposition using the magnetron sputtering technique, were also performed. The films were then characterized by the techniques of infrared spectroscopy with Fourier transform and attenuated total reflectance (FTIR-ATR), scanning electron microscopy with field emission (FEG-SEM), energy dispersion spectroscopy (EDS) and X-ray fluorescence (XRF), and by contact angle measurements. The release of copper from the films was evaluated using the inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) technique, while antibacterial assays were performed with inoculum of *Escherichia coli*. In general, the films showed a hydrophilic character, with contact angle values between 22° and 65°; however, in the course of time and due to the aging of the NRL, they become more hydrophobic. In addition, the results obtained from the films that were prepared through the direct incorporation of CuO/CuONPs into the latex indicated the absence of bactericidal activity, since copper reacts with the polymeric matrix, promoting their disintegration over time and, consequently, making it impossible to visualize it by FEG-SEM and EDS. On the other hand, the results inherent to the films prepared by magnetron sputtering revealed that the way of conditioning directly influences the bactericidal activity. The films preserved in a desiccator showed bacteriostatic properties after 10 s of copper deposition, while those that remained under the bench showed less bacteriostatic activity due to the formation of oxides. The analysis using FEG-SEM and EDS techniques demonstrated that the amount of copper on the surface of the samples and the increase in the contact angle are directly linked to the time of copper deposition. The copper release result was 0.16 mg/L, below the standard limit for wastewater release. Finally, the set of all results indicated that NRL/red propolis/copper films can be considered an alternative to traditional wound dressings; however, deeper studies, mainly of a biological nature, such as cytotoxicity and the improvement of the hydrophilicity of the films are still necessary.

**Key words:** Natural rubber latex. Red propolis. Copper. Biomaterial. Antibacterial. Films. Magnetron sputtering.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Processo de extração do LBN a partir da <i>Hevea brasiliensis</i> .....	26
<b>Figura 2</b> - Representação esquemática da polimerização do isopreno .....	27
<b>Figura 3</b> - Imagens da (a) <i>Dalbergia ecastophyllum</i> ; (b) resina sendo coletada pela abelha e (c) produção da própolis vermelha .....	29
<b>Figura 4</b> - Esquema da síntese de NPs pelos métodos <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i> .....	32
<b>Figura 5</b> - Representação da síntese verde de NPs metálicas a partir de plantas, bactérias e fungos .....	33
<b>Figura 6</b> - Registro fotográfico de uma (a) câmara de vácuo para tratamento a plasma e (b) de uma amostra sob tratamento a plasma .....	37
<b>Figura 7</b> - Esquema para o <i>magnetron sputtering</i> .....	38
<b>Figura 8</b> - Registro fotográfico do equipamento de <i>magnetron sputtering</i> .....	39
<b>Figura 9</b> - Registro fotográfico da amostra do primeiro lote.....	51
<b>Figura 10</b> - Registro fotográfico da amostra do segundo lote com secagem com circulação forçada de ar a 40 °C por 12 h .....	52
<b>Figura 11</b> - Registro fotográfico dos filmes de LBN desenvolvidos no segundo lote .....	53
<b>Figura 12</b> - Registro fotográfico da amostra 2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h (a) no dia 0 e (b) 90 dias após a secagem.....	54
<b>Figura 13</b> - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h, (b) 2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h, (c) 2LBN-PRÓP/40 °C-24 h e (d) 2LBN/40 °C-24 h; (e) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN.....	56
<b>Figura 14</b> - Espectros de FTIR-ATR e valores de ângulo de contato dos filmes (a) 3LBN/40 °C-24 h e do filme de (b) LBN novo .....	61
<b>Figura 15</b> - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h, (b) 3LBN-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, (c) 3LBN-PRÓP/40 °C-24 h e (d) 3LBN/40 °C-24 h; (e) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN.....	65
<b>Figura 16</b> - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, (b) 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, (c) 3LBN-PRÓP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d e (d) 3LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d; (e) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN.....	66
<b>Figura 17</b> - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d com e sem tratamento a plasma, (b) 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d com e sem tratamento a plasma, (c) 3LBN-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d; (d) 3LBN-PRÓP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d com e sem tratamento a plasma; (e) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN .....	68



<b>Figura 18</b> - Micrografias de MEV-FEG dos filmes <b>(a)</b> 3LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(b)</b> 3LBN-PRÓP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(c)</b> 3LBN-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.- 7 d, <b>(d)</b> 3LBN-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(e)</b> 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d e <b>(f)</b> 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d..	71
<b>Figura 19</b> - Mapa de EDS para o elemento cobre do filme 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d.....	72
<b>Figura 20</b> - Teste de disco-difusão para as amostras <b>(a)</b> 3LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(b)</b> 3LBN-PRÓP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(c)</b> 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(d)</b> 3LBN-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(e)</b> 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d e <b>(f)</b> 3LBN-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d.....	73
<b>Figura 21</b> - Teste em meio líquido para as amostras <b>(a)</b> 3LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(b)</b> 3LBN-PRÓP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(c)</b> 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(d)</b> 3LBN-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(e)</b> 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(f)</b> 3LBN-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(g)</b> controle positivo e <b>(h)</b> controle negativo .....	74
<b>Figura 22</b> - Registro fotográfico dos filmes <b>(a)</b> 4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d e <b>(b)</b> 4LBN-PRÓP-1.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d.....	75
<b>Figura 23</b> - Espectros de FTIR-ATR das amostras do <b>(a)</b> quarto lote e <b>(b)</b> análise quantitativa das áreas das bandas do LBN .....	76
<b>Figura 24</b> - Teste de disco-difusão para as amostras <b>(a)</b> 4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(b)</b> 4LBN-PRÓP-1.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(c)</b> 4LBN-PRÓP-1.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d e <b>(d)</b> 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d.....	77
<b>Figura 25</b> - Teste em meio líquido para as amostras <b>(a)</b> controle negativo, <b>(b)</b> controle positivo, <b>(c)</b> 4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(d)</b> 4LBN-PRÓP-1.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d, <b>(e)</b> 4LBN-PRÓP-1.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d e <b>(f)</b> 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d .....	78
<b>Figura 26</b> - Registro fotográfico no dia 0 da amostra 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d <b>(a)</b> sem e <b>(b)</b> com glutaraldeído .....	80
<b>Figura 27</b> - Registro fotográfico do processo de pré-vulcanização dos filmes de LBN, própolis vermelha e CuONPs .....	81
<b>Figura 28</b> - Espectros de FTIR-ATR das amostras obtidas por meio de <b>(a)</b> testes de evaporação e <b>(b)</b> com reticulante; <b>(c)</b> análise quantitativa das áreas das bandas do LBN.....	82
<b>Figura 29</b> - Teste de disco-difusão para as amostras de LBN, própolis vermelha, glutaraldeído e <b>(a)</b> 2% m/m de CuONPs, <b>(b)</b> 5% m/m de CuONPs e <b>(c)</b> 10% m/m de CuONPs.....	84
<b>Figura 30</b> - Teste em meio líquido para as amostras <b>(a)</b> controle negativo, <b>(b)</b> controle positivo, <b>(c)</b> 2% m/m de CuONPs, <b>(d)</b> 5% m/m de CuONPs e <b>(e)</b> 10% m/m de CuONPs.....	85

<b>Figura 31</b> - Teste de crescimento de bactérias presentes em meio líquido da amostra com 10% m/m de CuONPs .....	85
<b>Figura 32</b> - Registro fotográfico dos filmes (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h; (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h; (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h; (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h; (e) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h e (f) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h.....	87
<b>Figura 33</b> - Espectros de FTIR-ATR das amostras do quinto lote acondicionadas em (a) bancada e (b) dessecador; (c) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN.....	88
<b>Figura 34</b> - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h e (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h; (c) análise quantitativa das áreas de bandas do LBN .....	89
<b>Figura 35</b> - Fluorescência de raios X para as amostras do quinto lote.....	91
<b>Figura 36</b> - Micrografias de MEV-FEG dos filmes do quinto lote acondicionados em (a) bancada e (b) dessecador .....	92
<b>Figura 37</b> - Mapa de EDS para o elemento cobre dos filmes (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h, (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h, (e) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h e (f) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h.....	93
<b>Figura 38</b> - Mapa de EDS para o elemento Cu dos filmes (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15D/65 °C-24 h, (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20D/65 °C-24 h, (e) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30D/65 °C-24 h e (f) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h .....	94
<b>Figura 39</b> - Mapa de EDS para elemento O dos filmes (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h e (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h.....	95
<b>Figura 40</b> - Teste de disco-difusão para as amostras (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h e (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h.....	96
<b>Figura 41</b> - Teste em meio líquido para as amostras (a) controle negativo, (b) controle positivo, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h, (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h, (e) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15D/65 °C-24 h, (f) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20D/65 °C-24 h, (g) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30D/65 °C-24 h, (h) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h, (i) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, (j) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h,	

(k) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h, (l) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h,  
(m) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h e (n) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h... 98

**Figura 42** - Ensaio de liberação de cobre para as amostras (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/  
65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/  
65 °C-24 h e (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h..... 99

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes do segundo lote.....	114
<b>Quadro 2</b> - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes do terceiro lote com e sem tratamento a plasma em função do tempo.....	115
<b>Quadro 3</b> - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes do quarto lote.....	117
<b>Quadro 4</b> - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes dos testes de evaporação e com reticulante.....	117
<b>Quadro 5</b> - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes do quinto lote.....	117
<b>Quadro 6</b> - Resultados do ângulo de contato para os filmes do segundo lote.....	119
<b>Quadro 7</b> - Resultados do ângulo de contato para os filmes do terceiro lote.....	120
<b>Quadro 8</b> - Resultados do ângulo de contato para os filmes do quinto lote.....	121

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Principais características das própolis vermelha, verde e marrom.....	31
<b>Tabela 2</b> - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do primeiro lote .....	42
<b>Tabela 3</b> - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do segundo lote .....	42
<b>Tabela 4</b> - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do terceiro lote .....	43
<b>Tabela 5</b> - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do quarto lote .....	44
<b>Tabela 6</b> - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do quinto lote .....	47
<b>Tabela 7</b> - Atribuição das principais bandas de absorção encontradas nos espectros de FTIR-ATR dos filmes de LBN.....	57

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

% m/m	Porcentagem massa/massa
% v/v	Porcentagem volume/volume
µm	Micrômetro
AgNPs	Nanopartículas de prata
ATR	<i>Attenuated total reflectance</i> (Refletância total atenuada)
cf	Circulação forçada de ar
cm	Centímetro
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CONSEMA	Conselho Estadual do Meio Ambiente
cont.	Controlada
CuONPs	Nanopartículas de óxido de cobre (II)
d	Dia
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
EDS	Espectroscopia por dispersão em energia
FTIR	<i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i> (Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier)
g	Gramma
G.S.	Grau de significância
h	Hora
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry</i> (Espectroscopia de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente)
L	Litro
LBN	Látex de borracha natural
m	Metro
MHz	Megahertz
mbar	Milibar
MEV-FEG	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro

nm	Nanômetro
NPs	Nanopartículas
$\Theta$	Ângulo de contato
PECVD	<i>Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition</i> (Deposição química em fase de vapor assistida por plasma)
rpm	Rotações por minuto
s	Segundo
$T_{amb}$	Temperatura ambiente
UFC	Unidade formadora de colônias
UV	<i>Ultraviolet</i> (Radiação ultravioleta)
W	Watt
XRF	<i>X-ray fluorescence</i> (Fluorescência de raios X)
ZDEC	<i>Zinc diethyl dithiocarbamate</i> (Dietilditiocarbamato de zinco)
ZnONPs	Nanopartículas de óxido de zinco
$\alpha$	Alfa
$\omega$	Ômega
°C	Grau Celsius
$\approx$	Aproximadamente
$\pm$	Mais ou menos
$>$	Maior
$\geq$	Maior/igual

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
1.1 OBJETIVOS.....	19
1.1.1 Objetivo geral.....	19
1.1.2 Objetivos específicos.....	19
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>21</b>
2.1 CURATIVOS .....	21
2.2 BIOMATERIAIS .....	22
2.3 BIOMATERIAIS POLIMÉRICOS.....	24
2.4 LÁTEX DE BORRACHA NATURAL (LBN).....	25
2.5 PRÓPOLIS .....	28
2.6 NANOPARTÍCULAS .....	31
<b>2.6.1 Nanopartículas de óxido de cobre (II) .....</b>	<b>34</b>
2.7 FILMES DE LBN CONTENDO PRÓPOLIS E NANOPARTÍCULAS METÁLICAS ...	34
2.8 MODIFICAÇÃO SUPERFICIAL.....	35
<b>2.8.1 Plasma.....</b>	<b>36</b>
<b>2.8.2 Deposição física de vapor por <i>magnetron sputtering</i> .....</b>	<b>38</b>
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>40</b>
3.1 MATERIAIS .....	40
3.1.1 Látex de borracha natural (LBN).....	40
3.1.2 Própolis vermelha .....	40
3.1.3 Óxido de cobre (II) e nanopartículas de óxido de cobre (II) .....	40
3.2 MÉTODOS.....	41
3.2.1 Quantidades de LBN, própolis vermelha e CuO/CuONPs.....	41
3.2.2 Preparação dos filmes de LBN .....	41
3.2.3 Tratamento a plasma.....	45
3.2.4 Deposição de cobre por <i>magnetron sputtering</i> .....	46



3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES .....	47
3.3.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier .....	47
3.3.2 Medição do ângulo de contato .....	48
3.3.3 Fluorescência de raios X .....	49
3.3.4 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo e espectroscopia por dispersão em energia .....	49
3.3.5 Ensaio antibacteriano.....	49
3.3.6 Ensaio de liberação de cobre .....	50
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	51
4.1 PRIMEIRO LOTE DE FILMES DE LBN .....	51
4.1.1 Preparação dos filmes .....	51
4.2 SEGUNDO LOTE DE FILMES DE LBN .....	52
4.2.1 Preparação dos filmes .....	52
4.2.2 Tratamento a plasma.....	54
4.2.3 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR.....	55
4.2.4 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN .....	59
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS NOVOS FILMES DE LBN .....	61
4.4 TERCEIRO LOTE DE FILMES DE LBN .....	62
4.4.1 Preparação dos filmes .....	62
4.4.2 Tratamento a plasma.....	63
4.4.3 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR.....	63
4.4.4 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN .....	69
4.4.5 Avaliação da morfologia dos filmes de LBN .....	70
4.4.6 Ensaio antibacterianos.....	73
4.5 QUARTO LOTE DE FILMES DE LBN .....	74
4.5.1 Preparação dos filmes .....	74
4.5.2 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR.....	75

<b>4.5.3 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN .....</b>	<b>76</b>
<b>4.5.4 Ensaios antibacterianos.....</b>	<b>77</b>
<b>4.6 TESTES DE EVAPORAÇÃO, ADIÇÃO DE RETICULANTE e PRÉ-VULCANIZAÇÃO .....</b>	<b>79</b>
<b>4.6.1 Preparação dos filmes .....</b>	<b>79</b>
<b>4.6.2 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR.....</b>	<b>81</b>
<b>4.6.3 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN .....</b>	<b>83</b>
<b>4.6.4 Ensaios antibacterianos.....</b>	<b>83</b>
<b>4.7 QUINTO LOTE DE FILMES DE LBN.....</b>	<b>86</b>
<b>4.7.1 Preparação dos filmes .....</b>	<b>86</b>
<b>4.7.2 Deposição de cobre .....</b>	<b>86</b>
<b>4.7.3 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR.....</b>	<b>87</b>
<b>4.7.4 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN .....</b>	<b>90</b>
<b>4.7.5 Fluorescência de raios X .....</b>	<b>90</b>
<b>4.7.6 Avaliação da morfologia dos filmes de LBN .....</b>	<b>91</b>
<b>4.7.7 Ensaios antibacterianos.....</b>	<b>96</b>
<b>4.7.8 Ensaio de liberação de cobre .....</b>	<b>98</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>100</b>
<b>6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>102</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>104</b>
<b>APÊNDICE A – ANÁLISE QUANTITATIVA DAS ÁREAS DAS BANDAS DO LBN OBTIDAS NOS ESPECTROS FTIR-ATR.....</b>	<b>114</b>
<b>APÊNDICE B – RESULTADOS DO ÂNGULO DE CONTATO .....</b>	<b>119</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas associados à cicatrização de feridas é a resistência e tolerância aos antimicrobianos tópicos utilizados convencionalmente para reduzir as infecções, devido ao seu uso recorrente (MIHAI *et al.*, 2018). Por isso, o desenvolvimento de curativos contendo substâncias com propriedades bactericidas é desejável, uma vez que possibilitam tratar tais infecções por um longo período de tempo e de forma local (SCHEIBEL *et al.*, 2021).

Os curativos podem ser constituídos de biomateriais, ou seja, “substâncias, que não sejam drogas, ou uma combinação de substâncias naturais ou sintéticas, e que durante um certo tempo são utilizadas como um todo ou parte que integra um sistema de forma que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função corporal” (STEIN; GEHLEN; ROJAS, 2019). Ainda, deve ser biocompatível com o corpo humano, não liberando toxinas e não causar rejeição pelo mesmo (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2021). A classe de biomateriais poliméricos é uma das mais utilizadas na área de aplicações biomédicas por causa de suas propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas, que se assemelham em muito com alguns tecidos do corpo humano (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2021).

O látex de borracha natural (LBN) é considerado um biomaterial polimérico (GUERRA *et al.*, 2021) e uma de suas propriedades mais importantes é a angiogênese, ou seja, a capacidade induzir à formação de novos vasos sanguíneos (MANO; MENDES, 2018). Essa propriedade faz com que o LBN seja uma opção muito interessante na área de cicatrização de feridas (FERREIRA *et al.*, 2009). Além disso, esse biomaterial polimérico pode ser misturado com substâncias antimicrobianas, como a própolis e diferentes nanopartículas visando a obtenção de filmes com tais características (GARCIA *et al.*, 2021; KRUPP *et al.*, 2019; TIWARI *et al.*, 2014; ZANCANELA *et al.*, 2018; ZANCANELA *et al.*, 2017).

A própolis é uma substância resinosa coletada de plantas por abelhas, sendo utilizada para proteger a colmeia (GARCIA *et al.*, 2021; SIMONE-FINSTROM; SPIVAK, 2010). A própolis vermelha, em particular, é encontrada em colmeias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas, que coletam resina principalmente da planta *Dalbergia ecastophyllum* (DAUGSCH, 2007). Essa substância é considerada um remédio natural desde os tempos antigos, sendo muito utilizada nos dias de hoje por causa de suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, antitumorais, antivirais, entre outras (CASTALDO; CAPASSO, 2002).

As nanopartículas, por sua vez, são materiais com dimensões nanométricas e que, por serem muito pequenas, acabam diferindo de outras partículas não por suas propriedades químicas, mas sim pelo seu tamanho (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2021). As nanopartículas de óxido de cobre (II) (CuONPs), em particular, têm um alto potencial bactericida e fungicida, além de serem muito utilizadas para entrega de fármacos e cicatrização de feridas (ARGUETA-FIGUEROA *et al.*, 2014; GHOSH *et al.*, 2019; SANKAR *et al.*, 2014; TIWARI *et al.*, 2014). No entanto, a toxicidade e a biocompatibilidade das CuONPs ainda é uma preocupação por parte de vários pesquisadores e, por esse motivo, seu potencial toxicológico deve ser melhor compreendido (DANNA *et al.*, 2016).

Para que um biomaterial possa ser utilizado como curativo, este deve apresentar algumas características importantes, tais como biocompatibilidade e molhabilidade (MIHAI *et al.*, 2018). Geralmente, as superfícies dos materiais poliméricos que serão utilizados como biomateriais devem apresentar comportamento hidrofílico, uma vez que estes materiais estarão em contato direto com o ambiente biológico (GARCIA *et al.*, 2021). Essas características podem ser modificadas por meio de tratamento superficial a plasma, sendo esta uma das técnicas mais eficazes para alterar as propriedades dos materiais (YOSHIDA *et al.*, 2013). Além disso, o plasma é mais rápido que outros métodos, sendo considerado também

um processo de esterilização (UENO *et al.*, 2000; YOSHIDA *et al.*, 2013). Outra técnica de modificação de superfícies é a deposição física de vapor por *magnetron sputtering* (SARAKINOS; ALAMI; KONSTANTINIDIS, 2010). Essa técnica consiste na deposição de outro material sob a superfície da amostra (SARAKINOS; ALAMI; KONSTANTINIDIS, 2010) e pode ser realizada de forma rápida, garantindo a integridade do substrato (SILVA *et al.*, 2023).

Nesse contexto, esse trabalho tem por objetivo a preparação e a caracterização de filmes de LBN contendo própolis vermelha e Cu/CuO/CuONPs. Esses filmes foram obtidos sob diferentes condições experimentais, visando uma possível aplicação no âmbito dos curativos. Além disso, esses materiais foram igualmente tratados a plasma, visando modificar a molhabilidade dos mesmos, a fim de aprimorar suas propriedades para aplicação na área da saúde.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Preparar, modificar superficialmente e caracterizar dois conjuntos distintos de filmes de LBN: (i) o primeiro deles contendo própolis vermelha e CuO/CuONPs, tratados com diferentes tipos de plasma, e o (ii) segundo contendo própolis vermelha e cobre depositado por *magnetron sputtering*, visando à possível utilização desses materiais como curativos na área biomédica.

### 1.1.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos desse trabalho são:

- a) preparar filmes de LBN contendo própolis vermelha e CuO/CuONPs;

- b) modificar as superfícies dos filmes obtidos em (a) com diferentes tratamentos a plasma (hidrogênio, oxigênio e mistura de ambos os gases);
- c) realizar a deposição de cobre em filmes de LBN contendo própolis vermelha, utilizando diferentes tempos e formas de acondicionamento das amostras;
- d) avaliar a estabilidade dos filmes em função do tempo de prateleira (validade das amostras);
- e) caracterizar os filmes obtidos por meio das técnicas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (FTIR-ATR), microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG), espectroscopia por dispersão em energia (EDS), fluorescência de raios X (XRF) e ângulo de contato;
- f) realizar estudos de liberação de cobre com as amostras obtidas por *magnetron sputtering*, quantificando o metal por meio da técnica de espectroscopia de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) para verificar o potencial toxicológico dos filmes, além de comparar os resultados obtidos com os limites estabelecidos por lei;
- g) realizar testes antibacterianos com os filmes obtidos pelo método de disco-difusão e em meio líquido para avaliar o potencial bactericida dos mesmos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CURATIVOS

O desenvolvimento de curativos para o tratamento de feridas, principalmente aquelas resultantes de doenças crônicas como úlceras de pressão (MIHAI *et al.*, 2018; ROSA *et al.*, 2019) e diabetes mellitus (GUERRA *et al.*, 2021; MIHAI *et al.*, 2018; ROSA *et al.*, 2019), queimaduras (GARCIA *et al.*, 2021) e feridas cirúrgicas não curativas (MIHAI *et al.*, 2018), vem avançando muito nos últimos anos, em virtude dos grandes investimentos nessa área (SANTOS *et al.*, 2020). Pacientes com lesões decorrentes de doenças crônicas são mais propícios a infecções e complicações durante a cicatrização, devido à inibição de revascularização que a doença causa (ROSA *et al.*, 2019), fazendo com que a qualidade de vida dessas pessoas seja diminuída (MIHAI *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2020). Por esse motivo, biomateriais com capacidade de estimular a reparação e o crescimento dos tecidos, como o LBN, estão sendo utilizados no desenvolvimento de curativos com alto potencial de cura (GUERRA *et al.*, 2021).

Segundo Mihai *et al.* (2018), os curativos devem apresentar algumas características importantes para resultar em uma boa cicatrização da ferida, entre elas: manter um ambiente úmido e limpo, remover o excesso de exsudados da ferida, não permitir a proliferação de micro-organismos, não causar dor no momento da aplicação ou retirada, entre outros. Além disso, devem proteger contra lesões e facilitar o apego celular e o desenvolvimento de tecidos saudáveis (SCHEIBEL *et al.*, 2021).

Um dos principais problemas associados à cicatrização de feridas é a resistência e tolerância aos antimicrobianos tópicos utilizados como método convencional para reduzir as infecções no local do ferimento, devido ao seu uso recorrente (MIHAI *et al.*, 2018). Assim, o desenvolvimento de curativos contendo substâncias antimicrobianas é de fundamental

importância, pois esses biomateriais liberam tais substâncias por tempo prolongado, tratando a infecção no local (SCHEIBEL *et al.*, 2021).

## 2.2 BIOMATERIAIS

A definição mais aceita para biomateriais, que passou a ser adotada a partir da Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas em 1982, é de que “biomaterial é toda substância (que não seja droga), ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo é empregada como um todo ou parte integrante de um sistema para tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função corporal” (STEIN; GEHLEN; ROJAS, 2019). Segundo Newell (2018), os biomateriais são materiais fabricados de forma específica para serem utilizados em aplicações biológicas. Um biomaterial eficiente deve ser produzido a partir de um material que não ofereça risco ao corpo humano ou à própria *performance* do dispositivo no ambiente em que será inserido por período indeterminado de tempo (SANTOS; BRANDALISE; SAVARIS, 2017).

Esses materiais não são necessariamente de origem biológica, podendo também ser sintetizados em laboratório. São utilizados em contato com o corpo humano, seja como um implante para substituir ou reparar tecidos, como prótese ou em diferentes procedimentos médicos (STEIN; GEHLEN; ROJAS, 2019). Segundo Pires, Bierhalz e Moraes (2015), os biomateriais podem ser encontrados em diversos formatos e estados, como sólido, líquido, em pasta ou em géis.

Os biomateriais podem ser classificados, ainda, de acordo com a resposta química ou biológica do corpo humano, podendo ser considerados bioinertes, biotoleráveis, bioativos e biodegradáveis. Os bioinertes são os materiais que são tolerados pelo corpo humano, sem qualquer tipo de reação química entre este e o material, e que não liberam componentes em quantidades significativas. Os materiais biotoleráveis também são tolerados pelo corpo



humano, porém são separados do tecido humano pela formação de um tecido fibroso e liberam compostos químicos e outros componentes. Os bioativos são materiais que fazem ligações químicas com o tecido, devido à sua alta biocompatibilidade, enquanto os materiais biodegradáveis são aqueles que degradam, solubilizam ou são absorvidos pelo corpo humano após certo tempo (HENCH, 2013). Ainda, de acordo com Newell (2018), os biomateriais estruturais (ou inertes) são utilizados para dar sustentação ao corpo humano, como as próteses, por exemplo. Já os biomateriais funcionais (bioativos) são utilizados para qualquer procedimento que não seja estrutural, como, por exemplo, os implantes.

Os biomateriais desempenham um papel fundamental na área de engenharia de tecidos (técnica que consiste na regeneração de órgãos e tecidos, através de células do próprio paciente que são cultivadas sobre suportes biológicos ou sintéticos para então serem reinseridos no paciente), pois funcionam como uma matriz extracelular artificial para o apoio da regeneração (CHEN; LIANG; THOUAS, 2013). Uma propriedade importante que os biomateriais devem apresentar, segundo Callister Jr. e Rethwisch (2021), é a biocompatibilidade, ou seja, devem ser compatíveis com a parte do corpo humano onde ficarão alocados. Para ser considerado um material biocompatível, este não deve liberar toxinas no corpo ou causar rejeição no mesmo. Além disso, outras características são importantes para os biomateriais, como as propriedades de alergenicidade, citotoxicidade, rugosidade, porosidade, cor, transparência, estabilidade, algumas propriedades químicas e mecânicas, entre outras (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Propriedades de superfície, como a molhabilidade, são igualmente importantes, pois em alguns casos auxiliam na adesão das células ao material, permitindo a liberação de compostos ativos para sinalização, proliferação, deposição de matriz extracelular e diferenciação celular (CHANG; WANG, 2011). Os biomateriais devem ainda ter um custo adequado, satisfazer o propósito pelo qual

foram desenvolvidos, e suas propriedades mecânicas devem atender as expectativas e se manterem até o final da sua vida útil (BOSE *et al.*, 2018; NEWELL, 2018; SANTOS, 2021).

### 2.3 BIOMATERIAIS POLIMÉRICOS

Os biomateriais podem ser classificados em função da sua composição em: metálicos, cerâmicos, poliméricos ou compósitos. Com o uso crescente e com o avanço tecnológico na área de materiais, há a tentativa de substituir os dispositivos médicos de metal por polímero (FESTAS; RAMOS; DAVIM, 2020). Os polímeros são moléculas de cadeia longa, onde pequenas unidades (monômeros) se repetem inúmeras vezes (RATNER *et al.*, 2004). Os monômeros são moléculas com baixa massa molar que, a partir de uma reação de polimerização, originam tais macromoléculas. Os materiais poliméricos são basicamente constituídos de carbono e hidrogênio, unidos entre si por meio de ligações covalentes, podendo também conter oxigênio, flúor, cloro, enxofre ou nitrogênio em sua composição (SANTOS; BRANDALISE; SAVARIS, 2017).

De acordo com Pires, Bierhalz e Moraes (2015), os polímeros podem ser naturais, ou seja, obtidos de plantas e animais; ou sintéticos, advindos de reações de polimerização. Santos, Brandalise e Savaris (2017) citam como materiais poliméricos de origem natural a borracha natural, o polihidroxibutirato, o colágeno, a quitosana, o ácido hialurônico e o alginato. Os materiais de origem sintética, por sua vez, podem ser obtidos a partir do petróleo ou do gás natural.

As propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas dos polímeros naturais ou biopolímeros são as responsáveis por esses materiais serem os mais utilizados e requisitados em aplicações biomédicas, pois apresentam uma maior proximidade em relação à maioria dos tecidos do corpo humano. Essas características dependem de sua composição química, estrutura, configuração e massa molar (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2021).

De acordo com Ratner *et al.* (2004), as propriedades dos polímeros são mais complexas, devido ao fato de suas moléculas apresentarem cadeia longa e alta massa molar. Por esse motivo, as propriedades devem ser analisadas no momento da escolha do material para a aplicação biomédica, utilizando, assim, o material mais apropriado.

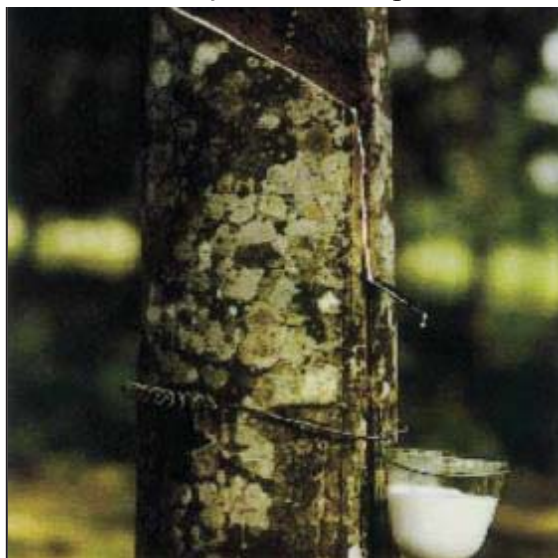
Callister Jr. e Rethwisch (2021) afirmam que o tipo de biomaterial mais utilizado na medicina atualmente é o polimérico, devido às suas satisfatórias propriedades mecânicas e biológicas. Os polímeros são normalmente utilizados em vários campos ou áreas da medicina, em equipamentos descartáveis como seringas, próteses ortopédicas, lentes de contato e córneas, na reconstrução dentária, em dispositivos cardiovasculares, filmes, suturas e adesivos, entre outros (FESTAS; RAMOS; DAVIM, 2020). O poli(éter-éter-cetona) é um exemplo de biomaterial polimérico utilizado em alguns implantes para a coluna cervical (NEWELL, 2018; SANTOS, 2021) e alguns biomateriais à base de quitosana podem ser citados como exemplos para utilização em curativos (CROISIER; JÉRÔME, 2013). Portanto, os polímeros são uma fonte de interesse em pesquisa nas áreas de medicina regenerativa, engenharia de tecidos, nanotecnologia e liberação controlada de fármacos (SONG *et al.*, 2018).

#### 2.4 LÁTEX DE BORRACHA NATURAL (LBN)

O LBN é extraído das árvores por um processo conhecido como sangria. É encontrado no tronco de diversas espécies; porém, a seringueira (*Hevea brasiliensis*), mostrada na **Figura 1**, é a única que produz borracha com alta qualidade e em condições econômicas favoráveis. Por esse motivo, é a espécie mais utilizada para a extração de LBN: cerca de 1/3 da borracha total consumida no mundo é produzida principalmente nas plantações da Malásia, Tailândia, Indonésia e Ceilão, no continente Asiático (MANO; MENDES, 2018). Até o início

do século XX, o Brasil era o maior produtor de borracha no mundo; atualmente, contribui com apenas 1% dessa produção (KOHJIYA; IKEDA, 2014; MANO; MENDES, 2018).

**Figura 1** - Processo de extração do LBN a partir da *Hevea brasiliensis*



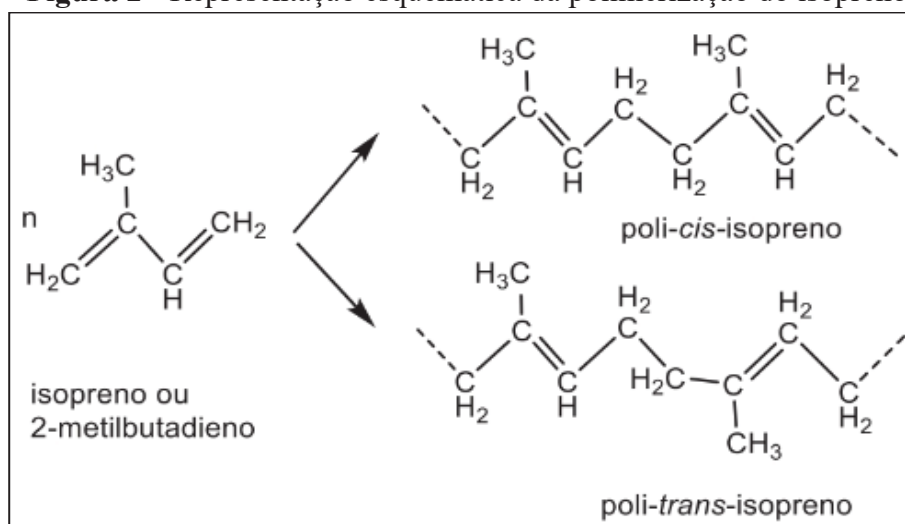
Fonte: Yip e Cacioli (2002).

O LBN é um líquido branco, de aspecto leitoso e consistência viscosa, que ao ser extraído é composto por uma dispersão coloidal de micelas do polímero poliisopreno com fórmula química  $(C_5H_8)_n$ , onde  $n \approx 5.000$  (CORNISH; XIE, 2012). Dentre essas partículas de tamanho entre 0,1 e 2,0  $\mu\text{m}$ , que estão envoltas em uma membrana, 6% representam produtos não borrachosos, como proteínas, lipídeos e carboidratos (MANO; MENDES, 2018), e cerca de 1% a 1,5% correspondem a proteínas, que são removidas, em sua maior parte, após o processamento do LBN (FERREIRA *et al.*, 2009).

De acordo com Toma (2018), as cadeias poliméricas do LBN derivam da sua polimerização a partir do isopreno (2-metilbutadieno), formando poliisopreno nas configurações *cis* e *trans*, como mostrado na **Figura 2**. A configuração *cis* do LBN ocorre no caule da árvore, enquanto a configuração *trans* ocorre nas folhas e casca. Segundo Tanaka (1991), o LBN é composto por milhares de unidades de poli-*cis*-isopreno, de somente duas unidades de poli-*trans*-isopreno e de dois grupos terminais de cadeia  $\alpha$  e  $\omega$ . A borracha

natural é o único biopolímero composto somente por carbono e hidrogênio, sem outros elementos como nitrogênio, oxigênio e enxofre em sua constituição (KOHJIYA; IKEDA, 2014).

**Figura 2** - Representação esquemática da polimerização do isopreno



Fonte: Toma (2018).

Uma das características mais interessantes do LBN é a sua propriedade curativa, pois ela serve como uma defesa da planta, estimulando a cicatrização por meio da angiogênese, que é a capacidade de induzir o surgimento de novos vasos sanguíneos (MANO; MENDES, 2018). Estudos realizados por Ferreira *et al.* (2009) evidenciaram que algumas proteínas do LBN estão associadas à sua propriedade angiogênica. Por esse motivo, o LBN vem sendo muito estudado na área de cicatrização de feridas. Além disso, também é um material de baixo custo e que apresenta boa resistência a infecções bacterianas (MANO; MENDES, 2018; ROSA *et al.*, 2019). O LBN sofre naturalmente um processo de envelhecimento, que ocorre quando a sua hidrofobicidade aumenta com o tempo (VAN DONGEN *et al.*, 2013). Para que o LBN seja utilizado como um biomaterial, é necessário avaliar o seu tempo de prateleira, ou seja, o seu prazo de validade. Esse prazo pode ser determinado por medidas de ângulos de contato, quando o valor é superior a 80° (GARCIA *et al.*, 2021), uma vez que o LBN é considerado normalmente um material hidrofóbico (AGREBI *et al.*, 2018).

Alguns estudos na área biomédica com o LBN envolvem reparos ósseos (KOTAKE *et al.*, 2018), tratamento de feridas crônicas infectadas (GARMS *et al.*, 2019), tratamento de queimaduras (TANAKA *et al.*, 2021), entre outros. A adição de substâncias antimicrobianas no curativo de LBN, como a própolis, também tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores (GARCIA *et al.*, 2021; KRUPP *et al.*, 2019; ZANCANELA *et al.*, 2018; ZANCANELA *et al.*, 2017).

## 2.5 PRÓPOLIS

A própolis é uma substância resinosa e que consiste na mistura de saliva e cera de abelhas com materiais vegetais retirados de diversas plantas ao redor do mundo (MIGLIORE *et al.*, 2022). É utilizada para a proteção da colmeia, como vedação de rachaduras e sepultamento de parasitas e predadores (SIMONE-FINSTROM; SPIVAK, 2010). A composição química e a quantidade de compostos presentes na resina variam conforme a origem geográfica, pois depende da flora local e da época de coleta (clima e efeitos sazonais) (BUENO-SILVA *et al.*, 2017). A própolis vermelha, em particular, é encontrada apenas no Brasil sendo, portanto, considerada um recurso natural que pode auxiliar na saúde pública (GARCIA *et al.*, 2021). Além disso, apresenta alto interesse comercial, já que o país é atualmente o terceiro maior produtor mundial de própolis (MIGLIORE *et al.*, 2022). A própolis vermelha pode ser encontrada em colmeias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas, localizadas no nordeste brasileiro. Essas abelhas coletam a resina dos botões florais e das folhas novas, principalmente da planta *Dalbergia ecastophyllum* (**Figura 3a**), comumente chamada de rabo-de-bugio (DAUGSCH, 2007). Essa resina encontrada na planta é estimulada por uma espécie de besouro joia recentemente descoberta, nomeada *Agrilus própolis* sp. nov. Esse besouro se desenvolve dentro dos ramos da planta, provocando uma série de danos à mesma, que reage produzindo uma resina amarelada. Esta, por sua vez, torna-se avermelhada



com o passar do tempo e fica disponível para as abelhas coletarem (**Figura 3b**) e então produzirem a própolis vermelha (**Figura 3c**) (MIGLIORE *et al.*, 2022).

**Figura 3** - Imagens da (a) *Dalbergia ecastophyllum*; (b) resina sendo coletada pela abelha e (c) produção da própolis vermelha



**Fonte:** Adaptado de Migliore *et al.* (2022). **Nota:** Fotos de Carlos Carvalho (Acervo Insecta, UFRB) e Jean Carvalho.

A composição química da própolis ainda não é totalmente conhecida, mas normalmente são encontrados aminoácidos, terpenos, ácidos fenólicos, ésteres de ácidos fenólicos, ácido cinâmico e flavonoides como seus principais constituintes (RUSSO; LONGO; VANELLA, 2002). Segundo Castaldo e Capasso (2002), os flavonoides encontrados na própolis (pinocembrina, galangina e pinobanksina) são os principais

responsáveis por sua propriedade antimicrobiana. De acordo com Oliveira *et al.* (2016), a própolis encontrada no Brasil é rica em compostos fenólicos por causa de seu clima de zona temperada. As quantidades desses compostos químicos podem variar para mais, para menos ou até para a sua ausência (MURAD *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2006).

A própolis tem sido muito utilizada como remédio natural, desde a antiguidade. Os egípcios a utilizavam por suas propriedades anti-putrefativas, os gregos e romanos usavam como antisséptico e cicatrizante, e os árabes faziam o uso da própolis como desinfetante bucal (CASTALDO; CAPASSO, 2002). Rocha e Reis (2005) afirmaram que a própolis é amplamente utilizada na medicina para combater infecções. A própolis pode ser utilizada como agente bactericida (CABRAL *et al.*, 2009; GARCIA *et al.*, 2021), antifúngico (DEEGAN *et al.*, 2019), antitumoral (FROZZA *et al.*, 2013), antioxidante (CABRAL *et al.*, 2009; FROZZA *et al.*, 2013; NASCIMENTO *et al.*, 2016), leishmanicida (NASCIMENTO *et al.*, 2016; REGUEIRA-NETO *et al.*, 2018), antiviral (SILVA-BELTRÁN *et al.*, 2020), no tratamento de dermatites, além de ser empregada em cosméticos e ser um alimento muito saudável (CASTALDO; CAPASSO, 2002).

Segundo Zancanela *et al.* (2018), além da própolis vermelha, existem outros tipos de própolis com composições diferentes, como a própolis verde e a própolis marrom ou “álamo”. Um resumo com as principais características dos diferentes tipos de própolis encontra-se na **Tabela 1**.

O tipo de própolis que apresenta os melhores resultados contra fungos é a própolis vermelha, de acordo com os estudos de Zancanela *et al.* (2018). Por esse e outros motivos, como menor citotoxicidade, decidimos utilizá-la neste trabalho. Além da própolis, diversas nanopartículas estão sendo empregadas como antimicrobianos em curativos (GARCIA *et al.*, 2021; TIWARI *et al.*, 2014).



**Tabela 1** - Principais características das própolis vermelha, verde e marrom

<b>Tipo de própolis</b>	<b>Região</b>	<b>Origem</b>	<b>Principais constituintes químicos</b>	<b>Referência</b>
Vermelha	Nordeste do Brasil	<i>Dalbergia ecastophyllum</i>	Flavonoides (quercetina, daidzeína, rutina, luteolina, biochanin A, pinocembrina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato, entre outros)	Daugusch <i>et al.</i> (2008)
Verde	Sudeste do Brasil	<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC	Artepillin C (seu marcador químico), alguns ácidos, kaempferol, kaempferide, pinobanksina, entre outros compostos	Park <i>et al.</i> (2004)
Marrom	Europa e zonas temperadas	Brotos de espécies do gênero <i>Populus</i>	Flavonoides (pinocembrina, pinobanksina, crisina, galangina, kaempferol e pinobanksina-3-acetato), ácidos fenólicos e seus derivados, entre outros	Chasset <i>et al.</i> (2016)

Fonte: o autor.

## 2.6 NANOPARTÍCULAS

As nanopartículas (NPs) possuem dimensões na ordem de nanômetros, sendo geralmente menores que 100 nm. Diferenciam-se pelo seu tamanho e não apenas em termos de suas propriedades químicas. São uma classe de materiais com diversas propriedades e que podem ser metálicas, cerâmicas, poliméricas ou de materiais compostos (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2021).

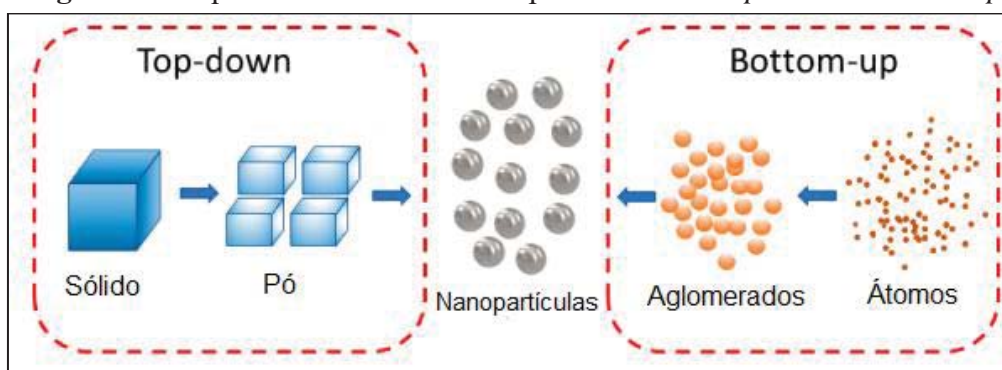
Por serem partículas em que a razão de área superficial por volume é alta (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2021), as NPs podem representar um risco à saúde humana e ao meio ambiente, sendo a biocompatibilidade e a toxicidade desses materiais uma das principais preocupações em aplicações biomédicas (DANNA *et al.*, 2016). Por isso, o seu potencial toxicológico e as suas interações devem ser estudados e levados em consideração (CALLISTER JR.; RETHWISCH, 2021). Além do tamanho, outros fatores influenciam no

seu potencial toxicológico, como a composição química, forma, quantidade, forma de exposição e carga de superfície (GÓMEZ-GALLEGO; URCUQUI-INCHIMA; HERNÁNDEZ, 2016).

Diferentes métodos são empregados para sintetizar NPs, os quais estão divididos em abordagem *bottom-up* e *top-down*. O método *bottom-up* ocorre quando um precursor molecular é decomposto para que ocorra a geração de átomos do metal, que crescem formando as NPs. Já o método *top-down* ocorre quando partículas maiores de um material são fragmentadas em partículas menores e, em seguida, são transformadas em NPs de tamanho adequado (WANG; XIA, 2004).

Uma representação didática desses dois métodos pode ser observada na **Figura 4**. São exemplos da técnica *bottom-up* a sedimentação e a redução, e da técnica *top-down* a moagem, e a deposições física e química de vapor (KHAN; SAEED; KHAN, 2019).

**Figura 4** - Esquema da síntese de NPs pelos métodos *top-down* e *bottom-up*

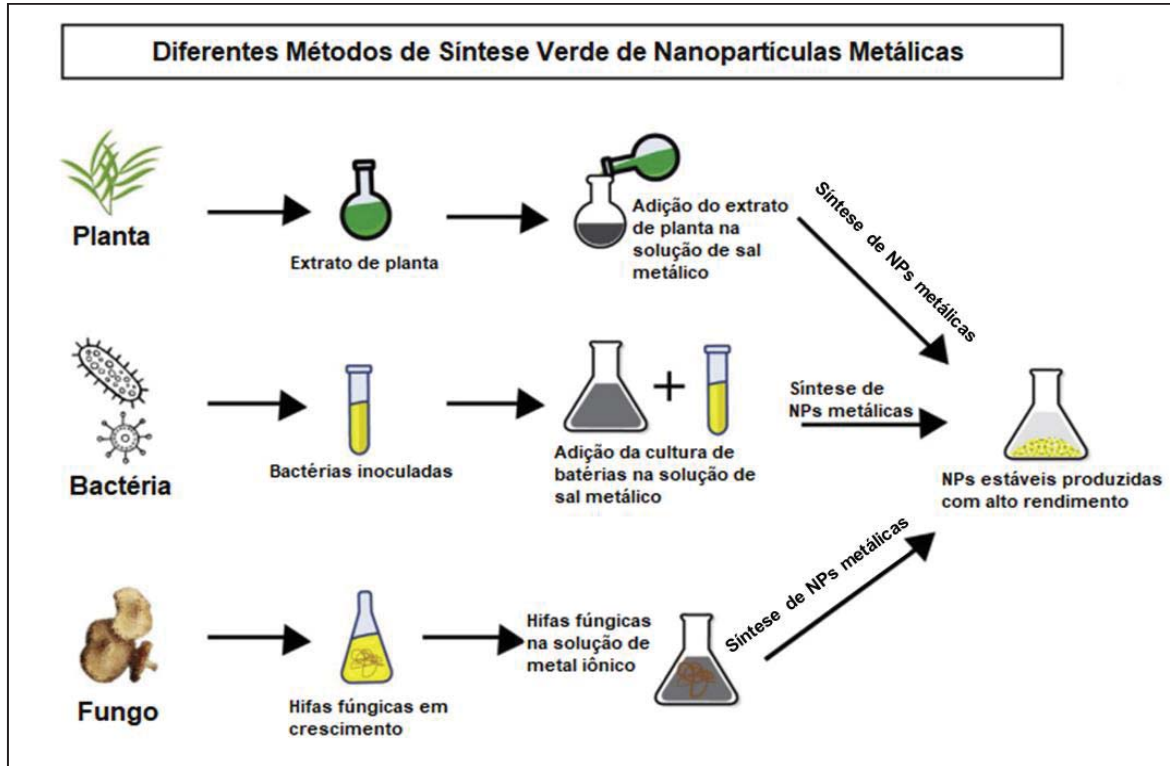


Fonte: Adaptado de Lu *et al.* (2020).

Além da forma convencional de obtenção (química), os métodos de síntese verde de NPs vêm sendo muito estudados, pois são considerados métodos ecologicamente corretos uma vez que utilizam solventes não tóxicos e não formam subprodutos indesejados (BUKHARI *et al.*, 2021). De acordo com Singh *et al.* (2020), a síntese verde de NPs pode ser mediada por extratos de plantas, fungos e bactérias (**Figura 5**). Entretanto, a síntese assistida

por extratos de plantas é considerada a mais eficiente, pois estes contêm metabólitos em sua constituição que podem agir como estabilizadores e agentes redutores.

**Figura 5** - Representação da síntese verde de NPs metálicas a partir de plantas, bactérias e fungos



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

As NPs metálicas são muito utilizadas para aplicações biomédicas, devido às suas propriedades físicas, químicas, biológicas, magnéticas e ópticas (BUKHARI *et al.*, 2021). Podem ser utilizadas na entrega de fármacos (LEE; KANG, 2017), como agentes bactericidas (ARGUETA-FIGUEROA *et al.*, 2014; GHOSH *et al.*, 2019) e anticancerígenos (SANKAR *et al.*, 2014), na cicatrização de feridas (TIWARI *et al.*, 2014), na desinfecção de águas (MIHUT *et al.*, 2019) e de efluentes têxteis (GIANNOSSA *et al.*, 2013), entre outros. Algumas das NPs metálicas mais utilizadas são de prata, ouro, zinco, magnésio, titânio, cobre e seus respectivos óxidos (DIN; REHAN, 2017).

### 2.6.1 Nanopartículas de óxido de cobre (II)

O cobre é um material metálico que possui reconhecida atividade antimicrobiana. Antigamente, era utilizado para esterilizar feridas e água, e nos últimos anos seu consumo mundial têm sido de aproximadamente 18 milhões de toneladas por ano (SÁNCHEZ-SANHUEZA; FUENTES-RODRÍGUEZ; BELLO-TOLEDO, 2016). As nanopartículas de óxido de cobre (II) (CuONPs), em particular, têm uma importância relativamente maior sobre as demais nanopartículas metálicas, devido à sua elevada condutividade e baixo custo (JAYAKUMARAI *et al.*, 2015). Alguns estudos já têm evidenciado que as nanopartículas de cobre e de óxido de cobre (II) são eficazes contra alguns fungos e bactérias (BOGDANOVIĆ *et al.*, 2014; KOUHKAN *et al.*, 2020; RAMYADEVI *et al.*, 2012; SÁNCHEZ-SANHUEZA; FUENTES-RODRÍGUEZ; BELLO-TOLEDO, 2016).

De acordo com Jayakumarai *et al.* (2015), as CuONPs podem ser sintetizadas pelo método sol-gel (KAYANI *et al.*, 2015), sonoquímico (DHINESHBABU *et al.*, 2016), irradiação por micro-ondas (KAEWYAI *et al.*, 2019; KUMAR *et al.*, 2019), entre outros. As CuONPs sintetizadas por rota verde com extratos de plantas (JAYAKUMARAI *et al.*, 2015; SANKAR *et al.*, 2014; YUGANDHAR *et al.*, 2017), algas (ABBOUD *et al.*, 2014), fungos (CUEVAS *et al.*, 2015) e bactérias (KOUHKAN *et al.*, 2020), também vêm sendo muito utilizadas por diversos pesquisadores (ABBOUD *et al.*, 2014).

## 2.7 FILMES DE LBN CONTENDO PRÓPOLIS E NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Como foi mencionado anteriormente, a utilização de filmes de LBN contendo própolis é um tema que vem sendo muito estudado nos últimos anos por diversos pesquisadores (GARCIA *et al.*, 2021; KRUPP *et al.*, 2019; ZANCANELA *et al.*, 2018; ZANCANELA *et al.*, 2017). Garcia *et al.* (2021) e Krupp *et al.* (2019), por exemplo, avaliaram a propriedade angiogênica do LBN com a adição de própolis vermelha e marrom, respectivamente, e que

resultou em filmes que foram utilizados como curativos para auxiliar na cicatrização de ferimentos e queimaduras, respectivamente. Zancanela *et al.* (2018), em outro estudo, demonstrou que o filme de LBN contendo própolis possui propriedade antifúngica contra *Candida albicans*.

Outros estudos evidenciaram excelentes propriedades bactericidas em filmes de LBN contendo nanopartículas metálicas de prata (AgNPs) (RATHNAYAKE *et al.*, 2012), e LBN contendo nanopartículas de óxido de zinco (ZnONPs) (RATHNAYAKE *et al.*, 2014). Ainda nesse contexto, Garcia *et al.* (2021) também avaliaram filmes de LBN contendo própolis e AgNPs, e tratados a plasma, encontrando um material hidrofílico e viável para o tratamento de feridas. Por outro lado, estudos envolvendo filmes de LBN contendo própolis e CuONPs não foram, até o presente momento, encontrados na literatura, o que demonstra em partes o ineditismo deste trabalho.

## 2.8 MODIFICAÇÃO SUPERFICIAL

A modificação de superfícies em biomateriais ocorre principalmente para controlar as características superficiais do material e regular sua biocompatibilidade. Uma das propriedades passíveis de mudança é a molhabilidade, que pode ser avaliada por meio de medidas de ângulo de contato. Quanto maior o ângulo de contato, mais hidrofóbica essa superfície é; por outro lado, quanto menor o ângulo, mais hidrofílica (CHANG; WANG, 2011).

Existem diversos métodos de modificação de superficial, dentre os quais encontram-se a deposição química/física de vapor (PALUMBO; LO PORTO; FAVIA, 2019). O tratamento a plasma, por exemplo, tem sido comumente utilizado para adaptar as propriedades de adesão e umedecimento das superfícies poliméricas (LAI *et al.*, 2006; YOSHIDA *et al.*, 2013).

### 2.8.1 Plasma

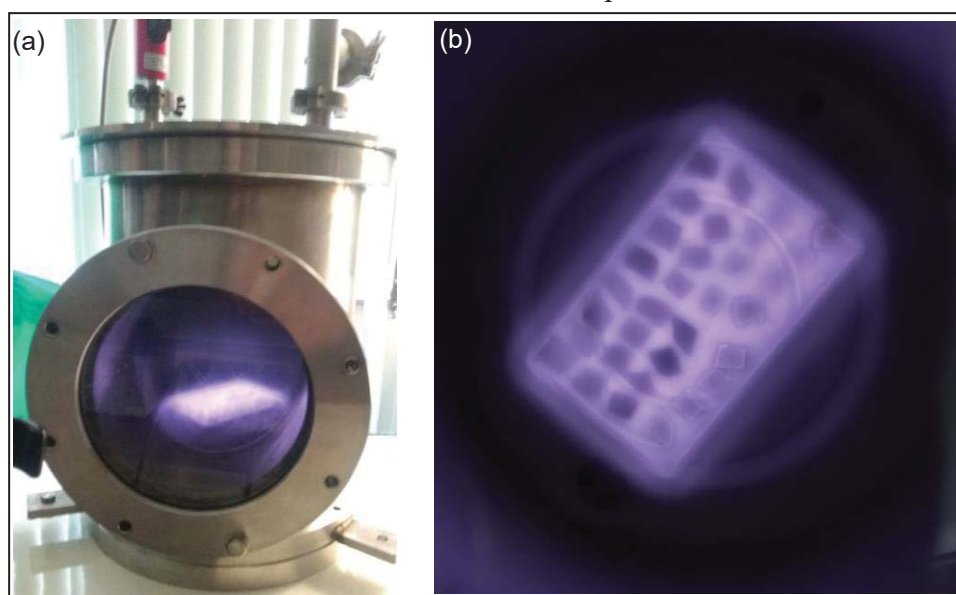
O plasma é considerado o quarto estado da matéria e pode ser definido como um gás que foi aquecido em altas temperaturas, de tal maneira que os seus elétrons adquirem liberdade de movimento, transformando-o em um gás condutor (FRANK-KAMENETSKII, 1972). Consiste em partículas carregadas positiva e negativamente de igual forma, permanecendo em um estado eletricamente neutro (FRANK-KAMENETSKII, 1972; FERREIRA *et al.*, 2015). Quando um material polimérico é submetido ao plasma, a interação do mesmo com a superfície gera novos grupos funcionais que serão responsáveis pelas modificações das propriedades (LAI *et al.*, 2006; YOSHIDA *et al.*, 2013).

A modificação de materiais por meio do tratamento a plasma pode ser analisada por meio da diferença de ângulos de contato de uma gota de água adicionada ao material modificado e ao original, dependendo do gás utilizado (LARRIEU *et al.*, 2003). Como foi mencionado anteriormente, esta é uma das formas mais eficazes para alterar as propriedades específicas dos materiais, principalmente no que concerne aos materiais poliméricos. Por esse motivo, a modificação superficial mediada por essa técnica vem sendo muito utilizada em polímeros para aplicações na biomedicina. Esse processo permite, por exemplo, a introdução de grupos funcionais na superfície do material, modificação de rugosidade, entre outras (YOSHIDA *et al.*, 2013).

Existem diferentes técnicas para essa finalidade, dentre as quais pode ser citada a deposição química em fase de vapor assistida por plasma, conhecida como PECVD (do inglês *plasma enhanced chemical vapor deposition*). É uma forma de deposição química a vapor, na qual o plasma é formado devido a uma diferença de potencial gerada por uma fonte, sendo que ocorre a ionização de um gás entre dois eletrodos. As colisões entre elétrons e moléculas desse gás são responsáveis por reações químicas, provocando interações entre o plasma e o substrato. Esse processo apresenta boa reprodutibilidade, o que permite a modificação de

materiais com diferentes geometrias, mantendo-se uma uniformidade do plasma. Além disso, ele é um processo relativamente barato, com uma instrumentação simples, fazendo-se o uso de câmaras de alto e baixo vácuo (ROMAN, 2010). Na **Figura 6** está representada uma câmara de vácuo, a qual foi utilizada neste trabalho, e uma amostra sob tratamento a plasma.

**Figura 6** - Registro fotográfico de uma (a) câmara de vácuo para tratamento a plasma e (b) de uma amostra sob tratamento a plasma



Fonte: o autor.

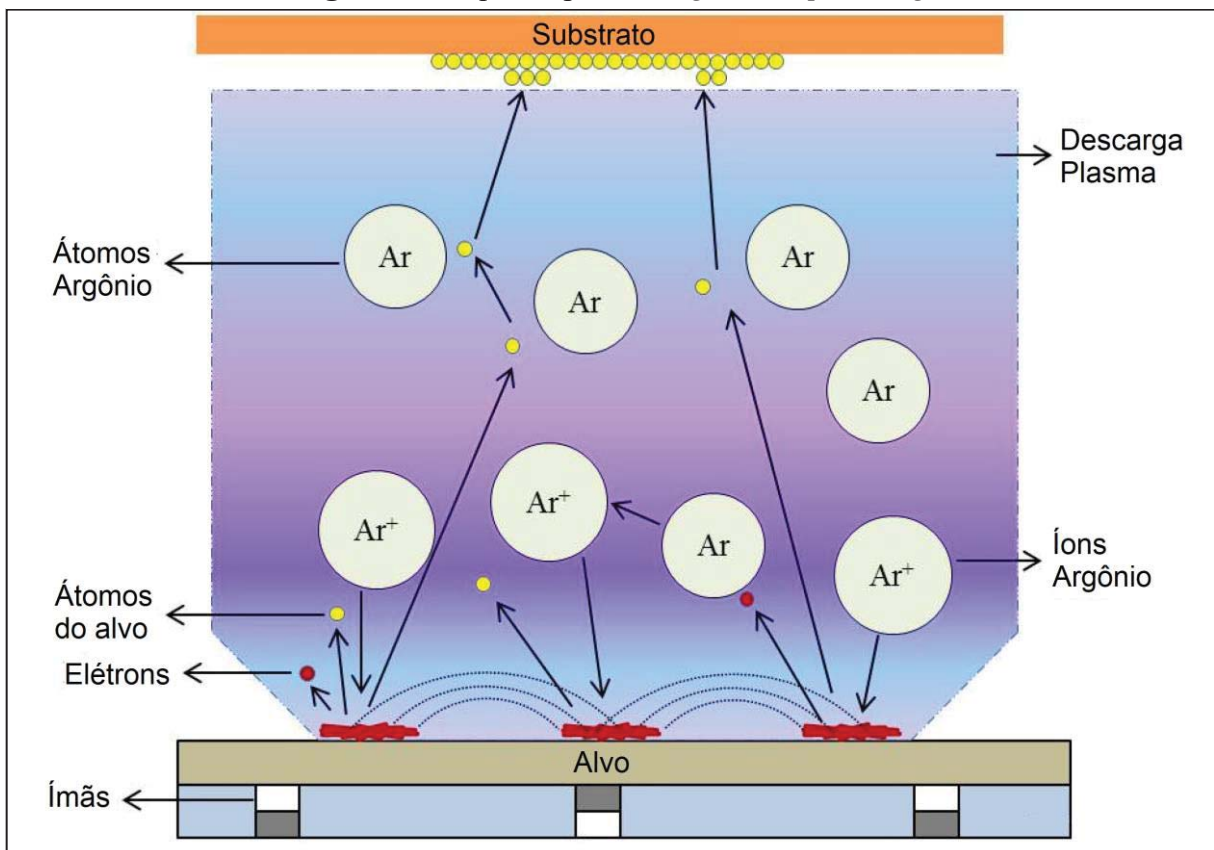
De acordo com Ueno *et al.* (2000), o plasma pode ser utilizado como uma técnica de esterilização, pois os radicais livres produzidos são extremamente reativos e, por isso, podem interromper as funções de células vitais de micro-organismos. De acordo com Yoshida *et al.* (2013), o fato de poder alterar as propriedades químicas e físicas da superfície polimérica, por meio do plasma, sem que isso afete a característica de volume, é uma grande vantagem do processo. O tratamento a plasma também é considerado um processo de modificação de superfície mais rápido em relação a outros métodos. Além da técnica de deposição química por plasma, outro método importante para a modificação de superfícies de biopolímeros é o método de deposição física de vapor por *sputtering* (SLEPIČKA *et al.*, 2016).



### 2.8.2 Deposição física de vapor por *magnetron sputtering*

A técnica de deposição física de vapor por *magnetron sputtering* é muito utilizada para a deposição de filmes finos, os quais são utilizados para diversas aplicações tecnológicas, como proteção de superfícies, dispositivos ópticos e eletrônicos. Consiste em um plasma, onde átomos de um gás inerte, normalmente argônio, são ionizados e atraídos para um alvo, que é colocado sob potencial negativo. A interação dos íons com a superfície do alvo causa uma ejeção de átomos que são depositados na amostra, formando um filme na sua superfície (SARAKINOS; ALAMI; KONSTANTINIDIS, 2010). Uma representação esquemática da técnica está representada na **Figura 7**, enquanto o equipamento utilizado encontra-se na **Figura 8**.

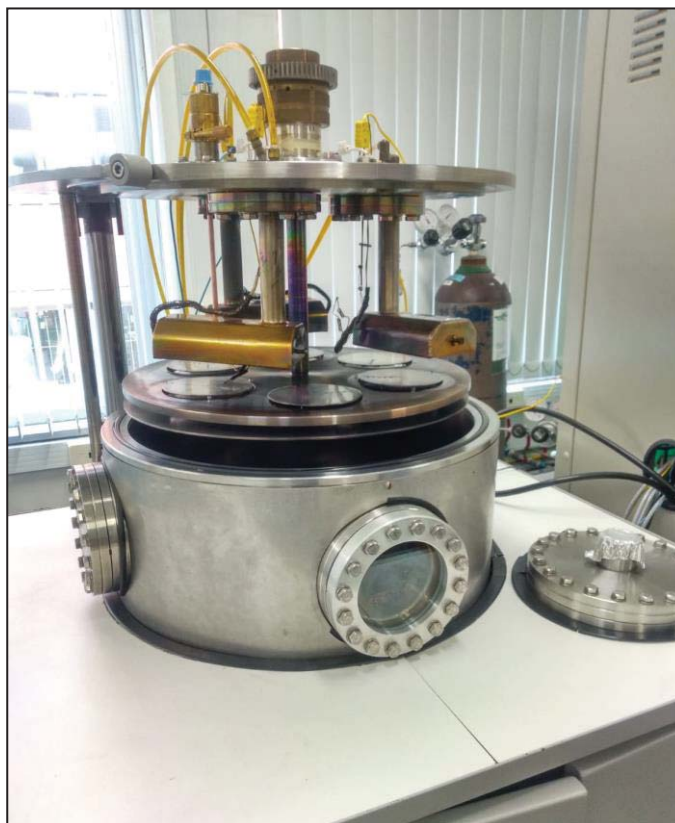
**Figura 7** - Esquema para o *magnetron sputtering*



Fonte: Adaptado de Maurya, Sardarinejad e Alameh (2014).



**Figura 8** - Registro fotográfico do equipamento de *magnetron sputtering*



Fonte: o autor.

A escolha adequada do tipo de plasma e do agente antimicrobiano a ser utilizado pode ser uma forma eficaz de conferir propriedades antimicrobianas aos polímeros (SILVA *et al.*, 2023). Segundo Silva *et al.* (2023), a rápida deposição do metal por *magnetron sputtering*, devido à alta taxa de ionização de elétrons secundários, é muito importante para que o polímero não seja danificado pela exposição ao plasma e, assim, mantenha suas propriedades macroscópicas. A deposição de cobre por *magnetron sputtering* vem sendo muito estudada para melhorar as propriedades antibacterianas de superfícies poliméricas (BADARAEV *et al.*, 2017; KUDZIN *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2023; WOSKOWICZ *et al.*, 2020), mostrando-se muito eficiente como agente antimicrobiano.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 MATERIAIS**

##### **3.1.1 Látex de borracha natural (LBN)**

O LBN utilizado neste estudo foi gentilmente doado pela empresa RubberSul (Lote 1808034), situada no município de Estância Velha/RS. O material é comercializado centrifugado (60% em massa) e estabilizado com hidróxido de amônio.

##### **3.1.2 Própolis vermelha**

A própolis vermelha utilizada nos ensaios preliminares deste trabalho foi coletada na região Nordeste do Brasil, no estado de Alagoas (coordenadas geográficas 9° 34' 12" S e 36° 33' 0" W), no ano de 2013. Inicialmente, amostras do material foram convertidas em um pó finamente dividido com o auxílio de um almofariz e um pistilo de porcelana. Em seguida, 50 g desse pó foram misturados com 500 mL de uma solução de etanol-água (70%-30% v/v), sob agitação constante em um shaker a 205 rpm, à temperatura ambiente de 25 °C, durante 24 h. Posteriormente, a mistura foi filtrada a vácuo e o solvente foi rotaevaporado a uma temperatura de 37 °C. Por fim, o material foi liofilizado durante 48 h, originando um pó muito fino e de cor vermelha, que foi estocado em freezer a -20 °C até o momento da sua utilização.

##### **3.1.3 Óxido de cobre (II) e nanopartículas de óxido de cobre (II)**

O óxido de cobre (II) (CuO) foi adquirido da empresa Sigma – Aldrich (Brasil), lote MKCB5158, com alto grau de pureza ( $\geq 99,0\%$ ). As nanopartículas de óxido de cobre (II) (CuONPs), por sua vez, foram adquiridas da mesma empresa (lote MKCM9694) com tamanho médio inferior a 50 nm. Ambos os materiais foram utilizados sem nenhum tratamento prévio.

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Quantidades de LBN, própolis vermelha e CuO/CuONPs

As quantidades de LBN e própolis vermelha foram pré-definidas com base em trabalhos anteriores do grupo, onde o primeiro estudo foi realizado utilizando uma concentração de 0,4 mg de própolis para cada 1 mL de LBN. Neste trabalho do grupo, em particular, não foi evidenciado efeito bactericida por meio de testes de difusão em ágar e coloração de 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), mas sim bacteriostático (GIOVANELA *et al.*, 2019). Por esse motivo, novos testes foram realizados e a quantidade de própolis vermelha definida para ser utilizada nesse trabalho de mestrado foi de 2,50 mg/mL.

As concentrações iniciais de CuO e CuONPs foram igualmente escolhidas, tomando por base o estudo de Zhang *et al.* (2017). Para tanto, foram testados teores de 0,5; 1,5; 2; 2,5; 4 e 6% m/m de CuO e CuONPs. Por fim, esses teores foram modificados em função dos resultados obtidos ao longo do trabalho.

### 3.2.2 Preparação dos filmes de LBN

Foram preparados 5 lotes de filmes de LBN, cujas descrições encontram-se nas **Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6**, respectivamente. No primeiro lote de amostras utilizou-se 2,50 mg/mL de própolis vermelha e diferentes concentrações de óxido de cobre (II) (**Tabela 2**). Para tanto, a própolis vermelha foi pesada (0,1 g) e dissolvida em 2,0 mL de uma solução de etanol-água 50% v/v, sob agitação magnética. Posteriormente, 40,0 mL de LBN foram transferidos para um béquer, com o auxílio de uma proveta, e mantidos sob agitação. Na sequência, incorporou-se o CuO e o sistema permaneceu sob agitação por mais 15 min. Por fim, as amostras foram vertidas em placas de Petri e dispostas em uma estufa a 65 °C, por 24 h, até a sua secagem completa (GARCIA *et al.*, 2021).

**Tabela 2** - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do primeiro lote

Código	Descrição dos filmes	Condição de secagem
1LBN-PRÓP-0.5CuO/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 0,5% m/m de CuO	65 °C por 24 h
1LBN-PRÓP-1.5CuO/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 1,5% m/m de CuO	
1LBN-PRÓP-2.0CuO/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 2% m/m de CuO	
1LBN-PRÓP-2.5CuO/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 2,5% m/m de CuO	
1LBN-PRÓP-4.0CuO/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 4% m/m de CuO	
1LBN-PRÓP-6.0CuO/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 6% m/m de CuO	

**Fonte:** o autor. **Legenda do código das amostras:** 1LBN-PRÓP-XCuO/65 °C-24 h, onde 1 = filme do primeiro lote; LBN = látex de borracha natural; PRÓP = própolis vermelha; X = concentração em % m/m de CuO/CuONPs utilizada; CuO = óxido de cobre (II); 65 °C-24 h = condição de secagem da amostra.

Posteriormente, foram preparados os filmes de LBN do segundo lote (**Tabela 3**) com uma concentração fixa de 0,25% m/m de CuO/CuONPs. A metodologia utilizada só difere da anterior em relação ao processo de secagem, pois foram realizados diferentes testes a 40 °C por 24 h, 40 °C por 12 h em estufa com circulação forçada de ar, e à temperatura ambiente por tempo maior que 92 h. As amostras foram acondicionadas em bancada de laboratório, sem o controle de temperatura e umidade do ar.

**Tabela 3** - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do segundo lote

Código	Descrição dos filmes	Condição de secagem
2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 0,25% m/m de CuONPs	40 °C por 24 h
2LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> -> 92 h	LBN, própolis vermelha e 0,25% m/m de CuONPs	T <sub>ambiente</sub> por tempo > 92 h
2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-cf-12 h	LBN, própolis vermelha e 0,25% m/m de CuONPs	40 °C com circulação forçada de ar por 12 h
2LBN-PRÓP-0.25CuO/40 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 0,25% m/m de CuO	40 °C por 24 h
2LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> -> 92 h	LBN, própolis vermelha e 0,25% m/m de CuO	T <sub>ambiente</sub> por tempo > 92 h
2LBN-PRÓP-0.25CuO/40 °C-cf-12 h	LBN, própolis vermelha e 0,25% m/m de CuO	40 °C com circulação forçada de ar por 12 h
2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h	LBN e 0,25% m/m de CuONPs	40 °C por 24 h
2LBN-0.25CuO/40 °C-24 h	LBN e 0,25% m/m de CuO	40 °C por 24 h
2LBN-PRÓP/40 °C-24 h	LBN e própolis vermelha	40 °C por 24 h
2LBN/40 °C-24 h	LBN	40 °C por 24 h

**Fonte:** o autor. **Legenda do código das amostras:** 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/X °C-cf-Y h, onde 2 = filme do segundo lote; LBN = látex de borracha natural; PRÓP = própolis vermelha; 0.25 = concentração em % m/m de CuO/CuONPs; CuONP = nanopartículas de óxido de cobre (II); CuO = óxido de cobre (II); X = temperatura de secagem em °C; T<sub>amb</sub> = temperatura ambiente; cf = circulação forçada de ar; Y = tempo de secagem em h.

Em um terceiro lote (**Tabela 4**), as amostras foram preparadas utilizando-se a mesma metodologia descrita anteriormente, com secagem a 40 °C por 24 h e secagem à temperatura controlada de 23 °C ± 2 °C por 7 dias. Ao término desse procedimento, as amostras foram acondicionadas em ambiente com temperatura (23 °C ± 2 °C) e umidade do ar (50% ± 10%) controladas, e ao abrigo da luz. Posteriormente, foram preparadas outras amostras do mesmo lote contendo LBN, própolis vermelha e CuO/CuONPs mantendo a secagem à temperatura controlada de 23 °C ± 2 °C por 7 dias (**Tabela 4**), acondicionadas nas mesmas condições.

**Tabela 4** - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do terceiro lote

Código	Descrição dos filmes	Condição de secagem
3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h 3LBN-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN e 0,25% m/m de CuONPs LBN e 0,25% m/m de CuONPs	40 °C por 24 h T <sub>ambiente</sub> controlada 23 °C ± 2 °C por 7 dias
3LBN-0.25CuO/40 °C-24 h 3LBN-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN e 0,25% m/m de CuO LBN e 0,25% m/m de CuO	40 °C por 24 h T <sub>ambiente</sub> controlada 23 °C ± 2 °C por 7 dias
3LBN-PRÓP/40 °C-24 h 3LBN-PRÓP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN e própolis vermelha LBN e própolis vermelha	40 °C por 24 h T <sub>ambiente</sub> controlada 23 °C ± 2 °C por 7 dias
3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN, própolis vermelha e 0,25% m/m de CuONPs LBN, própolis vermelha e 0,25% m/m de CuO	T <sub>ambiente</sub> controlada 23 °C ± 2 °C por 7 dias T <sub>ambiente</sub> controlada 23 °C ± 2 °C por 7 dias
3LBN/40 °C-24 h 3LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN LBN	40 °C por 24 h T <sub>ambiente</sub> controlada 23 °C ± 2 °C por 7 dias

**Fonte:** o autor. **Legenda do código das amostras:** 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/X-Y, onde 3 = filme do terceiro lote; LBN = látex de borracha natural; PRÓP = própolis vermelha; 0.25 = concentração em % m/m de CuO/CuONPs; CuONP = nanopartículas de óxido de cobre (II); CuO = óxido de cobre (II); T<sub>amb</sub> = temperatura ambiente (23 °C ± 2 °C); X = temperatura de secagem; cont. = ambiente controlado; Y = tempo de secagem.

Para as amostras do quarto lote (**Tabela 5**), a concentração utilizada de CuONPs foi modificada, a fim de melhorar as propriedades antibacterianas do filme, mantendo a metodologia descrita com secagem à temperatura controlada de 23 °C ± 2 °C por 7 dias. As amostras foram acondicionadas nas mesmas condições que o lote anterior.

**Tabela 5** - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do quarto lote

<b>Código</b>	<b>Descrição dos filmes</b>	<b>Condição de secagem</b>
4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN, própolis vermelha e 0,5% m/m de CuONPs	T <sub>ambiente</sub> controlada 23 °C ± 2 °C por 7 dias
4LBN-PRÓP-1.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN, própolis vermelha e 1% m/m de CuONPs	
4LBN-PRÓP-1.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN, própolis vermelha e 1,5% m/m de CuONPs	
4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN, própolis vermelha e 2% m/m de CuONPs	
4LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	LBN	

**Fonte:** o autor. **Legenda do código das amostras:** 4LBN-PRÓP-XCuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, onde 4 = filme do quarto lote; LBN = látex de borracha natural; PRÓP = própolis vermelha; X = concentração em % m/m de CuONPs; CuONP = nanopartículas de óxido de cobre (II); T<sub>amb</sub> = temperatura ambiente (23 °C ± 2 °C); cont. = ambiente controlado; 7 d = tempo de secagem de 7 dias.

Paralelamente foram realizados outros testes com a finalidade de obter um filme com maior estabilidade. No primeiro teste, o LBN ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente por 30 min e por 1 h, antes da adição da própolis vermelha diluída em etanol-água 50% v/v e de 2% m/m de CuONPs. Também foi realizado um teste à temperatura de 40 °C, com agitação magnética por 10, 20 e 30 min, para posterior adição da própolis vermelha e de 2% m/m de CuONPs. Na sequência foi utilizada a mesma metodologia de preparação dos lotes anteriores, sendo que as amostras foram acondicionadas em bancada de laboratório, sem ambiente controlado.

Além disso, foram realizados testes com a adição de 1,25 mL/L de um agente reticulante (glutaraldeído) em filmes com 2, 5 e 10% m/m de CuONPs, obtidos da mesma forma que os lotes anteriores. As amostras foram acondicionadas em bancada de laboratório, sem ambiente controlado.

Por fim, foi realizado uma tentativa de pré-vulcanização com a adição, sob agitação mecânica constante, de enxofre (S), óxido de zinco (ZnO), dietilditiocarbamato de zinco (ZDEC), laurato de sódio, antioxidante e hidróxido de potássio (KOH), nas mesmas proporções utilizadas por Rojruthai, Payungwong e Sakdapipanich (2021), e dos aditivos (2,50 mg/mL de própolis vermelha e 0,25 e 2% m/m de CuONPs) ao LBN. Aqui,

especificamente, foram realizadas alterações na ordem de mistura dos aditivos para cada teste, onde no primeiro teste seguiu-se a ordem de adição: LBN, própolis vermelha diluída em solução de etanol-água 50% v/v, CuONPs, KOH, laurato de sódio, antioxidante, ZnO mais ZDEC e S. Para o segundo teste, a ordem de adição foi mudada para: LBN, KOH, laurato de sódio, antioxidante, própolis vermelha diluída em solução de etanol-água 50% v/v, CuONPs, ZnO mais ZDEC e S. O terceiro teste de pré-vulcanização seguiu-se a seguinte ordem de adição: LBN, KOH, laurato de sódio, antioxidante, ZnO mais ZDEC, própolis vermelha diluída em solução de etanol-água 50% v/v, CuONPs e S.

Para as amostras do quinto lote foram preparados filmes de LBN e própolis vermelha utilizando a mesma metodologia dos outros lotes, porém com uma temperatura de secagem de 65 °C por 24 h (GARCIA *et al.*, 2021). As amostras foram acondicionadas em ambiente com temperatura (23 °C ± 2 °C) e umidade do ar (50% ± 10%) controladas, e ao abrigo da luz.

### 3.2.3 Tratamento a plasma

O tratamento a plasma foi realizado em uma câmara de vácuo localizada no Laboratório de Engenharia de Superfícies e Tratamentos Térmicos (LESTT) da Universidade de Caxias do Sul.

Para o tratamento foram utilizados os filmes de LBN do segundo e terceiro lotes (**Tabelas 3-4**), com exceção das amostras “2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-cf-12 h” e “2LBN-PRÓP-0.25CuO/40 °C-cf-12 h”, que foram descartadas por apresentarem uma alta aglomeração de partículas de própolis vermelha/óxido de cobre (II), e das amostras do terceiro lote com secagem a 40 °C por 24 h, uma vez que apresentaram maior instabilidade em relação aos filmes secos à temperatura ambiente controlada por 7 dias. As amostras foram cortadas em pedaços com área de aproximadamente 1,0 cm<sup>2</sup> com o auxílio de uma tesoura esterilizada com uma solução de etanol-água 70% v/v e colocadas na câmara de vácuo. Para



as amostras do segundo lote, os gases utilizados foram o hidrogênio (100%, fluxo de 172 sccm), o oxigênio (100%, fluxo de 172 sccm) e uma mistura de 50% de hidrogênio e 50% de oxigênio, ambos com fluxo de 86 sccm, totalizando 172 sccm. Para os filmes do terceiro lote, o gás de oxigênio com composição de 100% foi descartado, utilizando-se, então, somente o gás hidrogênio com composição de 100%, e a mistura de gases hidrogênio e oxigênio, na mesma proporção e fluxos descritos anteriormente. Todos os gases utilizados foram adquiridos na AIR PRODUCTS, com pureza de 99,992%.

A pressão da base utilizada foi de  $3,0 \times 10^{-2}$  mbar e a pressão de trabalho, após a adição dos gases na câmara, foi de 1,0 mbar. Além disso, foi utilizada uma fonte de radiofrequência de 13,56 MHz e a potência de 30 W, enquanto o tempo de duração do tratamento foi de 10 min (GARCIA *et al.*, 2021).

### 3.2.4 Deposição de cobre por *magnetron sputtering*

A deposição de cobre foi realizada na superfície dos filmes de LBN do quinto lote. As amostras foram inseridas em uma câmara de vácuo de *magnetron sputtering*, localizada no Laboratório de Engenharia de Superfícies e Tratamentos Térmicos (LESTT) da Universidade de Caxias do Sul, que foi evacuada até uma pressão de base menor que  $1,0 \times 10^{-5}$  mbar, caracterizando o regime como sendo em alto vácuo. O gás argônio (AIR PRODUCTS, pureza de 99,9997%), que compõe o plasma, foi inserido na câmara e ionizado, formando cátions de argônio, por meio de uma diferença de potencial. Por possuírem uma carga elétrica positiva, os cátions são atraídos para o alvo de cobre (pureza de 99,9%), que está sob um potencial negativo, a 6,0 cm da amostra. Como resultado da colisão, átomos do alvo de cobre são ejetados e depositados sobre a superfície das amostras. Foram testados tempos de deposição de 5, 10, 15, 20, 30 e 40 s. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em dessecador (sem evacuação de ar interno) e em bancada de laboratório (**Tabela 6**) com o intuito de



verificar possíveis modificações na superfície do material em função do tipo de acondicionamento do mesmo.

**Tabela 6** - Composição e condições de preparação dos filmes de LBN do quinto lote

<b>Código</b>	<b>Descrição dos filmes</b>	<b>Condição de secagem e armazenamento</b>
5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 5 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - bancada
5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 5 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - dessecador
5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 10 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - bancada
5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 10 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - dessecador
5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 15 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - bancada
5LBN-PRÓP-SPUTCu-15D/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 15 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - dessecador
5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 20 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - bancada
5LBN-PRÓP-SPUTCu-20D/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 20 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - dessecador
5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 30 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - bancada
5LBN-PRÓP-SPUTCu-30D/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 30 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - dessecador
5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 40 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - bancada
5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h	LBN, própolis vermelha e 40 s de deposição de Cu	65 °C por 24 h - dessecador
5LBN-PRÓP/65 °C-24 h	LBN e própolis vermelha	65 °C por 24 h - bancada

**Fonte:** o autor. **Legenda do código das amostras:** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-XY/65 °C-24 h, onde 5 = filme do quinto lote; LBN = látex de borracha natural; PRÓP = própolis vermelha; SPUTCu = deposição de cobre por *magnetron sputtering*; X = tempo de deposição em segundos; Y = condição de armazenamento (B = bancada e D = dessecador); 65 °C-24 h = condição de secagem da amostra.

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

#### 3.3.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

Essa análise foi realizada em um equipamento de FTIR da marca Perkin Elmer, Spectrum 400, no modo de refletância total atenuada (ATR) e em um intervalo de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , localizado no Laboratório de Caracterização de Materiais II (LCMAT II) da Universidade de Caxias do Sul.

Os espectros foram registrados apenas uma vez para as amostras do segundo lote e, após uma avaliação preliminar dos resultados obtidos, percebeu-se que seria interessante realizar essas análises mais de uma vez para acompanhar possíveis modificações estruturais nos filmes. Sendo assim, para as análises do terceiro lote de amostras secas à temperatura de 40 °C por 24 h, foram registrados espectros nos dias 0, 7, 14 e 21. As amostras secas à temperatura controlada por 7 dias, sem tratamento a plasma, foram analisadas nos tempos de 0, 7, 14, 21, 60, 90 e 120 dias, enquanto as amostras com tratamento a plasma foram analisadas nos tempos de 7 e 14 dias após o tratamento. Para as amostras do quarto lote e para os testes de evaporação e com reticulante, os espectros foram registrados apenas uma vez. Por fim, para o quinto lote de amostras, os espectros foram obtidos nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias, após a deposição de cobre.

### **3.3.2 Medição do ângulo de contato**

A técnica de medição de ângulo de contato foi realizada em equipamento da marca SEO, modelo Phoenix-150, localizado no Laboratório de Caracterização de Materiais I (LCMAT I) na Universidade de Caxias do Sul. Com essa técnica foi possível analisar a molhabilidade dos filmes de LBN por meio da medição do ângulo de contato de gotas de água destilada, medidos dez vezes. Para as amostras do segundo lote, o ensaio foi repetido nos dias 0, 7, 14, 21, 60, 90 e 110, contando como dia 0 o dia em que os filmes foram finalizados, a fim de determinar o tempo de prateleira. As amostras do terceiro lote, secas à temperatura de 40 °C por 24 h, e sem tratamento a plasma, foram analisadas nos dias 0, 7, 14 e 21, sendo que cada análise a partir desse lote foi realizada em triplicata, visando uma melhor precisão e confiabilidade nos resultados. Os filmes secos à temperatura controlada por 7 dias, e sem tratamento a plasma, foram analisados nos tempos de 0, 7, 14, 21, 60, 90 e 120 dias. As amostras do terceiro lote com tratamento a plasma foram analisadas nos tempos 7 e 14 dias,

após o tratamento. Já para as amostras do quarto lote e para os testes de evaporação e com o reticulante, a análise foi feita somente no dia 0. Por fim, para o quinto lote de amostras, as medidas foram realizadas nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias, após a deposição de cobre.

### **3.3.3 Fluorescência de raios X**

Para a realização do ensaio de fluorescência de raios X (XRF) foi utilizado um equipamento da marca Shimadzu, modelo EDX-7000, localizado no LCMAT I na Universidade de Caxias do Sul. Os ensaios foram realizados nas amostras do quinto lote, nas quais o cobre foi depositado por *magnetron sputtering*, e que permaneceram em dessecador. Para tanto, as mesmas foram cortadas em lados de 12 mm e suportadas em mylar, sendo as medidas realizadas a vácuo, com os canais de medida Al-U e Na-Sc, utilizando uma janela de análise de 10 mm.

### **3.3.4 Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo e espectroscopia por dispersão em energia**

Para a análise de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) foi utilizado um equipamento de modelo Tescan Mira 3. Os mapas das composições químicas dos filmes de LBN foram obtidos por espectroscopia por dispersão de energia (EDS), utilizando o mesmo equipamento. Essas análises foram realizadas para as amostras do terceiro lote, com e sem tratamento a plasma, e para as amostras do quinto lote.

### **3.3.5 Ensaio antibacteriano**

O ensaio antibacteriano foi realizado através do método de disco-difusão, onde os filmes de LBN foram inicialmente cortados com lados de 1,0 cm, esterilizados com luz UV por 8 h (4 h para cada lado das amostras) e alocados em contato direto com o inóculo bacteriano *Escherichia coli* com concentração de  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL. Após 24 h de incubação

em uma estufa bacteriológica, a 37 °C, procedeu-se à verificação de possíveis halos de inibição para a interpretação dos resultados.

Além disso, efetuou-se também a análise em meio líquido. Esse ensaio foi realizado com o objetivo de verificar se os filmes eram bacteriostáticos ou bactericidas. Para tanto, foi utilizado uma placa de poços em que as amostras permaneceram em contato com o inóculo bacteriano de *Escherichia coli*, com concentração de  $1,0 \times 10^4$  UFC/mL, por 24 h a 37 °C. Ao término desse tempo, adicionou-se resazurina aos poços que ficaram incubados, sob agitação, por mais 1 h para verificação da coloração.

Ainda, um teste de crescimento de bactérias do meio líquido foi realizado para confirmar os resultados da coloração. Para esse propósito, foi introduzido um *swab* no meio líquido, antes da adição da resazurina, que foi passado em meio de ágar. Em seguida, a placa foi incubada em uma estufa bacteriológica a 37 °C por 24 h e, posteriormente, analisou-se o crescimento de bactérias nesse meio.

### **3.3.6 Ensaio de liberação de cobre**

O ensaio de liberação de cobre foi realizado com as amostras 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h e 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h. Para tanto, as mesmas foram cortadas em 4 pedaços com medidas de 12,5 × 12,5 mm. Em seguida, as 4 partes foram imersas em 100 mL de água destilada e colocadas sob agitação constante em um shaker a 200 rpm e a 25 °C, por tempos de 0, 4, 8, 12 e 24 h. A quantificação de cobre foi realizada por meio da técnica de espectroscopia de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) no Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais (LAPAM) da Universidade de Caxias do Sul. O método empregado foi o 3120-B, descrito no *Standard Methods for the Examination of*

*Water and Wastewater* (SMEWW, 23ª edição) (Rice *et al.*, 2017). O limite de detecção para cobre é de 0,0073 mg/L, sendo que as análises foram feitas em duplicata.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 PRIMEIRO LOTE DE FILMES DE LBN

#### 4.1.1 Preparação dos filmes

No primeiro lote de filmes foram testados teores de 0,5 a 6% m/m de CuO, onde percebeu-se um grande acúmulo (aglomeração) de óxido de cobre (II) na superfície dos filmes. Além disso, observou-se que a temperatura utilizada durante a secagem dos filmes desse lote (65 °C) provocou a carbonização das amostras, deixando-as com aspecto pegajoso, o que interferiu na formação dos filmes (**Figura 9**).

**Figura 9** - Registro fotográfico da amostra do primeiro lote



Fonte: o autor.

Como não foi possível realizar uma análise por FTIR-ATR com as amostras do primeiro lote (**Tabela 2**), pelo fato de terem sido carbonizadas pela elevada temperatura de

secagem e não apresentarem consistência suficiente para o ensaio, as mesmas acabaram sendo descartadas. Por esse motivo, um segundo lote de filmes foi preparado.

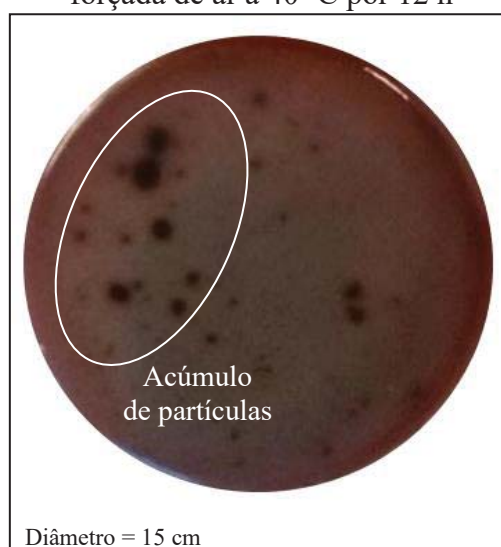
## 4.2 SEGUNDO LOTE DE FILMES DE LBN

### 4.2.1 Preparação dos filmes

No segundo lote de filmes optou-se por fixar o teor de CuO e CuONPs em 0,25% m/m, mantendo-se o teor de própolis vermelha em 2,50 mg/mL e o volume de LBN em 40,0 mL, o qual resultou em filmes com melhor aparência visual e textura.

Após definir a concentração de CuO e CuONPs nos filmes de LBN, preparou-se o segundo lote de amostras com diferentes condições de temperatura de secagem (40 °C por 24 h, 40 °C por 12 h com circulação forçada de ar e temperatura ambiente por tempo superior a 92 h, respectivamente) (**Tabela 3**). A preparação desse lote evidenciou que a secagem com circulação forçada de ar a 40 °C por 12 h favoreceu a aglomeração de própolis vermelha, bem como de CuO e CuONPs na superfície dos filmes (**Figura 10**), fato que não ocorreu nas outras duas condições de secagem.

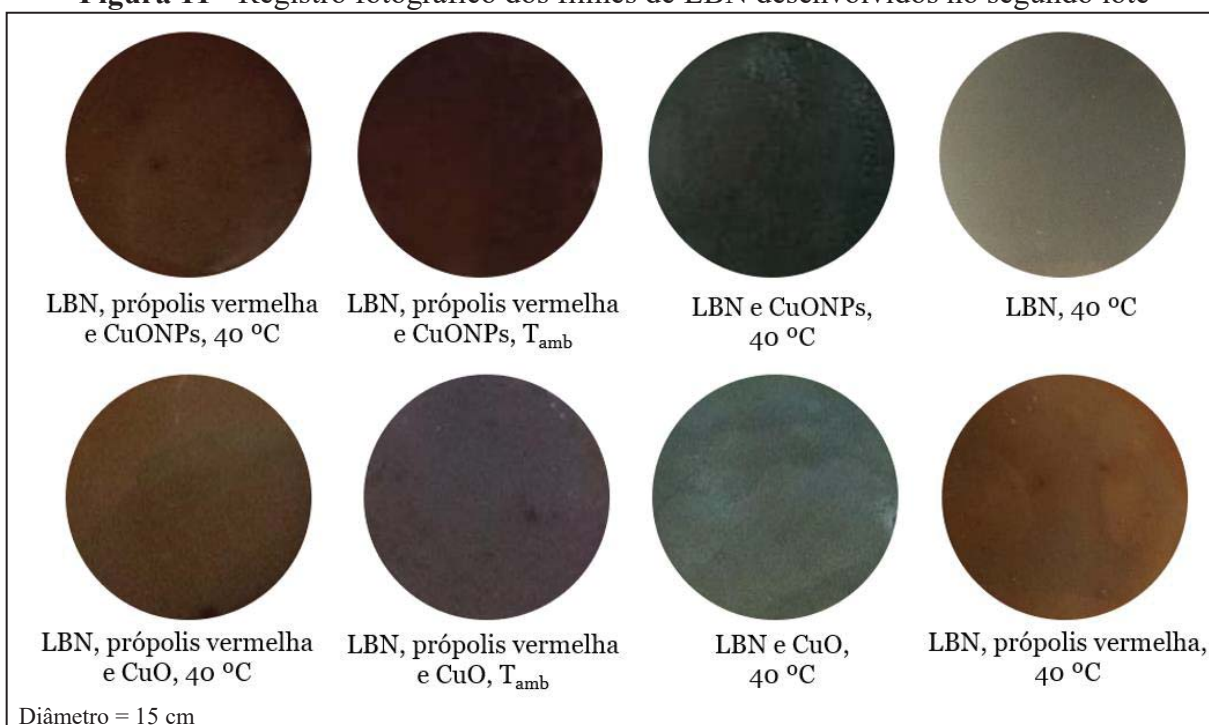
**Figura 10** - Registro fotográfico da amostra do segundo lote com secagem com circulação forçada de ar a 40 °C por 12 h



Fonte: o autor.

Os melhores resultados em relação à aparência e textura das amostras foram obtidos com uma secagem a 40 °C por 24 h, e à temperatura ambiente por tempo superior a 92 h (**Figura 11**).

**Figura 11** - Registro fotográfico dos filmes de LBN desenvolvidos no segundo lote

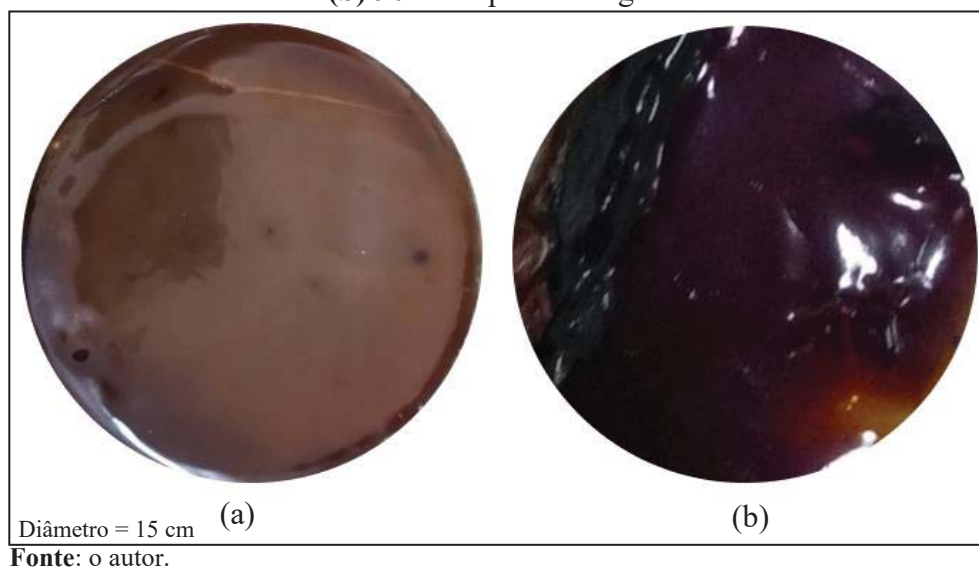


Fonte: o autor.

Com base nesses resultados preliminares, prepararam-se novos filmes de LBN para os tratamentos a plasma, e sua posterior caracterização. Porém, percebeu-se que após o período de 7 dias, os filmes contendo CuONPs, com secagem a 40 °C e por 24 h (2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h e 2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h), começaram a se desintegrar, mudando drasticamente seu aspecto de filme denso (**Figura 12**), fato que ocorreu com menor intensidade no filme obtido à temperatura ambiente (2LBN-PRÓP-0.25CuONP/T<sub>amb</sub>->92 h). Essas evidências experimentais sugerem que a presença de CuONPs, assim como o uso de calor, exercem alguma influência no processo de solidificação do LBN. Notou-se ainda que as condições do local em que os filmes foram acondicionados poderiam causar a desintegração em função do aumento de umidade e/ou mudanças de temperatura.



**Figura 12** - Registro fotográfico da amostra 2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h (a) no dia 0 e (b) 90 dias após a secagem



#### 4.2.2 Tratamento a plasma

Com o intuito de modificar a superfície dos filmes escolhidos do segundo lote (**Figura 11**), estes foram submetidos a diferentes tratamentos a plasma, usando os gases oxigênio, hidrogênio e uma mistura de hidrogênio/oxigênio (50:50), durante 10 min. O tratamento a plasma apresenta a vantagem de ser um método ecologicamente correto (GARCIA *et al.*, 2021) e eficaz (YOSHIDA *et al.*, 2013), além de apresentar baixo custo (ROMAN, 2010). O tratamento com cada um desses gases tem características relacionadas à atividade química de seus íons.

Aparentemente não foram evidenciadas modificações visuais significativas em seu aspecto morfológico, após os diferentes tratamentos. Porém, percebeu-se que o nível de desintegração das amostras 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h, 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/T<sub>amb</sub>-> 92 h e 2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h (todas com CuONPs) foi menor nos filmes tratados a plasma. O tratamento com gás oxigênio indicou menor desintegração, enquanto o tratamento realizado com a mistura de gases H<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> evidenciou maior desintegração. Os filmes com e sem tratamento a plasma foram caracterizados posteriormente.

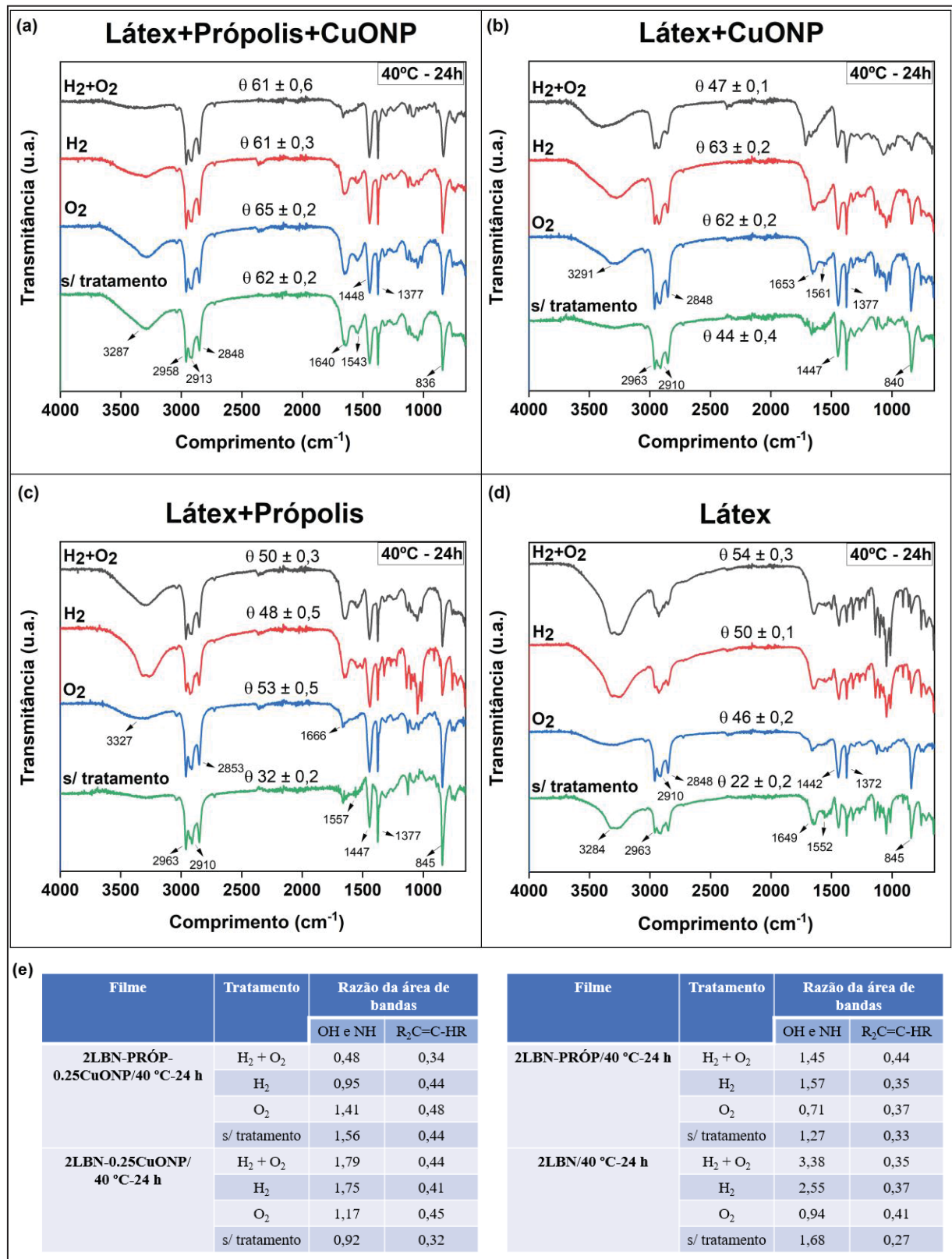


### 4.2.3 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR

Os filmes do segundo lote foram caracterizados quimicamente por meio da técnica de FTIR-ATR, visando avaliar possíveis modificações estruturais após o tratamento a plasma. Na **Figura 13** encontram-se os espectros obtidos para as amostras, com e sem tratamento, dos filmes 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h, 2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h, 2LBN-PRÓP/40 °C-24 h e 2LBN/40 °C-24 h. Os demais espectros não foram apresentados nessa figura, dada a semelhança entre eles. Os valores representados após o símbolo  $\Theta$  nos espectros de FTIR-ATR referem-se aos ângulos de contatos, que serão discutidos posteriormente. A atribuição das principais bandas desses filmes encontra-se sumarizadas na **Tabela 7**. As bandas relativas ao poli(*cis*-1,4-isopreno) estão relacionadas diretamente aos números de onda em aproximadamente 2960, 2911, 2850, 1445, 1374 e 840  $\text{cm}^{-1}$  (GARCIA *et al.*, 2021).

A banda localizada em 3290  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada aos estiramentos das ligações de grupamentos N-H e O-H (DANNA *et al.*, 2016). Os grupos N-H têm correlação direta com compostos não isoprenos, estando relacionados às proteínas presentes no LBN (ROLERE *et al.*, 2015), enquanto os grupos O-H estão associados à presença de umidade (GARCIA *et al.*, 2021). As bandas em 2960, 2911 e 2850  $\text{cm}^{-1}$  referem-se às ligações C-H, sendo as duas primeiras relativas ao estiramento simétrico de  $\text{CH}_3$  e a última ao estiramento assimétrico de  $\text{CH}_2$  (AGREBI *et al.*, 2018). Em aproximadamente 1650  $\text{cm}^{-1}$ , observam-se bandas características de C=C provenientes do isopreno (AGREBI *et al.*, 2018) e de C=O de amida I (DANNA *et al.*, 2016). Em 1552  $\text{cm}^{-1}$  aparece a banda inerente à amida II, relacionada igualmente às proteínas do LBN (DANNA *et al.*, 2016). Por fim, as bandas em aproximadamente 1445 e 1374  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas às deformações angulares de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ , respectivamente (AGREBI *et al.*, 2018), enquanto a banda em 840  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao desdobramento de  $\text{R}_2\text{C}=\text{C}-\text{HR}$ , banda característica do LBN (*cis*-1,4), representando o isopreno (ROLERE *et al.*, 2015; TANAKA *et al.*, 2021).

**Figura 13** - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h, (b) 2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h, (c) 2LBN-PRÓP/40 °C-24 h e (d) 2LBN/40 °C-24 h; (e) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN



Fonte: o autor.

Algumas bandas características do extrato de própolis foram evidenciadas em aproximadamente 1640 e 1457  $\text{cm}^{-1}$ . Essas bandas estão relacionadas à presença de anéis aromáticos e flavonoides, entre outros compostos (OLIVEIRA *et al.*, 2016). Observou-se ainda que os espectros dos filmes de LBN e própolis vermelha (**Figura 13c**) são muito semelhantes aos espectros do LBN na sua forma isolada (**Figura 13d**), o que sugere apenas uma interação física entre eles. Esse resultado também foi evidenciado por Zancanela *et al.* (2017).

**Tabela 7** - Atribuição das principais bandas de absorção encontradas nos espectros de FTIR-ATR dos filmes de LBN

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição	Referência
3327 - 3248	N-H (relacionado às proteínas) O-H (relacionado à umidade)	Danna <i>et al.</i> (2016), Garcia <i>et al.</i> (2021)
2963 - 2958 2913 - 2910	CH <sub>3</sub> (estiramento simétrico)	Agrebi <i>et al.</i> (2018)
2853 - 2848	CH <sub>2</sub> (estiramento assimétrico)	
1666 - 1640	C=C (LBN) e C=O (amida I)	Agrebi <i>et al.</i> (2018), Danna <i>et al.</i> (2016)
1561 - 1543	N-H (amida II, relacionado às proteínas)	Rolere <i>et al.</i> (2015)
1448 - 1442	CH <sub>2</sub> (deformação angular)	Agrebi <i>et al.</i> (2018)
1377 - 1372	CH <sub>3</sub> (deformação angular)	
845 - 836	R <sub>2</sub> C=C-HR (característica do <i>cis</i> -1,4 proveniente do LBN)	Rolere <i>et al.</i> (2015), Tanaka <i>et al.</i> (2021)

Fonte: o autor.

Não foi possível identificar as bandas características do CuO e das CuONPs pela técnica de FTIR-ATR, pois os estiramentos da ligação Cu-O ocorrem na região abaixo dos 640  $\text{cm}^{-1}$  (DHINESHBABU *et al.*, 2016).

A fim de obter maiores informações a partir da análise de FTIR-ATR, decidiu-se realizar uma avaliação quantitativa dos espectros registrados. Para isso, determinaram-se as áreas das principais bandas do LBN com a intenção de verificar se ocorreram modificações na estrutura do polímero, onde as NPs foram incorporadas. As bandas relativas aos estiramentos de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub> (2960, 2910 e 2848 cm<sup>-1</sup>) foram utilizadas como referência, sendo que o cálculo da razão das áreas das bandas foi realizado de acordo com a **Equação (1)**:

$$R = \frac{A_b}{A_r} \quad (1)$$

onde,  $R$  é a razão da área de banda,  $A_b$  é a área da banda a ser analisada e  $A_r$  é o somatório das bandas relativas aos estiramentos de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub> utilizados como referência. As principais razões de áreas obtidas encontram-se na **Figura 13e**. O quadro com todos os resultados das razões de áreas encontra-se no **Apêndice A**.

Para analisar os resultados de forma mais precisa e verificar quais mudanças são significativas, foram realizadas três medições de FTIR-ATR em um filme de LBN, em pontos diferentes da superfície da amostra, e em seguida calcularam-se as áreas de bandas em triplicata. Por meio desse tratamento matemático, encontrou-se um grau de significância (G.S.) para cada razão de banda, que foi utilizado para todas as análises. Os valores encontrados de G.S. para as razões da área de bandas dos grupos OH e NH, C=C e C=O, N-H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> e R<sub>2</sub>C=C-HR foram, respectivamente, iguais a 0,09; 0,05; 0,11; 0,01; 0,01 e 0,01, valores os quais foram considerados como margem de erro de cálculo para a respectiva razão de área de banda.

Como pode ser evidenciado, os valores encontrados para as razões dos filmes do segundo lote não indicaram uma tendência razoável em relação aos tratamentos avaliados. Isso pode estar relacionado à desintegração dos filmes, já que os tratamentos foram feitos pelo

menos uma semana depois que os filmes já estavam prontos. Por outro lado, percebeu-se que em uma mesma amostra, as razões da banda de  $R_2C=C-HR$  (a mais importante para a identificação do LBN) foram similares nos filmes sem tratamento e nos filmes tratados a plasma com gás oxigênio. Essa similaridade pode indicar, em um primeiro momento, que o plasma com esse gás não proporcionou mudanças significativas nos filmes analisados. De qualquer maneira, é importante ressaltar que mais análises são necessárias para corroborar essa hipótese.

#### 4.2.4 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN

As medidas de ângulo de contato para as amostras do segundo lote foram realizadas nos dias 0, 7, 14, 21, 60, 90 e 110. Pelo fato de o LBN apresentar um envelhecimento natural, é importante avaliar seu tempo de prateleira. Esse tempo pode ser estimado por meio de medidas de ângulo de contato (molhabilidade). A análise do ângulo de contato ajuda a prever por quanto tempo os filmes poderão permanecer em uma certa condição para uma dada aplicação. Na **Figura 13**, os principais resultados para o ângulo de contato dos filmes desenvolvidos no segundo lote para o dia 0 estão representados logo após o símbolo  $\Theta$ . O quadro com todas as medidas de ângulo de contato em função do tempo encontra-se no **Apêndice B**.

Como pode ser constatado, os resultados encontrados para o ângulo de contato mostraram que o filme de LBN sem tratamento possui uma natureza hidrofílica. Esse resultado está em desacordo com os estudos de Garcia *et al.* (2021), onde foi encontrado um comportamento hidrofóbico para os filmes de LBN secos a 65 °C. Contudo, nos estudos de Lima *et al.* (2021), apesar da preparação dos filmes ser diferente, foi encontrado um comportamento hidrofílico para os filmes de LBN, com ângulos de contato muito próximos aos obtidos nesse trabalho. De acordo com Lima *et al.* (2021), a espessura do filme de LBN

está diretamente relacionada com o ângulo de contato, sendo que uma espessura menor resulta em menores ângulos de contato.

Os filmes contendo CuONPs, por outro lado, apresentaram um caráter mais hidrofóbico quando comparados àqueles contendo CuO. Isso ocorre, pois segundo Mandke e Pathan (2012), as CuONPs apresentam um caráter hidrofóbico ( $112^\circ$ ), aumentando o ângulo de contato dos filmes em que as mesmas foram incorporadas. Por outro lado, todos os filmes evidenciaram um aumento ou uma estabilidade do ângulo de contato com o tempo. Esse aumento é corroborado pelos estudos de Garcia *et al.* (2021), que demonstraram que há a necessidade de controlar o prazo de validade dos filmes, ou seja, conhecer por quanto tempo os mesmos mantêm a sua hidrofobicidade.

Para ser considerado um material com características favoráveis para aplicação biomédica, o ângulo de contato do mesmo deve ser menor que  $80^\circ$  (GARCIA *et al.*, 2021). Nesse sentido, percebe-se que o filme 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h sem tratamento a plasma pode ser utilizado até um tempo inferior a 60 dias, uma vez que apresentou um ângulo de contato de  $83^\circ$  no dia 60. A amostra 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/ $T_{amb}$ -> 92 h sem tratamento a plasma, por sua vez, pode ser utilizada até antes de 110 dias de sua fabricação, pois o ângulo de contato no dia 110 é de  $84^\circ$ . Já o filme 2LBN-0.25CuO/40 °C-24 h tratado a plasma com o gás oxigênio tem um prazo de validade de até 90 dias, pois o ângulo de contato em 90 dias é de  $81^\circ$ . Por fim, o filme 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h tratado com os três tipos de plasma não teve seu ângulo de contato medido, a partir do dia 110, pelo fato de ter se desintegrado e, por esse motivo, deve ser utilizado antes desse tempo. Não foi possível realizar a medida de ângulo de contato na amostra 2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h sem tratamento a partir de 90 dias, pois a mesma encontrava-se desintegrada e sem a consistência necessária para a análise. Portanto, as análises não foram realizadas nessas amostras nesses

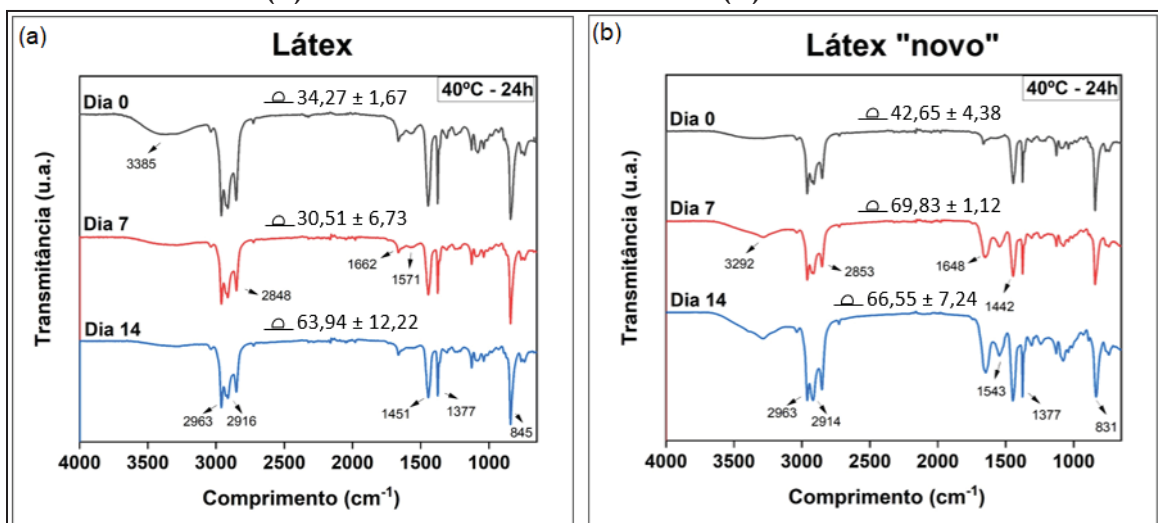
dias. Além disso, as outras amostras não apresentaram ângulo maior que  $80^\circ$  no período observado, não sendo especificado um tempo de validade para as mesmas.

De forma geral, os tratamentos a plasma reduziram o aumento da hidrofobicidade em função do tempo, resultado que está de acordo com os estudos de Garcia *et al.* (2021). Porém, o tratamento a plasma realizado com gás oxigênio não demonstrou estabilidade nas medidas com o tempo e, por esse motivo, o mesmo foi desconsiderado nas próximas etapas.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS NOVOS FILMES DE LBN

Após avaliar os resultados obtidos em relação à hidrofilicidade dos filmes de LBN com outros trabalhos da literatura, decidiu-se verificar as propriedades da matriz polimérica utilizada em função do tempo. Para tanto, preparou-se um novo filme de LBN, utilizando um novo lote de LBN recentemente adquirido pelo grupo, com o intuito de descartar a possibilidade de envelhecimento do mesmo e, conseqüentemente, mudanças em sua composição. Os dois filmes (3LBN/40 °C-24 h e o novo) foram avaliados durante 14 dias por meio das técnicas de FTIR-ATR e ângulo de contato (**Figura 14**).

**Figura 14** - Espectros de FTIR-ATR e valores de ângulo de contato dos filmes (a) 3LBN/40 °C-24 h e do filme de (b) LBN novo



Fonte: o autor.



Em geral, os espectros de FTIR-ATR não evidenciaram o aparecimento de novas bandas, o que indica que não existem mudanças estruturais no filme de LBN novo em relação aos filmes de LBN usados neste estudo. Além disso, os valores de ângulos de contato inicial (dia 0) e final (dia 14) foram similares, sugerindo igual comportamento em termos de molhabilidade. Por fim, verificou-se que o LBN usado apresenta boas condições de uso, uma vez que apresentou características semelhantes ao LBN do novo lote. Por esse motivo, optou-se por continuar os ensaios com o lote que foi declarado inicialmente na seção Materiais e Métodos. Assim, foram preparados os filmes do terceiro lote com o objetivo de analisar se o processo de desintegração ocorria devido às condições do local em que os filmes estavam acondicionados.

#### 4.4 TERCEIRO LOTE DE FILMES DE LBN

##### 4.4.1 Preparação dos filmes

O terceiro lote de filmes foi preparado com temperaturas de secagem de 40 °C por 24 h e temperatura ambiente de 23 °C ± 2 °C por 7 dias e, em seguida, as amostras foram acondicionadas em ambiente com temperatura e umidade do ar controladas, e ao abrigo da luz.

Percebeu-se que mesmo com temperatura e umidade controladas, e ao abrigo da luz, o filme 3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h continuava se desintegrando a partir de 14 dias, porém em um tempo relativamente maior, já que antes esse fenômeno começou a ser observado a partir do sétimo dia. A amostra contendo CuONPs, e seca à temperatura ambiente controlada (3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d), começou a apresentar mudanças nas propriedades a partir de 21 dias; porém, o nível de desintegração foi muito inferior ao observado para a amostra 3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h. Portanto, decidiu-se que os filmes deveriam permanecer em ambiente com temperatura e umidade controladas para conservá-los por mais tempo.



Além disso, acredita-se que a desintegração da amostra possa estar relacionada com a presença de NPs e com a temperatura na qual foi realizada a secagem do filme. Ainda, foi observado que as amostras contendo própolis vermelha (3LBN-PRÓP-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d) se mantiveram estáveis por mais tempo em relação às aquelas que não a continham (3LBN-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d), indicando que a mesma ajuda no retardo da desintegração dos filmes. Com base nesses resultados, as amostras secas à temperatura ambiente controlada foram preparadas para o tratamento a plasma e sua posterior caracterização.

#### **4.4.2 Tratamento a plasma**

O tratamento a plasma foi realizado nas amostras do terceiro lote com secagem à temperatura ambiente controlada. Porém, os gases utilizados para essas amostras foram o hidrogênio e a mistura de gases hidrogênio/oxigênio. Não houve mudanças visuais nas amostras após o tratamento a plasma e, assim como no segundo lote, o tratamento a plasma reduziu o nível de desintegração dos filmes. Posteriormente, as amostras foram preparadas para a caracterização.

#### **4.4.3 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR**

Ao término das análises de FTIR-ATR dos filmes do segundo lote, decidiu-se avaliar os filmes do terceiro lote em vários intervalos de tempo. As análises de FTIR-ATR foram realizadas nos dias 0, 7, 14 e 21 para as amostras que foram secas à 40 °C por 24 h, e para as amostras tratadas a plasma com o gás hidrogênio e a mistura de gases hidrogênio/oxigênio após 7 e 14 dias. As amostras secas à temperatura controlada por 7 dias, sem tratamento, foram avaliadas nos dias 0, 7, 14, 21, 60, 90 e 120 com o intuito de verificar possíveis mudanças estruturais e/ou interações químicas entre os componentes dos filmes de LBN com o passar do tempo. Os espectros dos filmes analisados até 21 dias das amostras 3LBN-

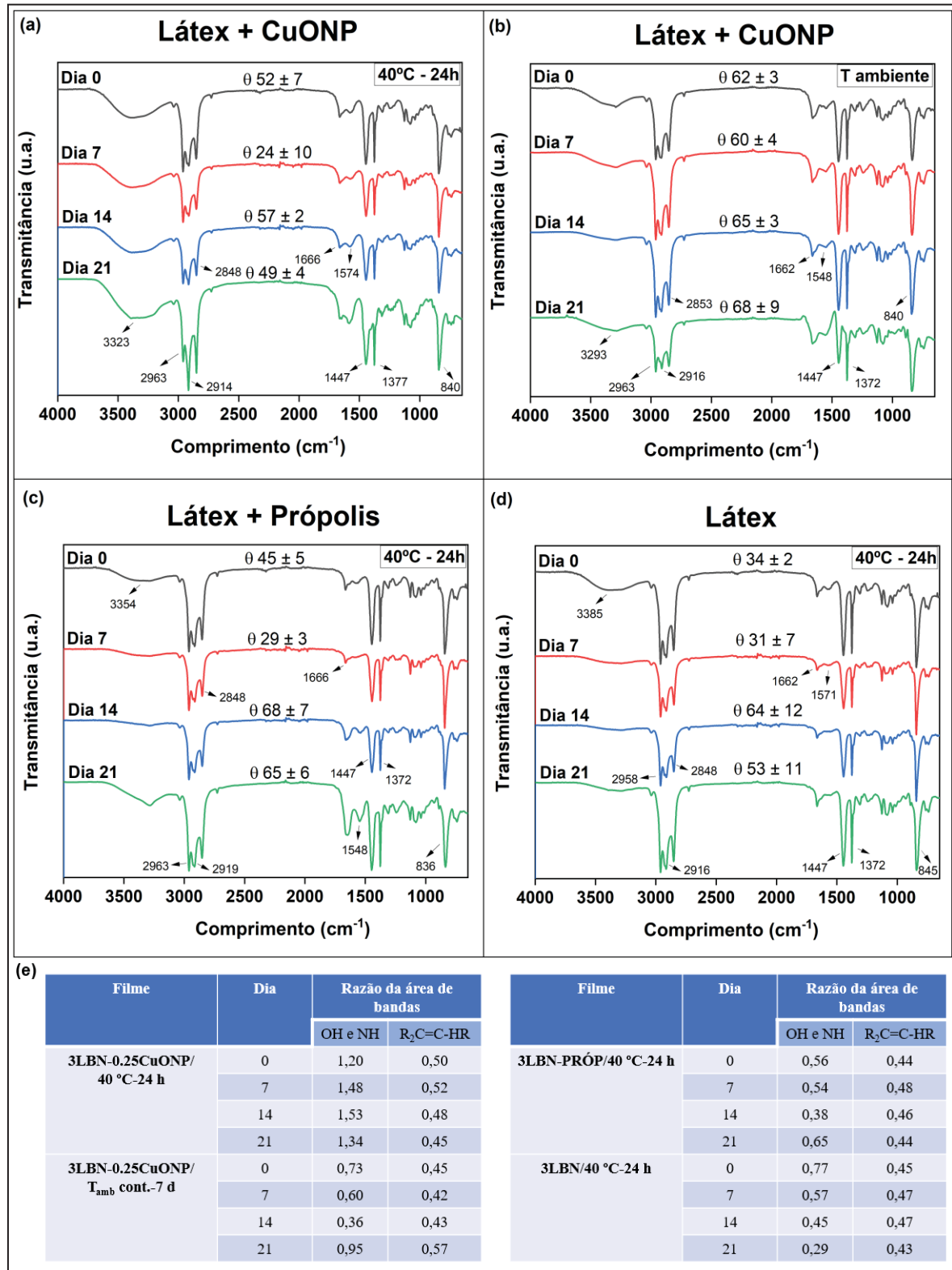
0.25CuONP/40 °C-24 h, 3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, 3LBN-PRÓP/40 °C-24 h e 3LBN/40 °C-24 h, encontram-se na **Figura 15**. Os demais espectros foram muito semelhantes entre si e por esse motivo não constam nessa figura.

A atribuição das bandas desses filmes do terceiro lote foi feita de maneira análoga àquela dos filmes do segundo lote (**Tabela 7**). A única diferença observada nos espectros do filme 3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h diz respeito à banda que aparece em 3323 cm<sup>-1</sup>, e que está relacionada ao aumento de umidade. Esse comportamento não foi observado nos espectros do filme 3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d. Portanto, esse aumento de umidade pode ter uma correlação direta com a desintegração do filme 3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h. Por esse motivo, os filmes secos a 40 °C, e por 24 h, foram excluídos das próximas etapas desse trabalho, permanecendo somente os filmes secos à temperatura controlada de 23 °C ± 2 °C por 7 dias.

Na **Figura 15e** aparecem os principais resultados relativos à análise de área de bandas para o terceiro lote em função do tempo. O quadro com todos os resultados obtidos encontra-se no **Apêndice A**. De acordo com essa análise, não foram evidenciadas mudanças significativas nos filmes de LBN durante o período de tempo analisado. Percebe-se que a amostra 3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h tem uma razão de área significativamente maior para a banda correspondente ao grupo O-H e N-H, e que aumenta com o passar do tempo.

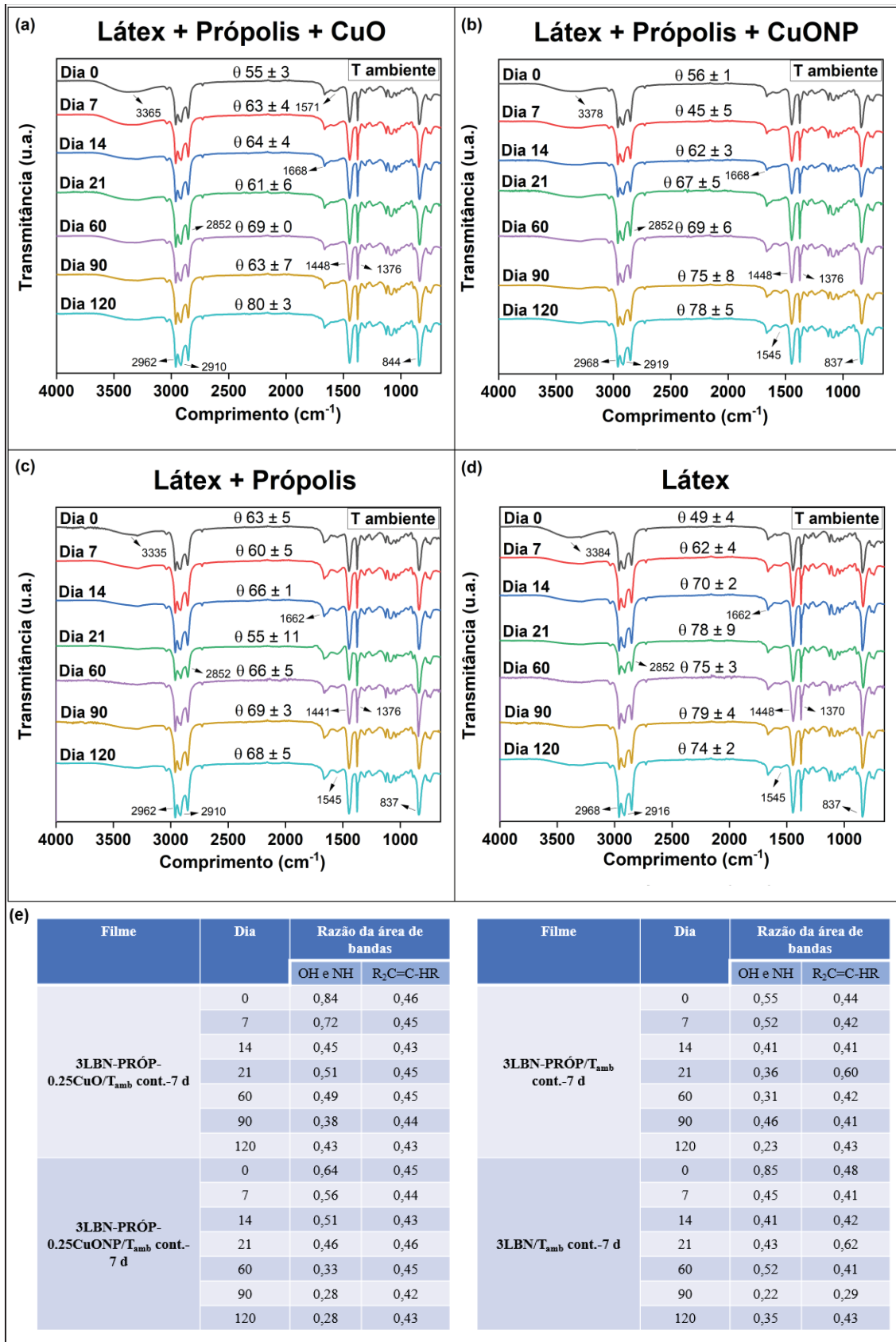
Para as amostras secas à temperatura ambiente, e que foram analisadas até 120 dias, não foram observadas mudanças significativas em função do tempo (**Figura 16**); portanto, o LBN se mantém estável e, também, percebeu-se que a banda correspondente aos grupos O-H e N-H diminuiu com o passar do tempo, diferentemente das amostras secas a 40 °C por 24 h. Portanto, é possível que uma maior temperatura de secagem realmente promova uma reação mais rápida entre o cobre e o LBN, desintegrando o filme.

**Figura 15** - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h, (b) 3LBN-0.25CuONP/Tamb cont.-7 d, (c) 3LBN-PRÓP/40 °C-24 h e (d) 3LBN/40 °C-24 h; (e) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN



Fonte: o autor.

**Figura 16** - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 3LBN-PRÓP-0.25CuO/Tamb cont.-7 d, (b) 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/Tamb cont.-7 d, (c) 3LBN-PRÓP/Tamb cont.-7 d e (d) 3LBN/Tamb cont.-7 d; (e) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN



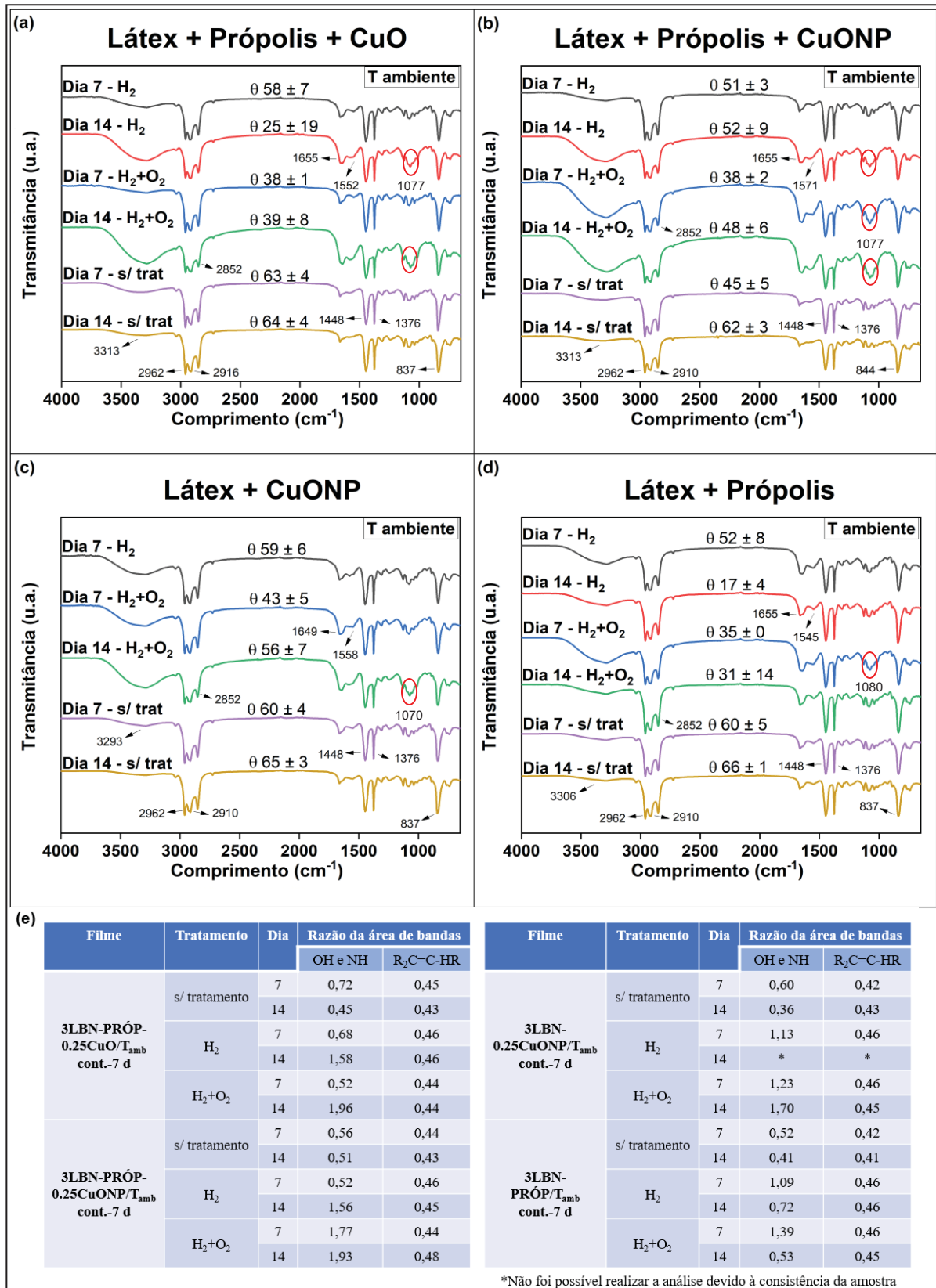
Fonte: o autor.

Por outro lado, a amostra 3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d desintegrou-se a partir de 49 dias, não apresentando consistência suficiente para a realização de tais análises. O espectro de FTIR-ATR do filme 3LBN-0.25CuO/T<sub>amb</sub> cont.-7 d não se encontra representado na **Figura 16**, pois apresentou comportamento muito semelhante aos demais. As principais áreas de bandas estão representadas na **Figura 16e**. A atribuição das bandas presentes nos espectros desses filmes está igualmente de acordo com aquela dos lotes anteriores (**Tabela 7**).

Além disso, essas amostras foram submetidas ao tratamento a plasma e suas estruturas foram analisadas por FTIR-ATR nos dias 7 e 14, com o intuito de identificar possíveis modificações em relação ao lote sem tratamento a plasma, uma vez que nesse período de tempo começaram a surgir os primeiros sinais de desintegração dos filmes. Os espectros das amostras 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, 3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d e 3LBN-PRÓP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, com e sem tratamento, estão representados na **Figura 17**. O espectro da amostra 3LBN-0.25CuO/T<sub>amb</sub> cont.-7 d não foi representado na figura, pois não evidenciou diferenças significativas como as dos filmes ali representados. O espectro de 3LBN/T<sub>amb</sub> cont.-7 d não foi apresentado, pois teve comportamento semelhante ao do filme 3LBN-PRÓP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d. O filme 3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d com tratamento a plasma de H<sub>2</sub>, por sua vez, desintegrou-se antes de ser possível realizar a análise de 14 dias após o tratamento. Por esse motivo, só foi apresentado o espectro obtido no dia 7 para essa amostra.

A atribuição das bandas dos espectros dos filmes ocorreu da mesma forma que os anteriores (**Tabela 7**). Por meio do espectro de FTIR-ATR e da análise da razão das áreas de bandas, percebeu-se uma diferença acentuada nos filmes com tratamento a plasma, ou seja, um alargamento da banda relacionada aos grupos O-H e N-H, sugerindo uma reação entre o plasma e a superfície dos filmes.

**Figura 17** - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T<sub>amb</sub> cont.-7 d com e sem tratamento a plasma, (b) 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d com e sem tratamento a plasma, (c) 3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d; (d) 3LBN-PRÓP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d com e sem tratamento a plasma; (e) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN



Fonte: o autor.

Notou-se que nos filmes tratados com plasma e que contêm cobre, a razão da área da banda aumentou com o tempo, sendo que para os demais filmes diminuiu. Para os filmes que não foram tratados, a razão da área da banda relacionada aos grupos O-H e N-H se manteve ou até diminuiu com o tempo. Portanto, acredita-se que o cobre presente no filme tenha reagido com o plasma que foi utilizado para tratar a superfície da amostra.

Além disso, foi observado um aumento da banda relacionada ao grupamento C-O, proveniente de éteres, em aproximadamente  $1077\text{ cm}^{-1}$  (GARCIA *et al.*, 2021) em alguns filmes com tratamento a plasma (indicado na **Figura 17** por círculos vermelhos), o que indica uma possível reação do plasma com a superfície das amostras. Os resultados principais da análise de áreas encontram-se na **Figura 17e**, sendo que os demais foram agrupados no **Apêndice A**.

#### 4.4.4 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN

Para as amostras do terceiro lote sem tratamento a plasma, a medida de ângulo de contato foi realizada nos dias 0, 7, 14 e 21. Os resultados obtidos encontram-se representados na **Figura 15**, enquanto os demais estão no **Apêndice B**. Observou-se que os valores de ângulo de contato foram semelhantes aos resultados obtidos para as amostras do segundo lote. No entanto, a temperatura de secagem interferiu na molhabilidade dos filmes, uma vez que para a maioria dos dias observados os filmes secos à temperatura ambiente controlada apresentaram um ângulo de contato maior que os filmes secos a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Por isso, os filmes secos à temperatura ambiente controlada por 7 dias foram analisados nos tempos de 0, 7, 14, 21, 60, 90 e 120 dias. Os resultados de ângulo de contato para esses filmes encontram-se na **Figura 16**, sendo que os demais estão no **Apêndice B**.

Os filmes com adição de própolis vermelha e de CuO e CuONPs não apresentaram mudanças significativas em termos de ângulo de contato, mantendo-se praticamente estáveis



ao longo do período de tempo observado. Ainda, os filmes de LBN puro apresentaram uma maior hidroflicidade quando comparados aos filmes com a adição de própolis vermelha e CuO e CuONPs. A maioria dos filmes adquiriram um caráter mais hidrofóbico com o passar do tempo, conforme já era esperado. Além disso, nenhum dos filmes ultrapassou o limite de ângulo de contato de  $80^\circ$  no período observado, com exceção da amostra 3LBN-PRÓP-0.25CuO/ $T_{amb}$  cont.-7 d, que atingiu o valor de  $80^\circ$  em 120 dias. A amostra 3LBN-0.25CuO/ $T_{amb}$  cont.-7 d, por sua vez, desintegrou-se em 49 dias após a sua fabricação, não sendo realizada a análise a partir desse tempo.

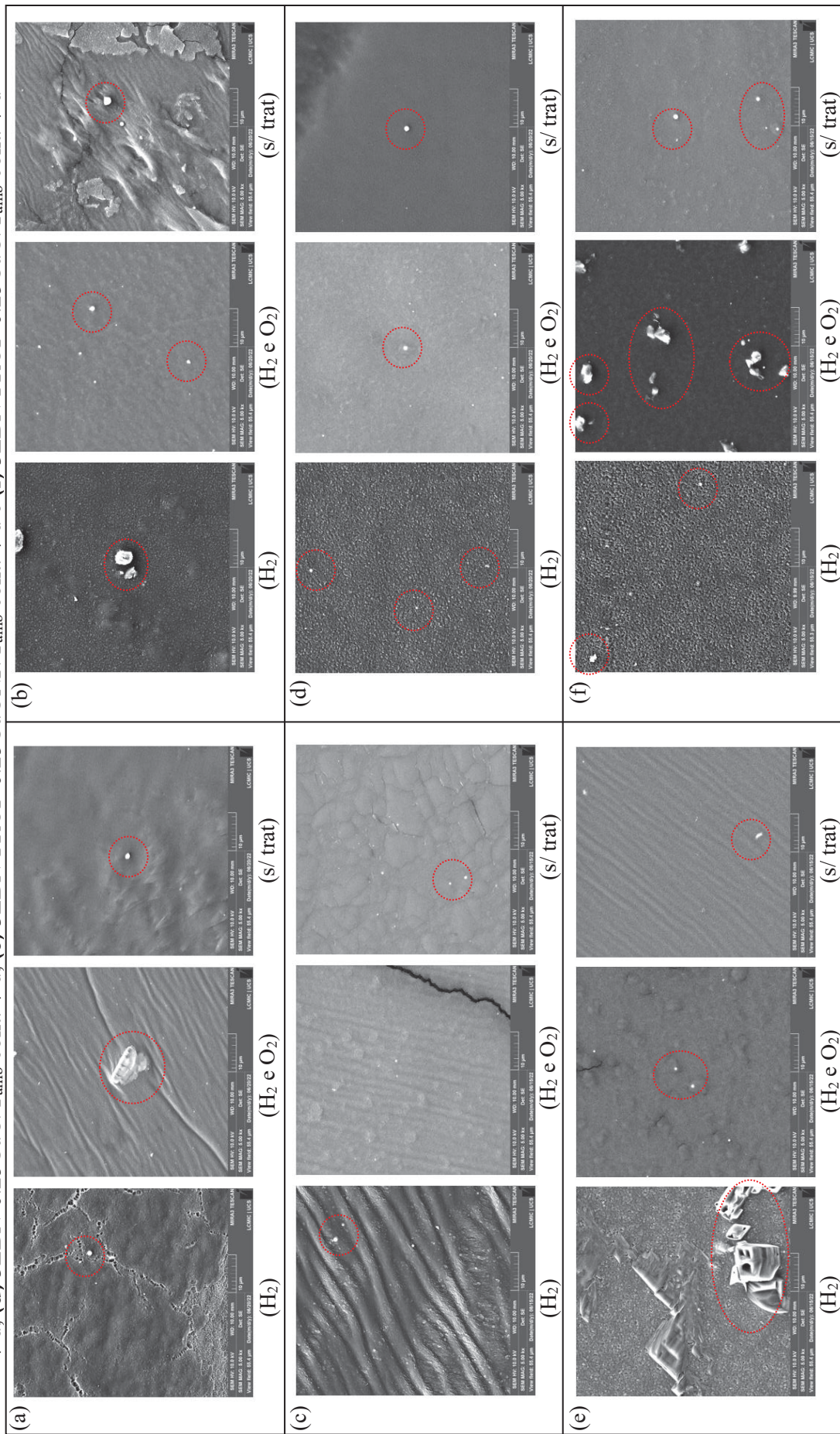
Os resultados de ângulo de contato para as amostras do terceiro lote com o tratamento a plasma encontram-se na **Figura 17**. De modo geral, percebeu-se uma diminuição do ângulo de contato dos filmes tratados com a mistura de gases  $H_2$  e  $O_2$ , enquanto o plasma de  $H_2$  propiciou um ângulo de contato próximo da amostra sem tratamento a plasma, porém com maior conservação (menor envelhecimento). Acredita-se que esse resultado possa estar relacionado com possíveis reações entre o plasma e a superfície do filme.

#### 4.4.5 Avaliação da morfologia dos filmes de LBN

As análises de MEV-FEG e EDS para o terceiro lote foram realizadas apenas com as amostras secas à temperatura ambiente controlada por 7 dias, com e sem tratamento a plasma. Na **Figura 18** encontram-se as micrografias com aumento de  $5000 \times$  para os filmes com e sem tratamento das amostras 3LBN/ $T_{amb}$  cont.-7 d, 3LBN-PRÓP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, 3LBN-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, 3LBN-0.25CuO/ $T_{amb}$  cont.-7 d, 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d e 3LBN-PRÓP-0.25CuO/ $T_{amb}$  cont.-7 d, respectivamente.



**Figura 18** - Micrografias de MEV-FEG dos filmes **(a)** 3LBN/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(b)** 3LBN-PRÓP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(c)** 3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(d)** 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(e)** 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d e **(f)** 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T<sub>amb</sub> cont.-7 d

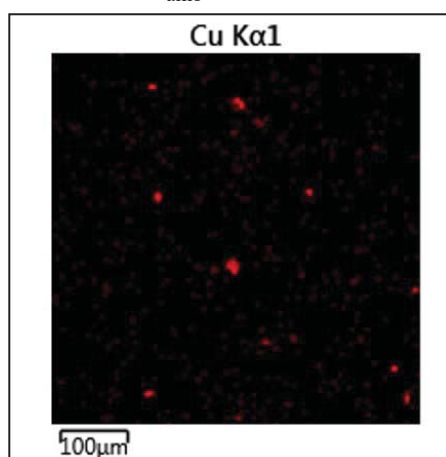


**Fonte:** o autor. **Nota:** H<sub>2</sub> = tratamento a plasma com H<sub>2</sub>; H<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> = tratamento a plasma com H<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>; s/ trat = sem tratamento a plasma.

É possível observar mudanças na superfície dos filmes tratados com plasma de  $H_2$ , principalmente no que se refere à rugosidade. Essa característica influencia diretamente nos valores de ângulo de contato do filme (Silva *et al.*, 2023); todavia, mais estudos precisam ser realizados nesse contexto para chegar-se a uma conclusão mais precisa sobre o assunto.

Foram observadas ainda algumas partículas nas superfícies dos filmes (indicadas na **Figura 18** por círculos vermelhos), as quais foram analisadas pela técnica de EDS. Entretanto, nenhuma correspondeu ao elemento cobre, com exceção do filme 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, que está representado na **Figura 19**.

**Figura 19** - Mapa de EDS para o elemento cobre do filme 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d



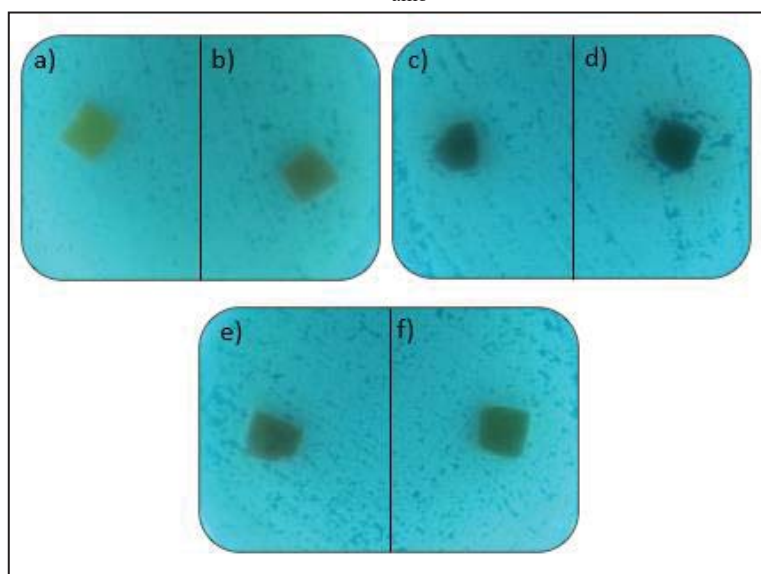
Fonte: o autor.

Acredita-se que as partículas de CuO/CuONPs foram dispersas mais para o interior da matriz polimérica e, por esse motivo, não foram detectadas por essa técnica. Na amostra 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, a quantidade de cobre encontrada foi muito pequena; portanto, é possível que essas partículas tenham ficado acumuladas na superfície do filme, uma vez que os mesmos não apresentam uma homogeneidade em termos de distribuição de cobre.

#### 4.4.6 Ensaios antibacterianos

Os ensaios antibacterianos para o terceiro lote de amostras foram realizados nos filmes secos à temperatura ambiente controlada por 7 dias, sem tratamento a plasma. Na **Figura 20** estão representados os resultados do teste de disco-difusão para essas amostras. Analisando os resultados, percebeu-se que em nenhuma amostra foi visualizado um halo de inibição e as bactérias, inclusive, cresceram por baixo das amostras. Como foi observado na análise de MEV-FEG, as partículas de CuO/CuONPs não foram encontradas na superfície do filme e, portanto, não ficaram em contato direto com as bactérias para que pudessem ter o efeito antibacteriano. Além disso, a quantidade de partículas de CuO/CuONPs pode ser baixa, o que provavelmente não possibilitou a liberação de íons Cu(II) em concentração suficiente para promover o efeito bactericida desejado. O teste em meio líquido, com adição de resazurina, foi então realizado para a comprovação do resultado (**Figura 21**).

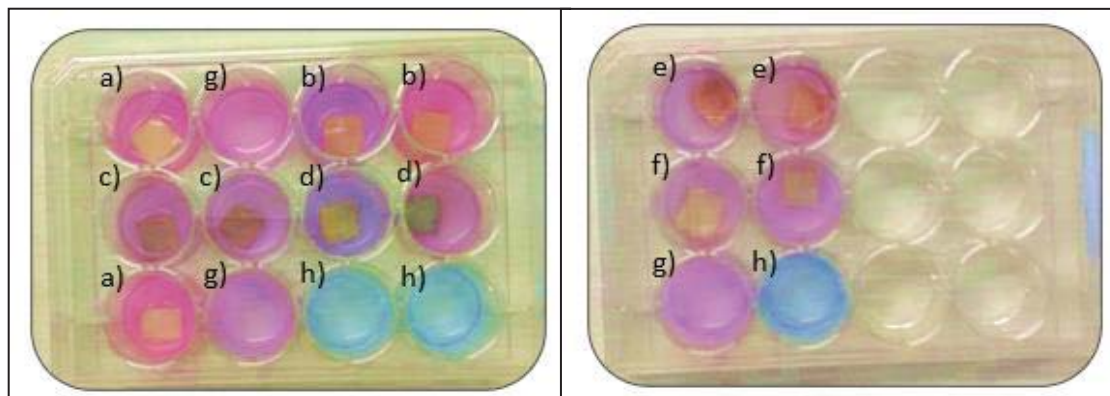
**Figura 20** - Teste de disco-difusão para as amostras **(a)** 3LBN/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(b)** 3LBN-PRÓP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(c)** 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(d)** 3LBN-0.25CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(e)** 3LBN-PRÓP-0.25CuO/T<sub>amb</sub> cont.-7 d e **(f)** 3LBN-0.25CuO/T<sub>amb</sub> cont.-7 d



Fonte: o autor.



**Figura 21** - Teste em meio líquido para as amostras **(a)** 3LBN/ $T_{amb}$  cont.-7 d, **(b)** 3LBN-PRÓP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, **(c)** 3LBN-PRÓP-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, **(d)** 3LBN-0.25CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, **(e)** 3LBN-PRÓP-0.25CuO/ $T_{amb}$  cont.-7 d, **(f)** 3LBN-0.25CuO/ $T_{amb}$  cont.-7 d, **(g)** controle positivo e **(h)** controle negativo



Fonte: o autor.

Os resultados do teste em meio líquido confirmaram os do teste de disco-difusão, onde as amostras não apresentaram efeito bactericida para o inóculo de *Escherichia coli*. Estudos realizados pelo grupo com CuO e CuONPs puras, empregando a mesma metodologia, demonstraram que as partículas de CuO não apresentaram efeito antibacteriano. As partículas de CuONPs, por sua vez, foram eficientes contra a *Escherichia coli* e, por esse motivo, neste trabalho, a partir do próximo lote, foram utilizadas somente estas nanopartículas.

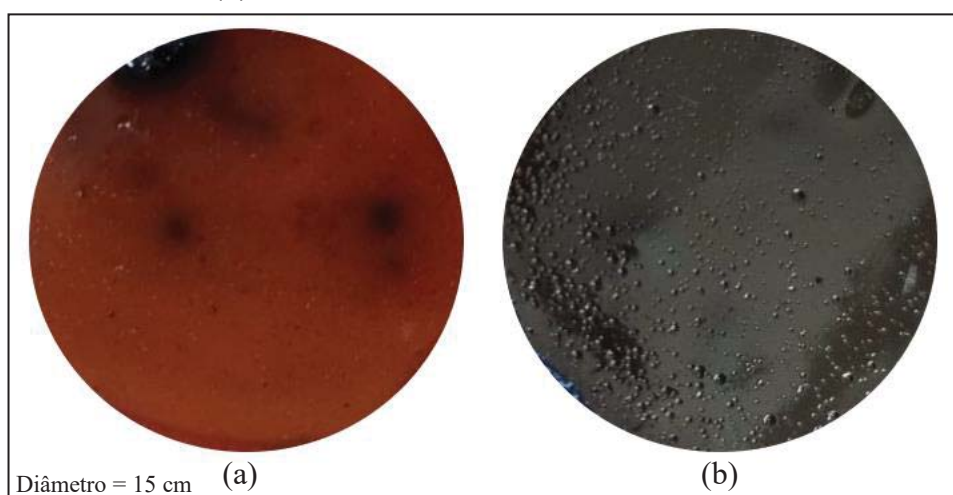
#### 4.5 QUARTO LOTE DE FILMES DE LBN

##### 4.5.1 Preparação dos filmes

Visando melhorar a propriedade antibacteriana dos filmes, as amostras do quarto lote foram preparadas com teores de 0,5; 1; 1,5 e 2% m/m de CuONPs. As amostras visivelmente resultaram em filmes com alto teor de NPs, devido à sua coloração mais escura a partir de 1% m/m de CuONPs (**Figura 22**). Percebeu-se que a desintegração das amostras poderia estar associada à presença de NPs na matriz, devido ao fato de que se observou o mesmo comportamento em todos os filmes, mesmo acondicionados em ambiente controlado e secos à temperatura ambiente. Além disso, o processo ocorreu com maior intensidade na amostra com

2% m/m de NPs (4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d) já no dia seguinte ao término da secagem, demonstrando alta instabilidade do filme. As outras amostras apresentaram desintegração nos 7 dias subsequentes à secagem, iniciando-se com as amostras com maior teor de CuONPs até o filme contendo 0,5% m/m dessas NPs, indicando que esse fenômeno tem uma correlação direta com a quantidade de CuONPs adicionada ao LBN. Após a preparação, as amostras foram caracterizadas.

**Figura 22** - Registro fotográfico dos filmes (a) 4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d e (b) 4LBN-PRÓP-1.0CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d

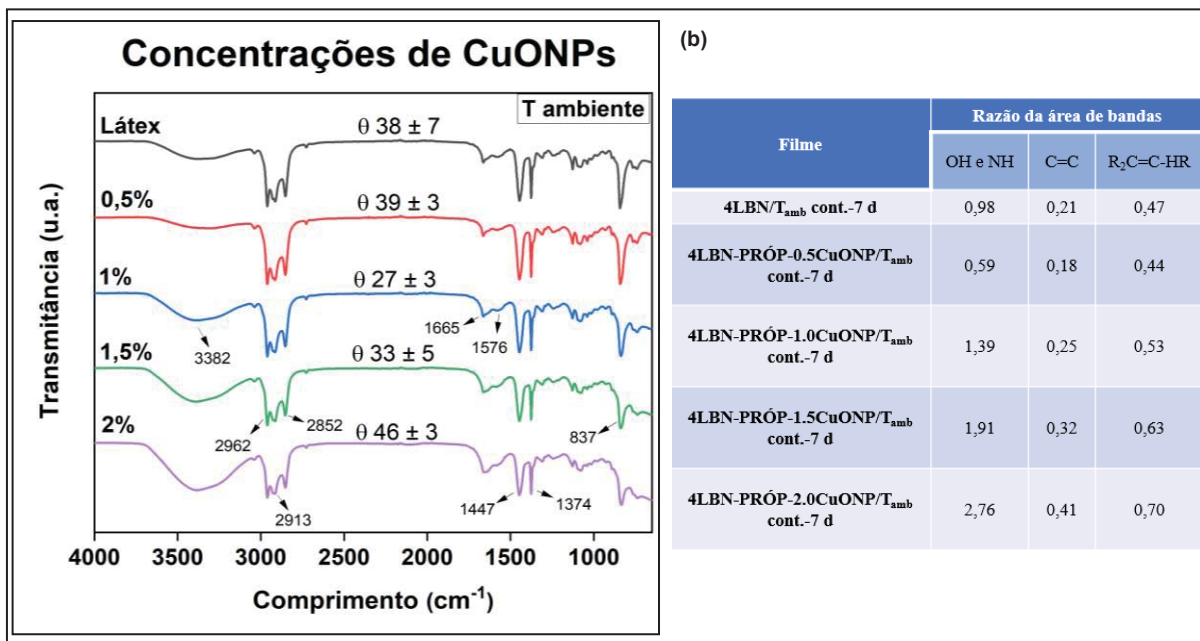


Fonte: o autor.

#### 4.5.2 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR

O quarto lote de amostras foi analisado por FTIR-ATR somente uma vez, com o intuito de avaliar possíveis diferenças estruturais em função das quantidades utilizadas de CuONPs. A **Figura 23a** representa os espectros obtidos para esse lote, sendo que a identificação das bandas se deu da mesma forma que as anteriores (**Tabela 7**), enquanto a **Figura 23b** apresenta os principais resultados obtidos para a razão da área de bandas. As demais razões de área de bandas encontram-se no **Apêndice A**.

**Figura 23** - Espectros de FTIR-ATR das amostras do (a) quarto lote e (b) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN



Fonte: o autor.

Analisando os espectros obtidos e a razão da área de bandas, percebeu-se que quanto maior é a quantidade de CuONPs, maior se torna a razão da área de bandas dos grupos O-H e N-H. Além disso, todas as bandas analisadas sofreram um aumento em termos de razão, demonstrada na figura acima pela razão da área de bandas referente ao grupo C=C, dando indícios de uma possível oxidação e evidenciando uma reação entre as CuONPs e o LBN, que acelera a desintegração da matriz polimérica.

#### 4.5.3 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN

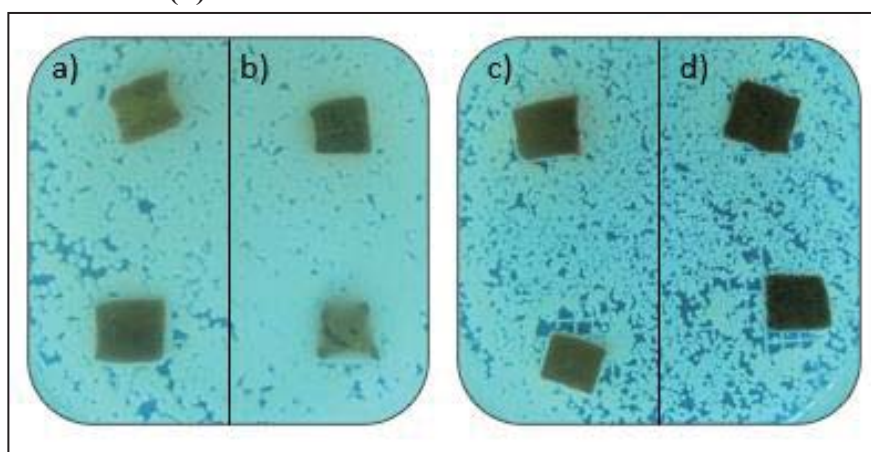
Para as amostras do quarto lote, a análise de ângulo de contato foi realizada somente uma vez, ou seja, no dia 0. Os resultados obtidos encontram-se na **Figura 23**. Aqui foi observado um aumento de ângulo de contato à medida em que se aumentou a quantidade de cobre adicionado aos filmes, à exceção da amostra 4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, onde o ângulo de contato foi superior. Essas constatações reforçam mais uma vez a ideia de

que as CuONPs aumentam o caráter hidrofóbico da amostra quando estas são incorporadas às mesmas. O tempo de prateleira para esse lote de filmes não foi estudado.

#### 4.5.4 Ensaios antibacterianos

O ensaio antibacteriano foi realizado para as amostras do quarto lote com diferentes teores de CuONPs, tanto em meio sólido (por disco-difusão), quanto em meio líquido (com adição de resazurina). Os resultados obtidos para o ensaio em meio sólido encontram-se na **Figura 24**.

**Figura 24** - Teste de disco-difusão para as amostras **(a)** 4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(b)** 4LBN-PRÓP-1.0CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, **(c)** 4LBN-PRÓP-1.5CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d e **(d)** 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d



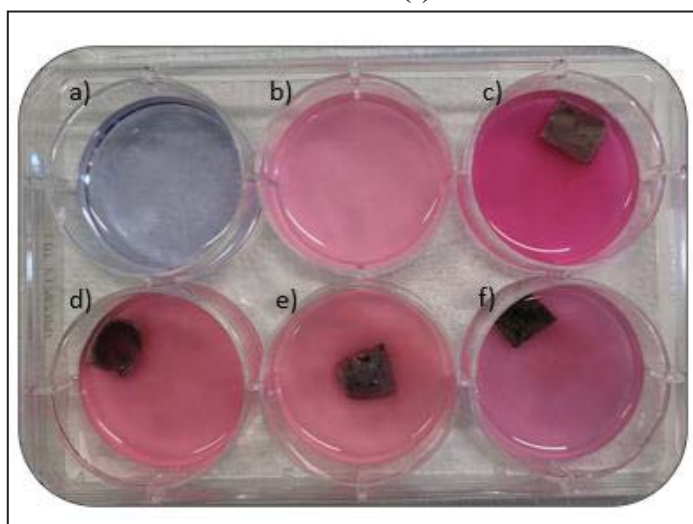
Fonte: o autor.

Como pode ser observado, as amostras com menor teor de CuONPs não apresentaram o efeito antibacteriano contra *Escherichia coli*. Os filmes 4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d e 4LBN-PRÓP-1.0CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d (**Figuras 24a-b**), além de não inibirem as bactérias com formação de halo, permitiram o crescimento das mesmas por baixo das amostras. Os filmes 4LBN-PRÓP-1.5CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d e 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d (**Figuras 24c-d**) apresentaram melhores resultados em comparação aos anteriores, sendo que as bactérias não cresceram por baixo das amostras. Porém, ainda não foi possível a

visualização do halo de inibição. De qualquer maneira, esses ensaios mostraram que com o aumento do teor de CuONPs foi possível melhorar a propriedade antibacteriana da amostra. Desta forma, foram realizados alguns testes para validar essa hipótese.

O ensaio em meio líquido, com adição da resazurina, foi realizado com as mesmas amostras para a confirmação do resultado em meio sólido. Na **Figura 25** encontram-se os resultados obtidos para essa análise.

**Figura 25** - Teste em meio líquido para as amostras **(a)** controle negativo, **(b)** controle positivo, **(c)** 4LBN-PRÓP-0.5CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, **(d)** 4LBN-PRÓP-1.0CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d, **(e)** 4LBN-PRÓP-1.5CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d e **(f)** 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d



Fonte: o autor.

O resultado com adição de resazurina comprovou que o filme não teve efeito bactericida, pois em meio líquido percebeu-se a coloração rosa, comprovando a existência de bactérias no meio. Apesar da melhora na propriedade antibacteriana dos filmes com o aumento de teor de CuONPs, os mesmos demonstraram alta instabilidade e, por esse motivo, foram realizados outros testes.



## 4.6 TESTES DE EVAPORAÇÃO, ADIÇÃO DE RETICULANTE E PRÉ-VULCANIZAÇÃO

### 4.6.1 Preparação dos filmes

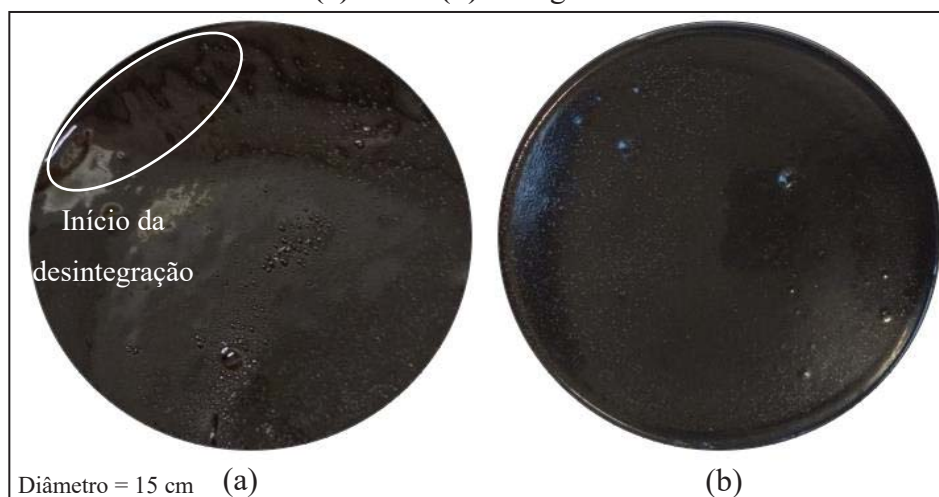
De acordo com Alami, Allagui e Alawadhi (2014), o cobre forma complexos de coordenação quando em solução amoniacal. Uma vez que o LBN é estabilizado com hidróxido de amônio, acredita-se que essa reação de complexação possa acontecer quando as CuONPs são adicionadas ao LBN. Isso acaba por atrapalhar a evaporação da amônia no momento da secagem, o que certamente contribui para a formação de filmes altamente instáveis.

Por esse motivo, foram realizados novos testes para promover a máxima evaporação possível de amônia, antes da adição das NPs. Os resultados evidenciaram que os filmes que ficaram sob agitação magnética a 40 °C por 30 min, antes da adição das NPs, foram os que apresentaram a melhor aparência dentro dos 21 dias observados. Na sequência, vieram os filmes obtidos com agitação magnética na temperatura de 40 °C por 10 min, 40 °C por 20 min,  $T_{amb}$  por 1 h e  $T_{amb}$  por 30 min, sendo que neste último não foram observadas diferenças significativas em termos de desintegração com relação ao filme 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d. Não foram realizados testes com um maior tempo de evaporação ou temperaturas maiores, pois percebeu-se que o LBN começou a se solidificar, justamente pela falta do hidróxido de amônio.

Como as amostras não apresentaram estabilidade suficiente, mesmo após essas tentativas de ajuste, optou-se por adicionar um agente reticulante (glutaraldeído) ao filme com 2% m/m de CuONPs. A adição do glutaraldeído aumentou a estabilidade do filme, tornando-o a melhor opção entre os testes anteriores (**Figura 26**). Segundo Promsung *et al.* (2021), o glutaraldeído reage com a amônia presente no LBN, o que possivelmente resultou em menor quantidade de complexos de cobre com a amônia, garantindo maior estabilidade ao filme. Por

esse motivo, foram feitos novos testes com 5 e 10% m/m de CuONPs e adição do agente reticulante. Porém, percebeu-se que quanto maior o teor de NPs, menor a estabilidade e maior a velocidade de desintegração do filme, mesmo com o reticulante adicionado. Além disso, após 60 dias, os filmes com adição de reticulante perderam drasticamente suas propriedades de estabilidade, apresentando maiores sinais de desintegração em comparação ao filme com 2% m/m de CuONPs, sem reticulante.

**Figura 26** - Registro fotográfico no dia 0 da amostra 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/ $T_{amb}$  cont.-7 d (a) sem e (b) com glutaraldeído

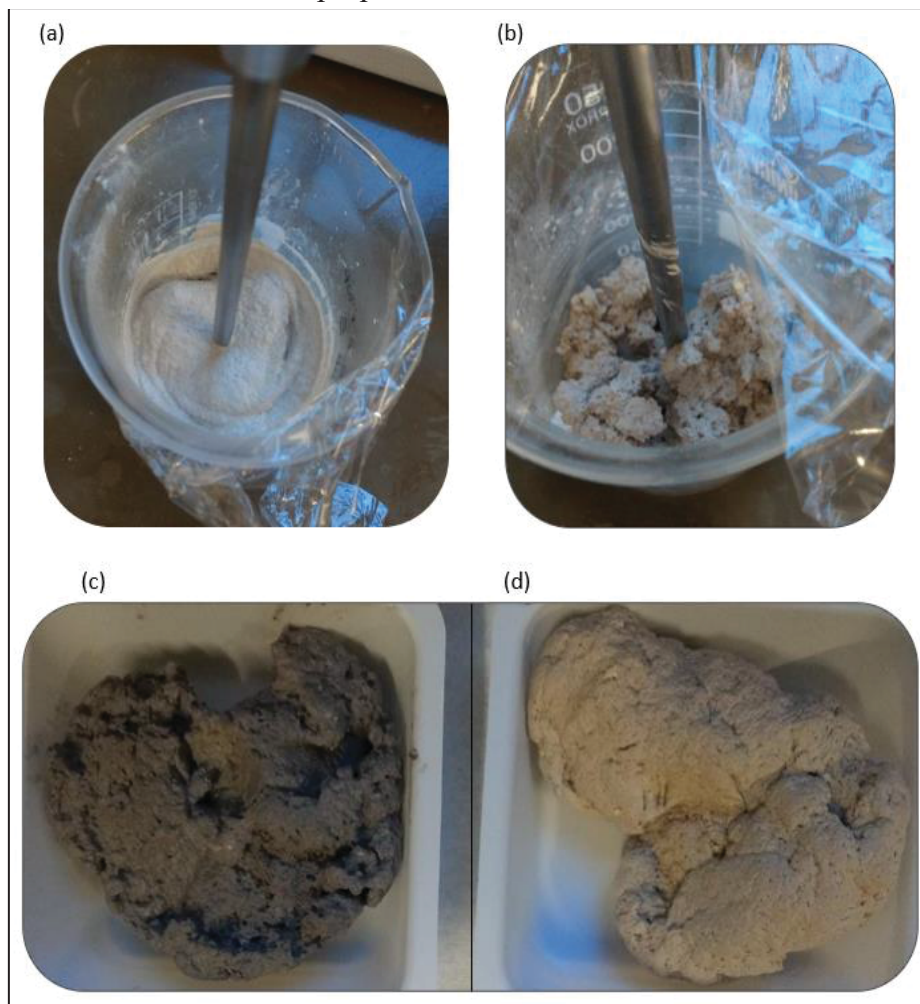


Fonte: o autor.

Testes de pré-vulcanização foram igualmente realizados, sendo que no primeiro ensaio a amostra já começou a coagular após a adição de ZnO e ZDEC, quando ainda estava sob agitação, tornando-se sólida rapidamente (**Figura 27**). No segundo teste, o mesmo aconteceu após 24 min da adição do enxofre, e no terceiro teste a amostra coagulou depois de apenas 6 min da adição de CuONPs. A explicação para o ocorrido pode estar relacionada com a possível formação de sulfeto de cobre ( $Cu_2S$ ), que ocorre quando o cobre é adicionado em grandes quantidades junto com o enxofre e o acelerador, dificultando a vulcanização do LBN (PAZHOOH; BAGHERI; ADLOO, 2017). Sendo assim, não foi possível continuar para a etapa de vulcanização dos filmes e, por esse motivo, esse lote foi descartado. Entretanto, os

filmes preparados com evaporação e adição de reticulante foram posteriormente caracterizados.

**Figura 27** - Registro fotográfico do processo de pré-vulcanização dos filmes de LBN, própolis vermelha e CuONPs

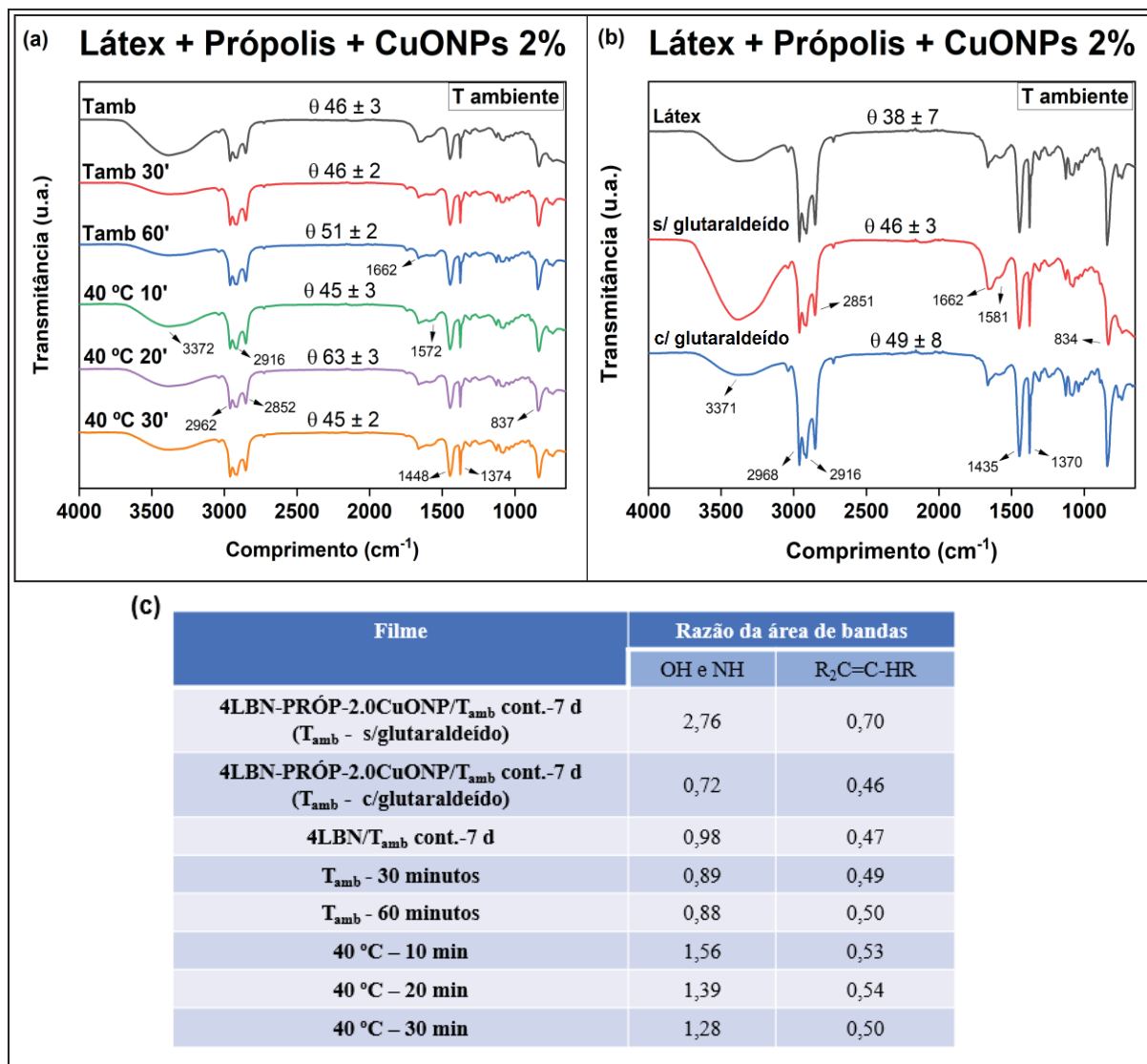


**Fonte:** o autor. **Nota:** (a) início da coagulação da amostra; (b) amostra tornando-se sólida ainda sob agitação; (c) amostra final com 2% m/m de CuONPs; (d) amostra final com 0,25% m/m de CuONPs.

#### 4.6.2 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR

Os lotes de filmes de LBN obtidos por meio de testes de evaporação e com reticulante (glutaraldeído) foram avaliados por FTIR-ATR uma única vez, com o objetivo de avaliar a estrutura química dos filmes de acordo com os novos métodos de obtenção (**Figura 28**). Os testes de pré-vulcanização não resultaram em filmes com consistência adequada para a caracterização das amostras e, por esse motivo, as mesmas não foram analisadas.

**Figura 28** - Espectros de FTIR-ATR das amostras obtidas por meio de (a) testes de evaporação e (b) com reticulante; (c) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN



Fonte: o autor.

Para fins de comparação foram utilizadas amostras do quarto lote, como o filme 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d, sendo que na **Figura 28a** o mesmo está representado como “T<sub>amb</sub>” e na **Figura 28b** como “s/ glutaraldeído”. Também foi analisado esse filme com adição do agente reticulante, sendo que na **Figura 28b** este está representado como “c/ glutaraldeído”. O filme 4LBN/T<sub>amb</sub> cont.-7 d foi igualmente utilizado e está intitulado somente como “látex” na **Figura 28b**. Os principais resultados de razão da área de bandas

estão na **Figura 28c**. Os demais são apresentados no **Apêndice A**, sendo que a identificação das bandas foi realizada da mesma forma que para os lotes anteriores (**Tabela 7**).

Por meio da análise dos espectros e da razão das áreas de bandas, observou-se uma diferença na banda dos grupos O-H e N-H em todas as amostras comparativamente ao filme 4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T<sub>amb</sub> cont.-7 d. Como pode ser constatado, essa banda reduziu de intensidade, principalmente no filme com glutaraldeído. Esse resultado pode estar relacionado ao fato de que o glutaraldeído reagiu com a amônia presente no látex (PROMSUNG *et al.*, 2021), impedindo a formação de complexos de cobre. Ainda, percebeu-se uma maior semelhança com o LBN nas bandas do grupo R<sub>2</sub>C=C-HR.

#### 4.6.3 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN

Para as amostras do lote de filmes obtidos por meio de testes de evaporação e com reticulante, a análise de ângulo de contato foi realizada no dia 0, sendo que os resultados estão na **Figura 28**. Os valores de ângulo de contato obtidos são muito próximos entre si, com exceção da amostra que permaneceu a 40 °C por 20 min, e sugerem que a forma de preparação do filme não altera, em grandes proporções, o ângulo de contato do filme. Não foi avaliado o tempo de prateleira para o lote de testes.

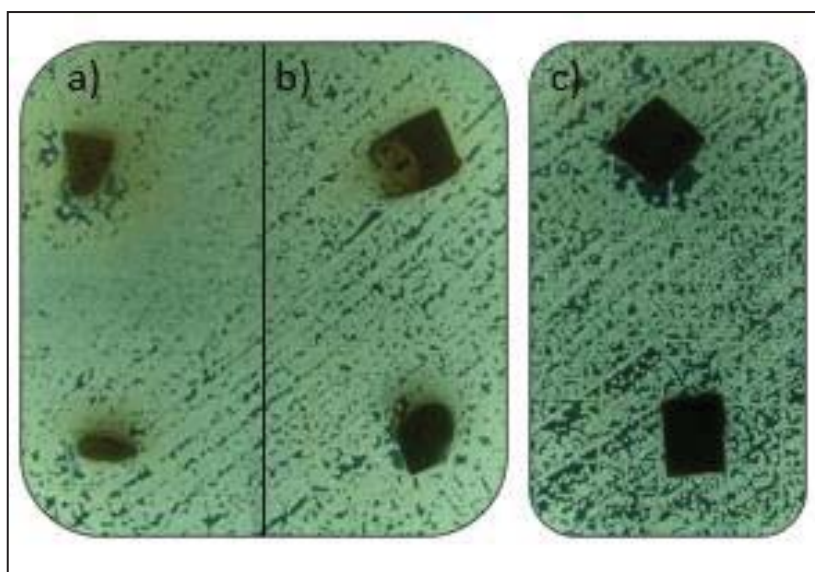
#### 4.6.4 Ensaios antibacterianos

Os ensaios antibacterianos para o lote de testes foram realizados somente com os filmes de LBN contendo glutaraldeído, ou seja, com as amostras contendo 2, 5 e 10% m/m de CuONPs. Os resultados do ensaio em meio sólido são apresentados na **Figura 29**.

Diferentemente do que era esperado, a amostra com 2% m/m de CuONPs contendo glutaraldeído (**Figura 29a**) não apresentou boas propriedades antibacterianas, visto que as bactérias cresceram por baixo da amostra. Acredita-se que o reticulante possa ter impedido as CuONPs de se desprenderem do filme e entrarem em contato com os micro-organismos.

Além disso, a amostra com 5% m/m de CuONPs também evidenciou crescimento de bactérias por baixo da amostra, demonstrando a inviabilidade desse método. A amostra que apresentou os melhores resultados foi a com um teor de 10% m/m de CuONPs, uma vez que impediu o crescimento bacteriano por baixo da mesma. Porém, ainda assim não foi visualizado o halo de inibição. Na **Figura 29c** (amostra de cima) observa-se uma falha no crescimento das bactérias; porém, isso ocorreu devido a um erro procedimental durante a análise, não configurando um halo para essa amostra, o que foi confirmado pela duplicata logo abaixo. O ensaio em meio líquido, com resazurina, foi realizado para as mesmas amostras e encontra-se na **Figura 30**.

**Figura 29** - Teste de disco-difusão para as amostras de LBN, própolis vermelha, glutaraldeído e (a) 2% m/m de CuONPs, (b) 5% m/m de CuONPs e (c) 10% m/m de CuONPs

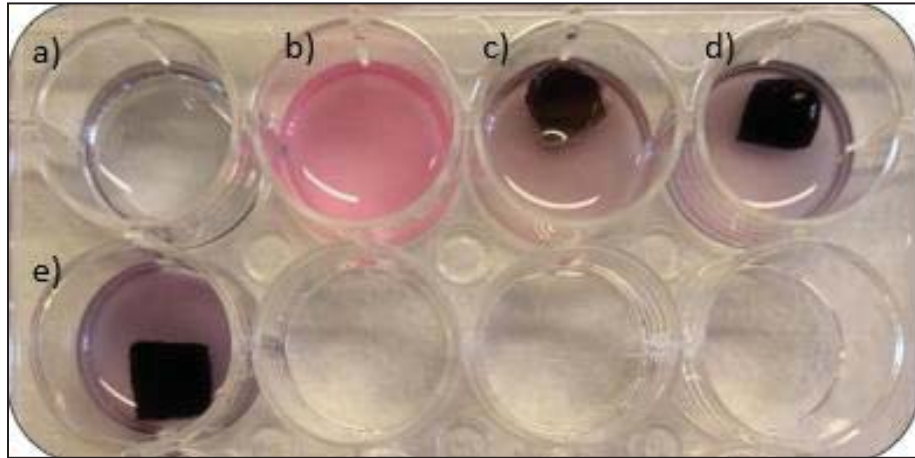


Fonte: o autor.

O ensaio realizado em meio líquido resultou em uma coloração roxa, após a adição da resazurina, o que dificultou a análise do resultado. Portanto, realizou-se o teste de crescimento de bactérias com o meio líquido de todas as amostras. O resultado desse teste para a amostra com 10% m/m de CuONPs encontra-se na **Figura 31**. Como os demais resultados foram semelhantes, optou-se por não os apresentar nessa seção.

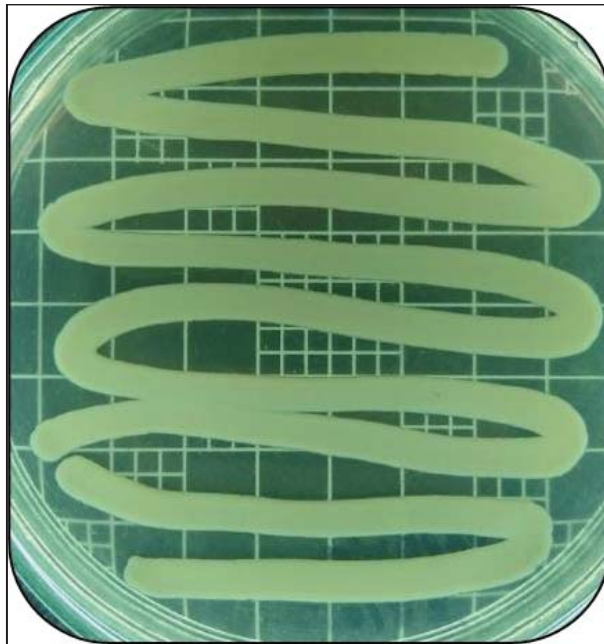


**Figura 30** - Teste em meio líquido para as amostras (a) controle negativo, (b) controle positivo, (c) 2% m/m de CuONPs, (d) 5% m/m de CuONPs e (e) 10% m/m de CuONPs



Fonte: o autor.

**Figura 31** - Teste de crescimento de bactérias presentes em meio líquido da amostra com 10% m/m de CuONPs



Fonte: o autor.

Como pode ser evidenciado, as bactérias cresceram em ágar, ou seja, a coloração roxa encontrada no teste de meio líquido se deve a outro fator que não a morte das bactérias. Nesse sentido, acredita-se que possa estar relacionada com a liberação de íons  $\text{Cu(II)}$  no meio líquido. Sendo assim, nenhuma amostra deste lote apresentou propriedade bactericida.

## 4.7 QUINTO LOTE DE FILMES DE LBN

### 4.7.1 Preparação dos filmes

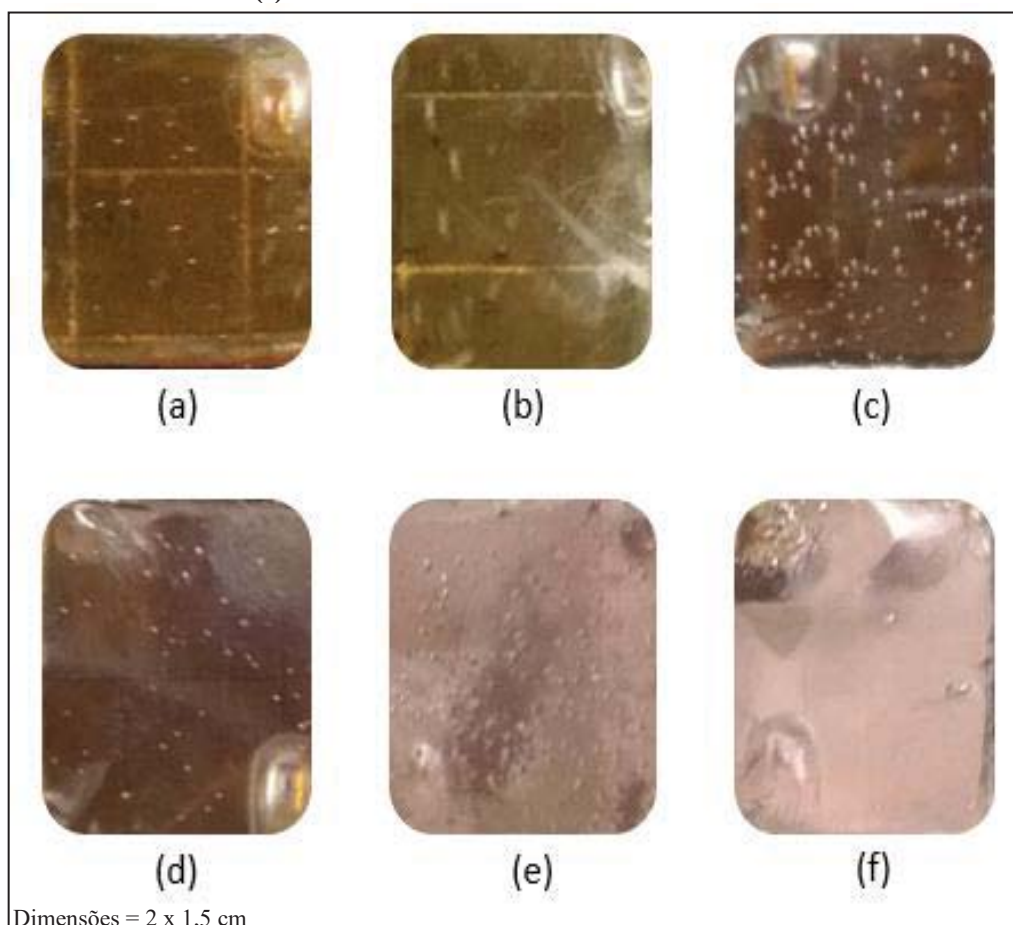
Pela dificuldade em estabilizar os filmes com adição de CuONPs diretamente na matriz de LBN, decidiu-se realizar uma deposição de cobre nos filmes de LBN contendo própolis vermelha. Durante os 21 dias analisados, não houve sinal de desintegração dos filmes. Assim, pode-se afirmar que o cobre, tanto em tamanho comercial quanto nanoparticulado, reage com a matriz polimérica de LBN, quando este é incorporado diretamente ao meio, não sendo possível obter filmes estáveis com essa metodologia. Portanto, para evitar tal situação, optou-se por incorporar o cobre após a formação dos filmes, utilizando a técnica de *magnetron sputtering*.

### 4.7.2 Deposição de cobre

A deposição de cobre foi realizada pela técnica de *magnetron sputtering*, utilizando os tempos de 5, 10, 15, 20, 30 e 40 s. Posteriormente, uma parte das amostras foi acondicionada em bancada de laboratório e outra colocada no dessecador. Visualmente, percebeu-se uma grande diferença no aspecto dos filmes em função do tempo de deposição. As amostras, que inicialmente eram transparentes e avermelhadas ficaram com aspecto metalizado, o que é característico do cobre (**Figura 32**). Os filmes acondicionados nas duas condições mencionadas anteriormente não apresentaram diferenças visuais entre eles e todos demonstraram alta estabilidade em termos de desintegração durante o tempo observado.



**Figura 32** - Registro fotográfico dos filmes (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h; (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h; (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h; (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h; (e) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h e (f) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h



Fonte: o autor.

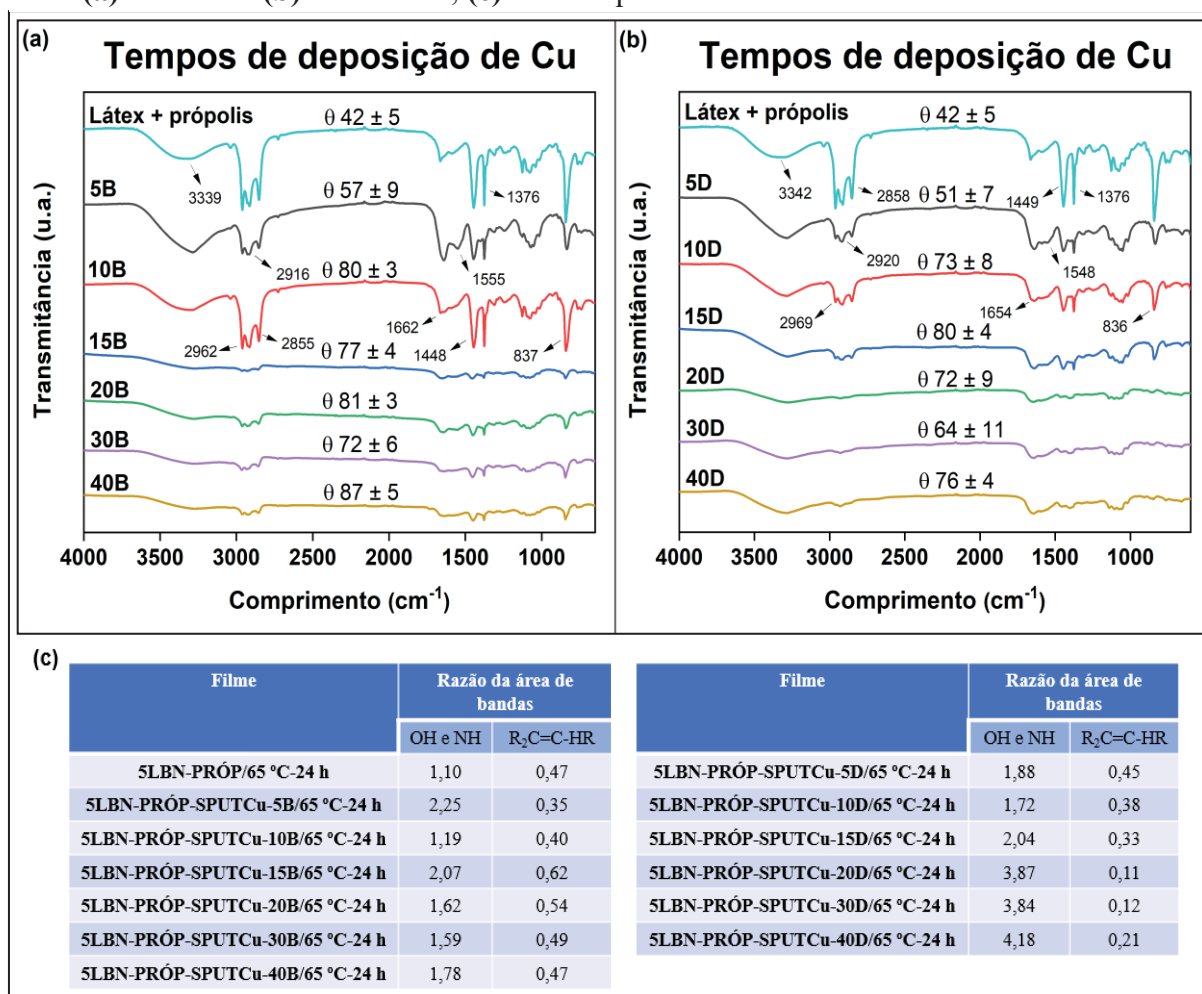
#### 4.7.3 Caracterização dos filmes de LBN por FTIR-ATR

Os filmes do quinto lote foram analisados por 21 dias, após a deposição de cobre por *magnetron sputtering*, e os espectros obtidos para o dia 0 encontram-se na **Figura 33**, onde as amostras aparecem nomeadas com o tempo de deposição e com os acrônimos B (de bancada) ou D (de dessecador) logo em seguida. A atribuição de bandas ocorreu de maneira análoga aos lotes anteriores (**Tabela 7**) para as amostras 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h e 5LBN-PRÓP/65 °C-24 h. Para as outras amostras, não foi possível caracterizar todas as bandas com clareza, devido provavelmente à formação de um

filme de cobre na superfície da amostra, visto que esse fenômeno ocorreu a partir de 15 s de deposição.

Na **Figura 33c**, encontram-se os principais valores de razão das áreas de bandas para o dia 0 dos espectros de FTIR-ATR, enquanto os demais resultados estão no **Apêndice A**. Para as amostras acondicionadas em dessecador percebeu-se um aumento da intensidade da banda relacionada aos grupos O-H e N-H, à medida que o tempo de deposição de cobre aumenta, enquanto a banda relacionada ao grupo  $R_2C=C-HR$  diminui na maioria das amostras.

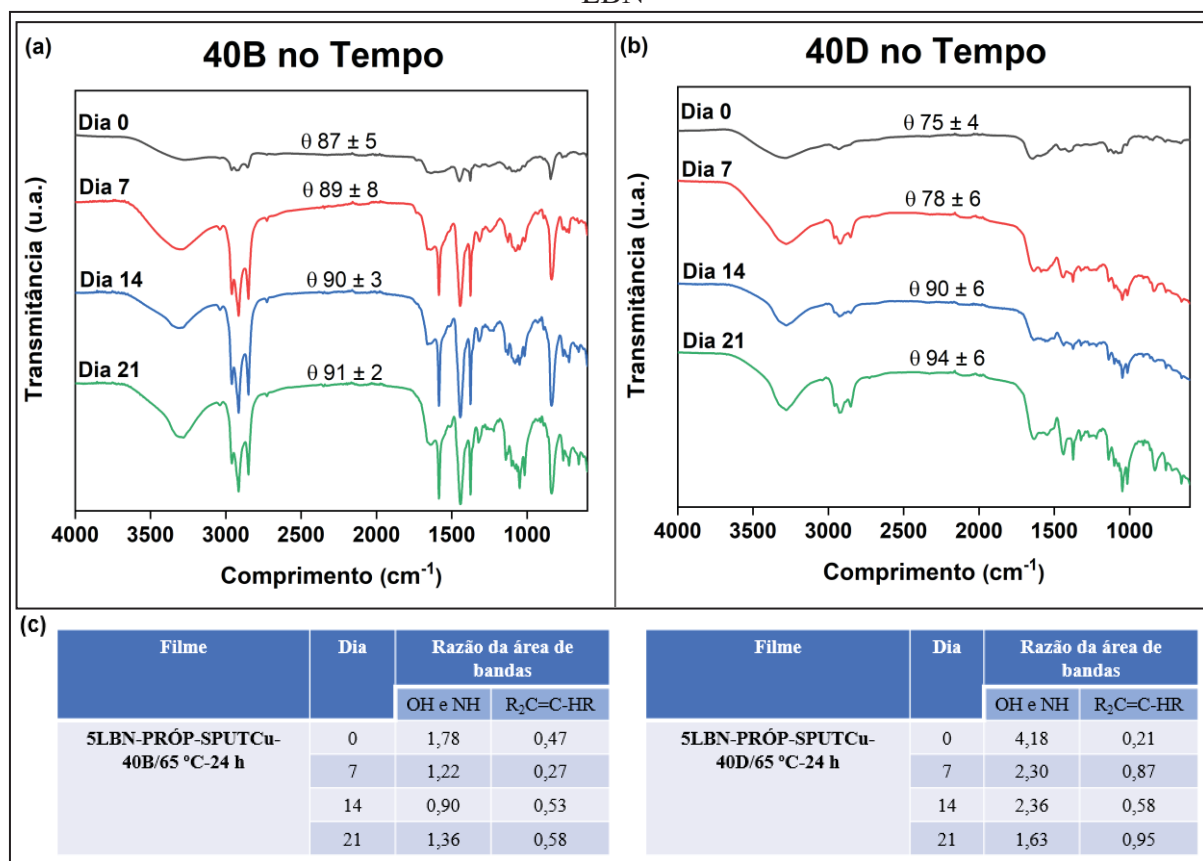
**Figura 33** - Espectros de FTIR-ATR das amostras do quinto lote acondicionadas em (a) bancada e (b) dessecador; (c) análise quantitativa das áreas das bandas do LBN



Fonte: o autor. Nota: B = amostra acondicionada em bancada e D = amostra acondicionada em dessecador.

Os espectros sofreram alterações com o passar do tempo, o que sugere que o cobre depositado continua reagindo com a matriz polimérica. A **Figura 34** apresenta os espectros de FTIR-ATR das amostras 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h e 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h, que foram as que mais sofreram modificações. A razão de áreas das principais bandas está representada na **Figura 34c**, enquanto as demais estão no **Apêndice A**.

**Figura 34** - Espectros de FTIR-ATR das amostras (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h e (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h; (c) análise quantitativa das áreas de bandas do LBN



Fonte: o autor. Nota: B = amostra acondicionada em bancada e D = amostra acondicionada em dessecador.

Percebeu-se que as amostras foram se modificando com o passar do tempo e as bandas características do LBN ficaram mais evidentes. Tais alterações estão provavelmente associadas a possíveis reações da superfície do filme com a atmosfera. As amostras acondicionadas em dessecador, por outro lado, mantiveram suas propriedades por mais

tempo, devido ao fato de que permaneceram em um ambiente com menor disposição para essas reações.

#### 4.7.4 Avaliação da molhabilidade dos filmes de LBN

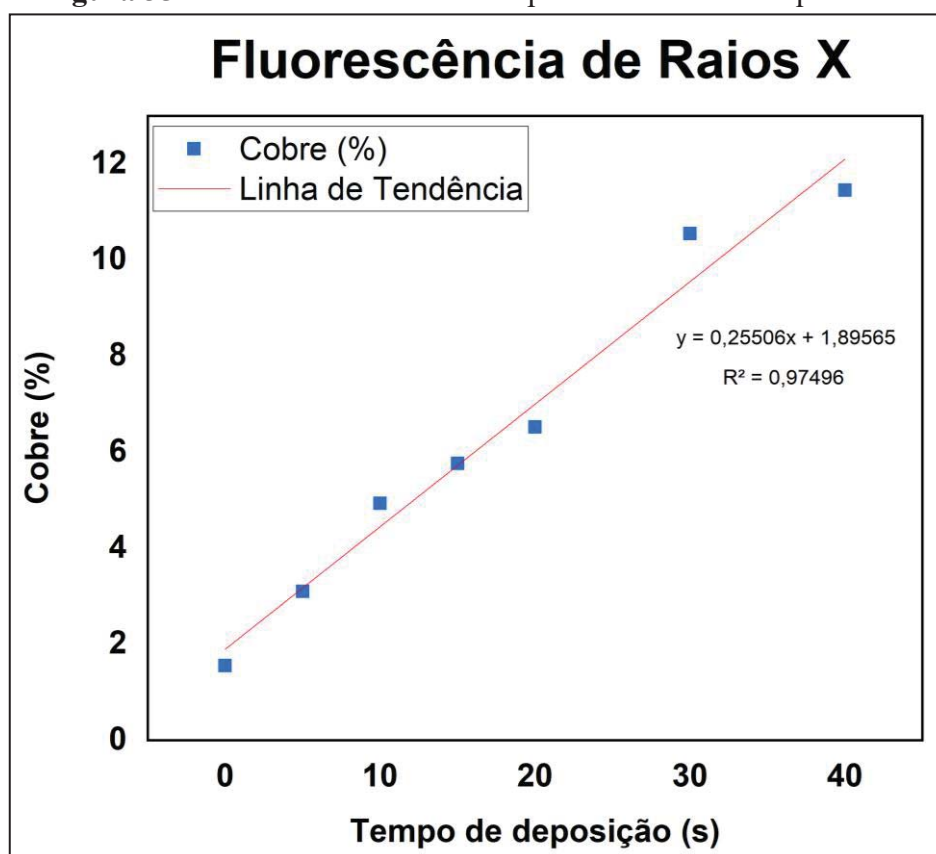
As amostras do quinto lote foram analisadas nos dias 0, 7, 14 e 21. Os resultados para essa análise são apresentados nas **Figuras 33 e 34**, enquanto os demais se encontram no **Apêndice B**. Percebeu-se uma alta hidrofobicidade nas amostras, que aumenta em função do tempo de deposição de cobre nos filmes. De acordo com Silva *et al.*, (2023), isso acaba acontecendo, uma vez que a deposição de cobre no material tende a reduzir a energia livre da superfície e aumentar a hidrofobicidade do mesmo. Além disso, esse aumento no ângulo de contato é igualmente corroborado pelos estudos de Woskowicz *et al.* (2020). O ângulo de contato aumenta com o passar do tempo, da mesma forma que ocorre com as amostras anteriores. Porém, o tempo de prateleira para as amostras desse lote foi muito menor que para os lotes anteriores. Em algumas amostras, no dia 0, o valor do ângulo atinge os 80°, indicando que estes filmes não são adequados para o propósito deste estudo, sendo necessário outro tratamento superficial para o aumento da hidrofiliabilidade.

#### 4.7.5 Fluorescência de raios X

A análise de fluorescência de raios X foi realizada apenas nas amostras do quinto lote que permaneceram acondicionadas em dessecador. A **Figura 35** apresenta os resultados dessa análise para as amostras em questão.

Como pode ser observado na figura, os resultados mostram claramente que existe uma dependência entre a quantidade de cobre depositada e o tempo. Essa tendência foi igualmente observada por Badaraev *et al.* (2017).

**Figura 35** - Fluorescência de raios X para as amostras do quinto lote



Fonte: o autor.

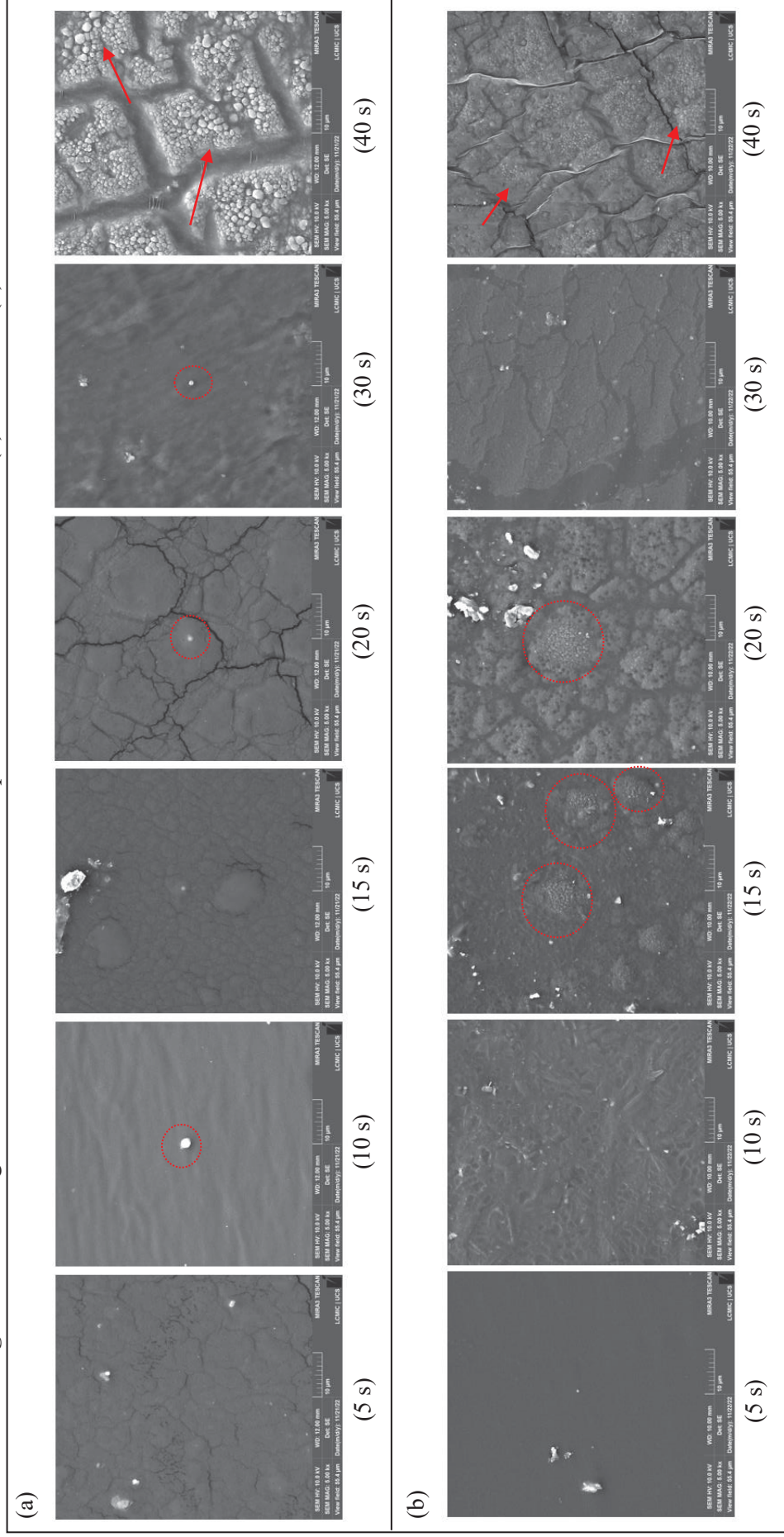
#### 4.7.6 Avaliação da morfologia dos filmes de LBN

As análises de MEV-FEG e EDS foram realizadas para todas as amostras do quinto lote. As imagens de MEV-FEG obtidas com uma magnificação de  $5000 \times$  encontram-se na **Figura 36**.

Em geral, observa-se um grande acúmulo de partículas com formato globular circular (indicados por setas vermelhas), semelhante ao estudo de BAI *et al.* (2022), na amostra 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h (**Figura 36a6**), sugerindo a formação de um filme de cobre. De acordo com Silva *et al.* (2023), a deposição prolongada de cobre causa um aumento na rugosidade da superfície, devido à formação de nanopartículas, o que pode ser visualizado nas amostras onde o tempo de deposição foi de 40 s.



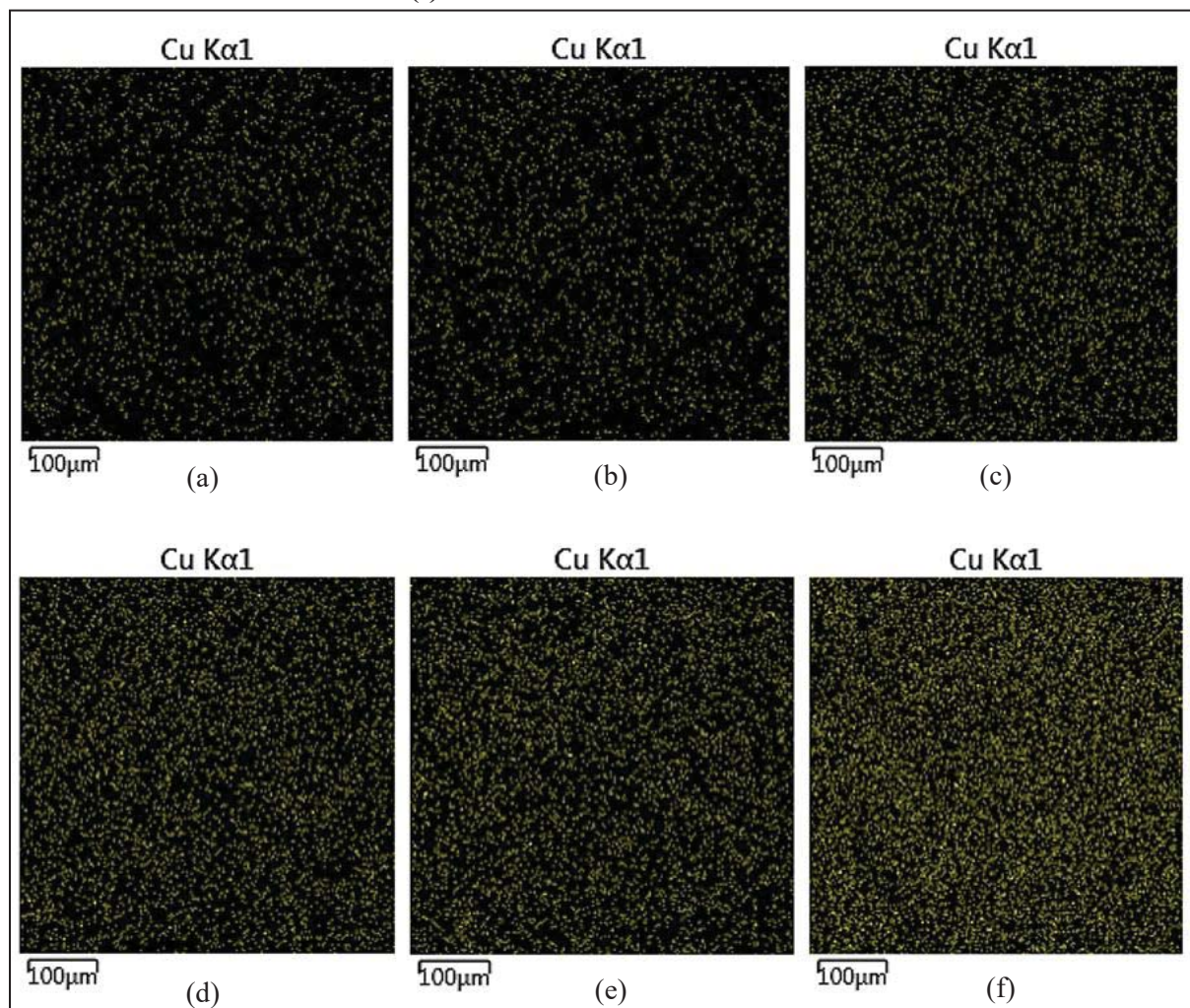
**Figura 36** - Micrografias de MEV-FEG dos filmes do quinto lote acondicionados em **(a)** bancada e **(b)** dessecador



**Fonte:** o autor. **Nota:** tempo de deposição de cobre por *magnetron sputtering*.

Nos demais filmes da **Figura 36a**, não foi observada uma tendência no aumento de partículas em função do tempo de deposição. Percebeu-se ainda um pequeno aglomerado de partículas na **Figura 36b3** e um aglomerado um pouco maior na **Figura 36b4**, que poderia ser o elemento cobre. Na amostra 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h (**Figura 36b6**), o aglomerado de partículas envolveu todo o filme, da mesma forma que na amostra 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h; porém, com menor definição. Um mapeamento do elemento cobre nas amostras foi realizada e as imagens obtidas encontram-se representadas nas **Figuras 37 e 38**.

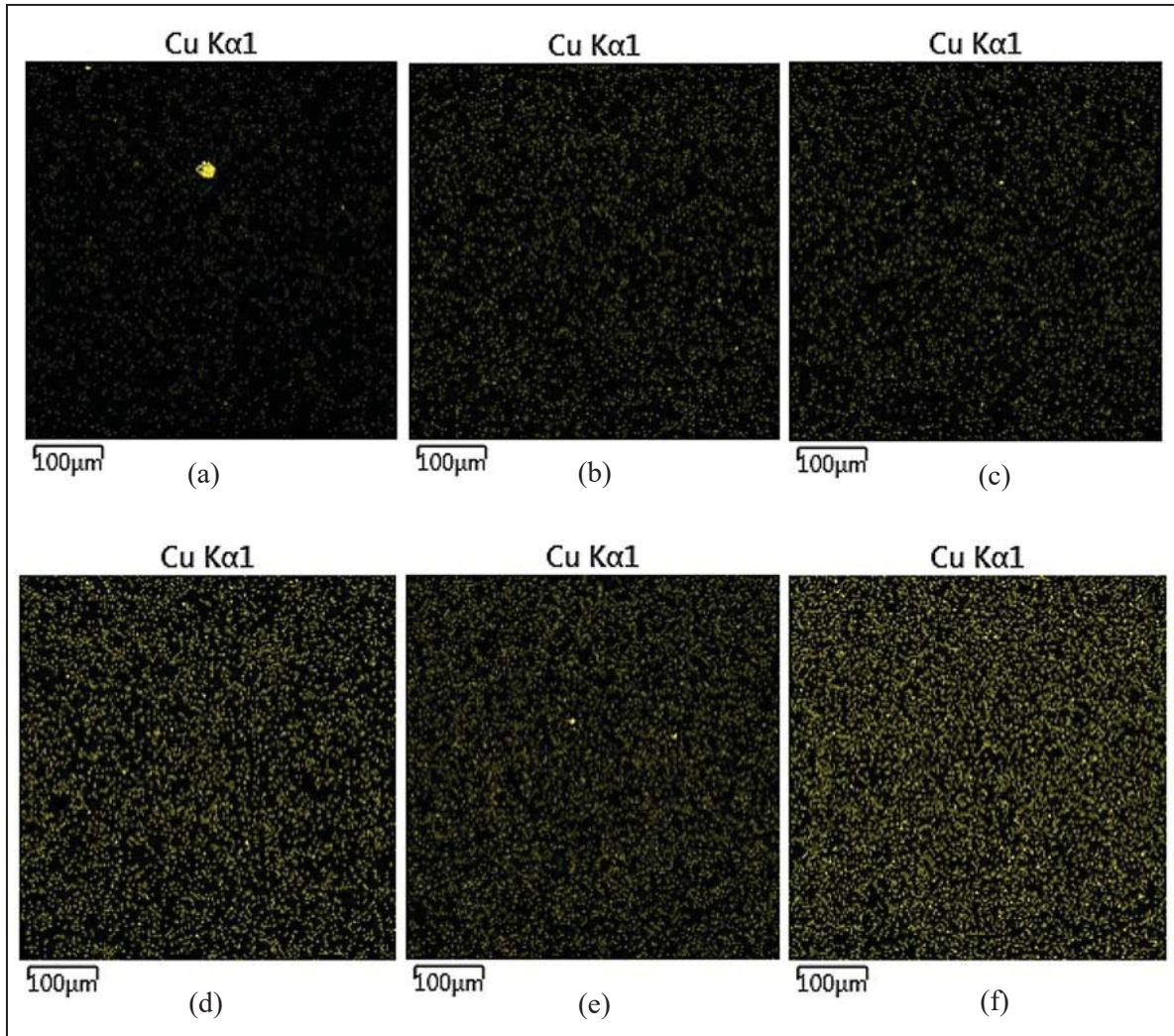
**Figura 37** - Mapa de EDS para o elemento cobre dos filmes (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h, (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h, (e) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h e (f) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h



Fonte: o autor.



**Figura 38** - Mapa de EDS para o elemento Cu dos filmes (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15D/65 °C-24 h, (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20D/65 °C-24 h, (e) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30D/65 °C-24 h e (f) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h

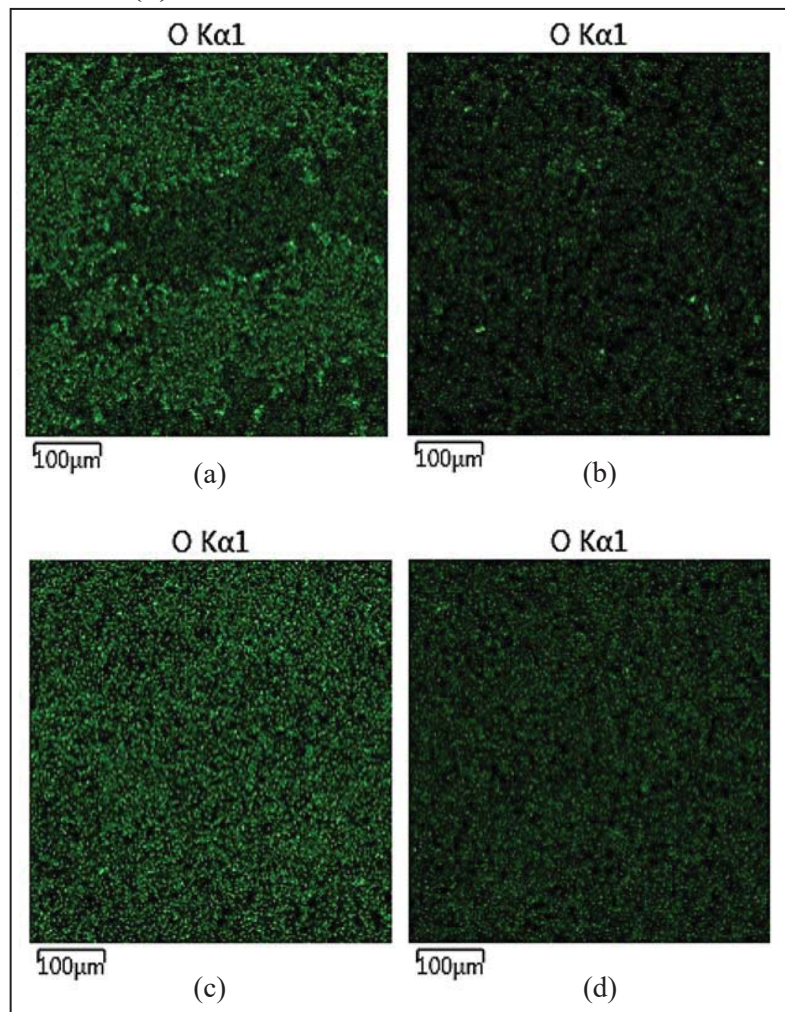


Fonte: o autor.

Esses resultados são corroborados por Silva *et al.* (2023) e pela análise de fluorescência de raios X discutida anteriormente, e revelam um aumento na quantidade de cobre à medida que o tempo de deposição é aumentado, tanto nas amostras acondicionadas em bancada de laboratório, quanto nas acondicionadas em dessecador. Além disso, foi realizado o mapeamento para o elemento oxigênio para verificar uma possível diferença entre os lotes acondicionados em bancada e em dessecador. As imagens obtidas encontram-se na **Figura 39**.



**Figura 39** - Mapa de EDS para elemento O dos filmes **(a)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, **(b)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h, **(c)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h e **(d)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h



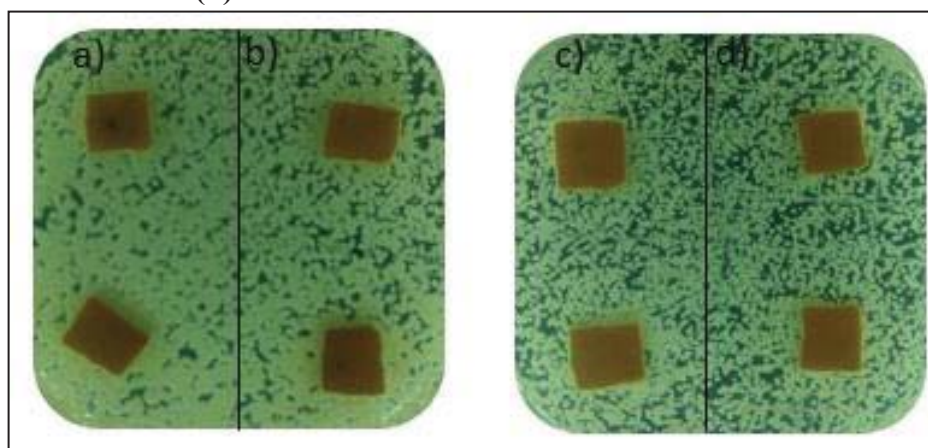
Fonte: o autor.

Observou-se uma diferença na quantidade de oxigênio na superfície das amostras. Isso se deve ao fato de que, segundo Silva *et al.* (2023), o revestimento de cobre reage facilmente com o gás oxigênio da atmosfera, o que promove a formação de óxidos de cobre (CuO e Cu<sub>2</sub>O). Esse comportamento também foi observado no trabalho de Badaraev *et al.* (2017). Portanto, as amostras acondicionadas em bancada de laboratório, possivelmente reagiram com o meio e resultaram em óxidos (**Figura 39**), devido à presença de uma maior quantidade de oxigênio, em comparação às amostras que permaneceram em dessecador.

#### 4.7.7 Ensaios antibacterianos

Para as amostras do quinto lote foi realizado o ensaio de disco-difusão para todos os filmes, sendo que os resultados para as amostras 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h e 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h encontram-se na **Figura 40**. Os demais resultados não foram apresentados nessa seção, pois são muito semelhantes entre si.

**Figura 40** - Teste de disco-difusão para as amostras (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h e (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h



Fonte: o autor.

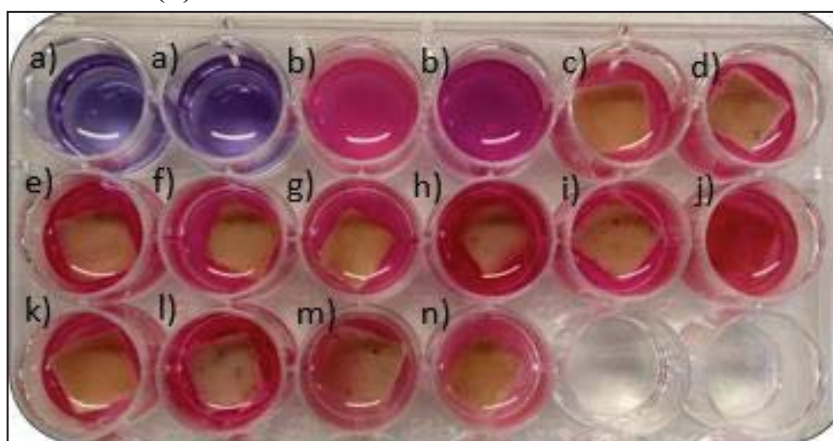
Nas amostras 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h e 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h, observou-se crescimento bacteriano por baixo da amostra, porém somente na parte das bordas. Sendo assim, esses filmes foram descartados. Para as outras amostras, observou-se um comportamento semelhante entre elas, em que não ocorreu crescimento bacteriano por baixo do filme. De acordo com Silva *et al.* (2023) e Woskowicz *et al.* (2020), o caráter hidrofóbico da amostra diminui a aderência dos micro-organismos na superfície do material, evitando a fixação e proliferação das bactérias. Portanto, o maior ângulo de contato nas amostras obtidas com um tempo de deposição de 40 s pode ter dificultado a adesão das

bactérias na amostra e, por esse motivo, não foi observado crescimento bacteriano por baixo das mesmas.

Nas amostras acondicionadas em bancada de laboratório, foi visualizado um maior crescimento das bactérias junto às laterais do filme. Sendo assim, as amostras que permaneceram acondicionadas em dessecador apresentaram melhores resultados, pois essa situação não foi visualizada nas mesmas. Isso ocorre, pois como foi verificado na análise de EDS, os filmes que permaneceram em dessecador não reagiram com o meio e o cobre foi preservado. Nos filmes acondicionados em bancada de laboratório, por outro lado, o cobre reage com o meio, transformando-se em óxidos e, segundo estudos de Badaraev *et al.* (2017) e Luo *et al.* (2022), o cobre apresenta melhores propriedades antibacterianas que os seus respectivos óxidos. Porém, ainda assim não foi observado halo de inibição, o que difere de alguns trabalhos encontrados na literatura. Kudzin *et al.* (2020) encontraram um halo de inibição de 2 mm em uma matriz polimérica de poliácido láctico e com tempo de deposição de cobre prolongado (10 e 30 min). Silva *et al.* (2023) evidenciaram eficiência bactericida contra *Escherichia coli* para amostras com deposição de cobre entre 5 e 20 s; entretanto, foi utilizado outro método de análise e também uma matriz polimérica diferente (poliácido láctico).

O ensaio em meio líquido, com adição de resazurina também foi realizado e os resultados podem ser observados na **Figura 41**. Os resultados indicaram que não houve ação bactericida nos filmes do quinto lote. Porém, como foi evidenciado a partir de 10 s de deposição de cobre, com acondicionamento em dessecador, as amostras inibiram o crescimento por baixo do filme, sendo consideradas como bacteriostáticas por contato, assim como foi encontrado nos estudos de Badaraev *et al.* (2017). Portanto, os filmes obtidos com deposição de cobre a partir desse tempo e acondicionados em dessecador foram escolhidos como a melhor condição dos testes antibacterianos.

**Figura 41** - Teste em meio líquido para as amostras **(a)** controle negativo, **(b)** controle positivo, **(c)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h, **(d)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h, **(e)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15D/65 °C-24 h, **(f)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20D/65 °C-24 h, **(g)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30D/65 °C-24 h, **(h)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h, **(i)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h, **(j)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h **(k)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h, **(l)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h, **(m)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h e **(n)** 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h



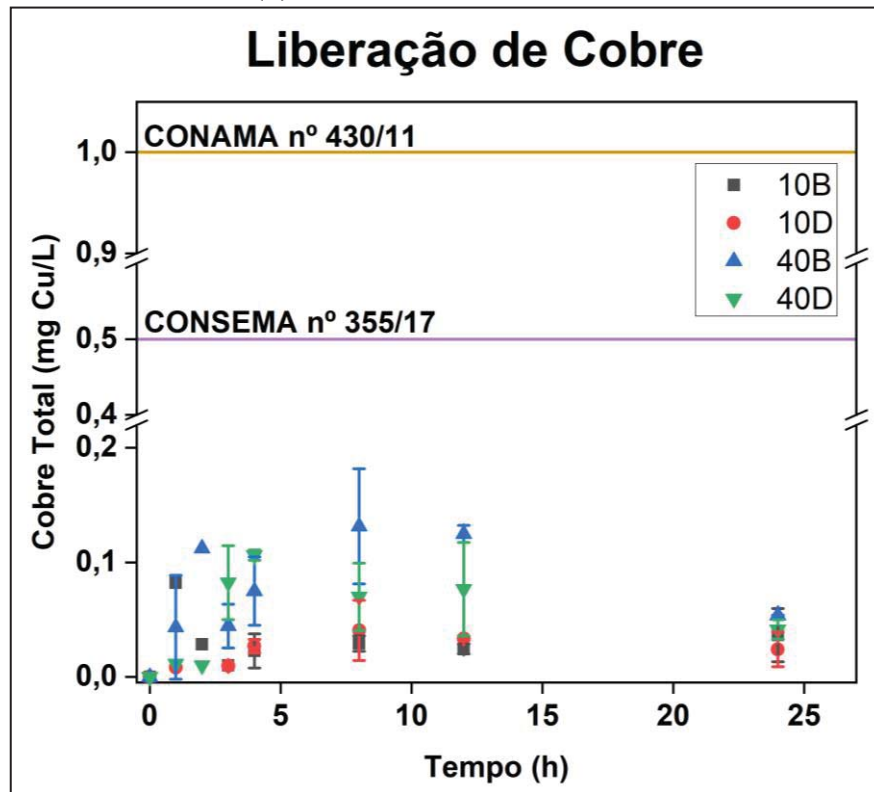
Fonte: o autor.

#### 4.7.8 Ensaio de liberação de cobre

O ensaio de liberação de cobre foi realizado com as amostras 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h, 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h e 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h. Esses filmes foram escolhidos por representar o mínimo e o máximo possível de liberação de cobre das amostras. Na **Figura 42** estão representados os resultados obtidos pela técnica de ICP-OES.

Não foi possível observar uma tendência em termos de liberação de cobre total em função do tempo, diferentemente do estudo realizado por Woskowicz *et al.* (2020), onde foi demonstrada uma liberação linear de íons Cu(II). Nesse estudo, o tempo de deposição foi de 30 min, o que possivelmente influenciou quantidade de cobre depositada na superfície das amostras.

**Figura 42** - Ensaio de liberação de cobre para as amostras (a) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/ 65 °C-24 h, (b) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h, (c) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/ 65 °C-24 h e (d) 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h



Fonte: o autor. Nota: na figura foi inserido o limite de padrão de lançamento de cobre segundo a CONAMA nº 430/11 e CONSEMA nº 355/17, respectivamente.

De acordo com Luo *et al.* (2022), a eficiência antibacteriana do filme está associada diretamente à liberação de forma eficiente dos íons Cu(II) da superfície da amostra. No nosso estudo, o tempo de deposição foi menor, o que proporcionou a deposição de alguns pontos de cobre e, portanto, as amostras provavelmente não têm a mesma quantidade de metal depositada em toda sua extensão.

As amostras com 10 s de deposição resultaram em valores liberados de Cu(II) para o meio menores que as com 40 s, devido provavelmente ao aumento da concentração de cobre na superfície do material com o tempo de deposição do mesmo. De acordo com Woskowicz *et al.* (2020), a lixiviação de íons está diretamente relacionada à propriedade antibacteriana do filme, sendo mais eficiente quando em grande quantidade e com liberação constante de íons. Isso pode explicar a maior eficiência nos testes antibacterianos das amostras 5LBN-PRÓP-



SPUTCu-40B/65 °C- 24 h e 5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h e, como a liberação encontrada não foi constante, explica também a ineficiência bactericida do filme.

Esses resultados foram comparados com os padrões de lançamento de efluentes para cobre, de acordo com a Resolução CONAMA nº 430/2011 (BRASIL, 2011) e a Resolução CONSEMA nº 355/2017 (RIO GRANDE DO SUL, 2017), com valores de 1,0 e 0,5 mg/L de cobre, respectivamente. Nossos resultados evidenciaram um máximo de 0,16 mg/L, ou seja, bem abaixo do limite padrão para lançamento de efluentes. Apesar de o cobre e seus óxidos não serem muito tóxicos (EGOROVA; ANANIKOV, 2017), esses valores devem ser cuidadosamente observados quando se trata do lançamento de um efluente com cobre para o meio ambiente. Com os resultados encontrados, foi possível verificar que a lixiviação de cobre a partir dos filmes aqui produzidos foi aceitável, estando em conformidade com as resoluções mencionadas.

## 5 CONCLUSÕES

Filmes de LBN contendo própolis e CuO/CuONPs foram preparados e caracterizados. De modo geral, foi possível verificar que o cobre reage com o látex quando adicionado diretamente na matriz polimérica, promovendo a desintegração dos filmes. Além disso, a alta temperatura de secagem contribui consideravelmente para esse processo. A própolis vermelha, quando adicionada em conjunto com CuO/CuONPs, diminuiu a reação entre os componentes, retardando o processo de desintegração. Os três diferentes plasmas aplicados na superfície das amostras promoveram uma reação com o cobre presente nos filmes, aumentando a intensidade das bandas dos grupos O-H e N-H nos espectros FTIR-ATR, e que está relacionada diretamente com a umidade e desintegração das amostras. A técnica de *magnetron sputtering* permitiu a incorporação de cobre na matriz de LBN com própolis vermelha, evidenciando melhores resultados.

A análise de FTIR-ATR comprovou que houve apenas uma interação física entre os componentes dos filmes estudados. Nos filmes obtidos com *magnetron sputtering* foram observadas mudanças a partir de 15 s de deposição, sugerindo a formação de um filme de cobre por toda a extensão das amostras, enquanto que nos filmes com menores tempos, a deposição se deu apenas em alguns pontos.

Por meio das técnicas de MEV-FEG e EDS foi evidenciado que quando CuO/CuONPs são adicionados diretamente na matriz polimérica, estes permanecem dispersos no seu interior, impedindo sua visualização. A deposição superficial pela técnica de *magnetron sputtering*, por outro lado, evidenciou que a quantidade de cobre depositado varia com o tempo de deposição, permitindo que o elemento pudesse ser melhor observado. O mapeamento por EDS ainda demonstrou que as amostras acondicionadas em dessecador se preservaram por mais tempo, não reagindo com o oxigênio presente na atmosfera. As amostras acondicionadas em bancada, por sua vez, reagiram com a atmosfera, implicando na formação de óxidos de cobre. A fluorescência de raios X, por outro lado, comprovou a deposição de cobre de forma gradativa com o passar do tempo nas amostras.

No que se refere ao estudo da molhabilidade, os resultados indicaram que o ângulo de contato dos filmes aumentou em função do tempo; porém, o tratamento a plasma auxiliou na estabilidade da hidrofobicidade, retardando o envelhecimento do LBN por causa das reações que ocorrem entre o plasma e a superfície. Quando se utilizou a mistura de gases H<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> no plasma, obteve-se um ângulo de contato mais hidrofílico em relação aos outros tratamentos. As amostras com deposição de cobre apresentaram uma maior hidrofobicidade em relação às amostras com CuO/CuONPs incorporadas na matriz.

A liberação de cobre nos filmes avaliados foi mais baixa que os limites estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 430/2011 e pela Resolução CONSEMA nº 355/2017.

Nas condições experimentais utilizadas, os filmes não apresentaram propriedade bactericida. Em alguns filmes, ocorreu crescimento por baixo da amostra, provavelmente devido à baixa liberação de íons Cu(II) para o meio. Os filmes em que o cobre foi depositado na superfície, por sua vez, apresentaram melhores resultados. A partir de 10 s de deposição de cobre, os filmes evidenciaram propriedades bacteriostáticas, sendo que os melhores foram aqueles que permaneceram em dessecador. Assim, em geral, as amostras que apresentam os melhores resultados foram as de LBN com adição de própolis vermelha, com a realização da deposição de cobre a partir de 10 s, e que permaneceram acondicionadas em dessecador. Esses filmes, além de apresentarem estabilidade em relação à desintegração e baixa liberação de cobre em água, apresentaram propriedade bacteriostática, apesar de ainda ser necessário tratamento superficial para a redução do ângulo de contato das mesmas. Por fim, mais estudos devem ser realizados; porém, nossos resultados sugerem que os filmes de LBN/própolis vermelha/cobre apresentam potencial para serem utilizados em aplicações biomédicas.

## **6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Como sugestões para trabalhos futuros, propõe-se:

- a) a avaliação da rugosidade dos filmes de LBN, utilizando a técnica de perfilometria óptica;
- b) o cálculo da energia livre da superfície dos filmes de LBN pela equação geral de Wenzel-Cassie-Baxter;
- c) a realização de análises de termogravimetria para analisar possíveis compostos voláteis;
- d) a realização de ensaios de cultura celular com linhagem de células dérmicas;
- e) a realização de estudos de citotoxicidade;



- f) a realização de ensaios antibacterianos utilizando diferentes métodos, como a contagem de colônias;
- g) a realização da combinação de tratamento de superfície por plasma e deposição de ilhas de cobre por *magnetron sputtering*;
- h) a análise da estrutura dos filmes acondicionados em dessecador com vácuo.

## REFERÊNCIAS

- ABBOUD, Y. *et al.* Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles (CONPs) produced using brown alga extract (*Bifurcaria bifurcata*). **Applied Nanoscience**, v. 4 (5), p. 571-576, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13204-013-0233-x>.
- AGREBI, F. *et al.* Study of nanocomposites based on cellulose nanoparticles and natural rubber latex by ATR/FT-IR spectroscopy: the impact of reinforcement. **Polymer Composites**, v. 40, n. 5, p. 2076-2087, set. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pc.24989>.
- ALAMI, A.H.; ALLAGUI, A.; ALAWADHI, H. Microstructural and optical studies of CuO thin films prepared by chemical ageing of copper substrate in alkaline ammonia solution. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 617, p. 542-546, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.07.221>.
- ARGUETA-FIGUEROA, L. *et al.* Synthesis, characterization and antibacterial activity of copper, nickel and bimetallic Cu–Ni nanoparticles for potential use in dental materials. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 24, n. 4, p. 321-328, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2014.07.002>.
- BADARAEV, A.D. *et al.* PLLA scaffold modification using magnetron sputtering of the copper target to provide antibacterial properties. **Resource-Efficient Technologies**, v. 3, n. 2, p. 204-211, jun. 2017. National Research Tomsk Polytechnic University. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reffit.2017.05.004>.
- BAI, X. *et al.* Effect of ion control strategies on the deposition rate and properties of copper films in bipolar pulse high power impulse magnetron sputtering. **Journal of Materials Science**, v. 58, n. 3, p. 1243-1259, dez. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10853-022-08036-4>.
- BOGDANOVIĆ, U. *et al.* Copper nanoparticles with high antimicrobial activity. **Materials Letters**, v. 128, p. 75-78, 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2014.04.106>.
- BOSE, S. *et al.* Additive manufacturing of biomaterials. **Progress in Materials Science**, v. 93, p. 45-111, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2017.08.003>.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução CONAMA Nº 430 de maio de 2011**.
- BUENO-SILVA, B. *et al.* The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity. **Natural Product Research**, v. 31, n. 11, p. 1318-1324, 2017. <https://doi.org.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1080/14786419.2016.1239088>.
- BUKHARI, A. *et al.* Green Synthesis of Metal and Metal Oxide Nanoparticles Using Different Plants' Parts for Antimicrobial Activity and Anticancer Activity: a review article. **Coatings**, v. 1374, n. 11, p. 1-56, 2021. <https://doi.org/10.3390/coatings11111374>.

CABRAL, I.S.R. *et al.* Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600031>.

CALLISTER JR., W.D.; RETHWISCH, D.G. **Ciência e Engenharia de Materiais: uma introdução**. 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2021. 701 p.

CASTALDO, S.; CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, v. 73, p. 1-6, 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x\(02\)00185-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x(02)00185-5).

CHANG, H-I; WANG, Y. Cell Responses to Surface and Architecture of Tissue Engineering Scaffolds. **Regenerative Medicine and Tissue Engineering - Cells and Biomaterials**, p. 569-588, 2011. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/21983>.

CHASSET, T. *et al.* Profiling and classification of French propolis by combined multivariate data analysis of planar chromatograms and scanning direct analysis in real time mass spectra. **Journal of Chromatography A**, v. 1465, p. 197-204, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.08.045>.

CHEN, Q.; LIANG, S.; THOUAS, G.A. Elastomeric biomaterials for tissue engineering. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 3-4, p. 584-671, 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003>.

CORNISH, K.; XIE, W. Natural Rubber Biosynthesis in Plants: Rubber Transferase. **Methods in Enzymology**. V. 515, p 63-82. 2012. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394290-6.00004-5>.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 4, p. 780-792, 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009>.

CUEVAS, R. *et al.* Extracellular biosynthesis of copper and copper oxide nanoparticles by *Stereum hirsutum*, a native white-rot fungus from Chilean forests. **Journal of Nanomaterials**, v. 2015, p. 1-7, 2015. <http://dx-doi.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1155/2015/789089>.

DANNA, C. S. *et al.* Silver Nanoparticles Embedded in Natural Rubber Films: synthesis, characterization, and evaluation of *in vitro* toxicity. **Journal of Nanomaterials**, v. 2016, p. 1-10, 2016. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2368630>.

DAUGSCH, A. **A própolis vermelha do nordeste do brasil e suas características químicas e biológicas**. 2007. 133 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

DAUGSCH, A. *et al.* Brazilian Red Propolis—Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 4, p. 435-441, 2008. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1093/ecam/nem057>.

DEEGAN, K.R. *et al.* Susceptibility of *Malassezia pachydermatis* Clinical Isolates to Allopathic Antifungals and Brazilian Red, Green, and Brown Propolis Extracts. **Frontiers in**

**Veterinary Science**, v. 6, dez. 2019. Frontiers Media SA.  
<http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2019.00460>.

DHINESHBABU, N.R. *et al.* Study of structural and optical properties of cupric oxide nanoparticles. **Applied Nanoscience**, v. 6, p. 933-939, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13204-015-0499-2>.

DIN, M.I.; REHAN, R. Synthesis, Characterization, and Applications of Copper Nanoparticles. **Analytical Letters**, v. 50, n. 1, p. 50-62, 2017. <https://doi-org.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1080/00032719.2016.1172081>.

EGOROVA, K.S.; ANANIKOV, V.P. Toxicity of Metal Compounds: knowledge and myths. **Organometallics**, v. 36, n. 21, p. 4071-4090, nov. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.organomet.7b00605>.

FERREIRA, M. *et al.* Angiogenic Properties of Natural Rubber Latex Biomembranes and The Serum Fraction of *Hevea brasiliensis*. **Brazilian Journal of Physics**, v. 39, n. 3, p. 564-569, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-97332009000500010>.

FERREIRA, P. *et al.* Improving polymeric surfaces for biomedical applications: a review. **Journal of Coatings Technology and Research**, v. 12, n. 3, p. 463-475, mar. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11998-015-9658-3>.

FESTAS A.J., RAMOS A., DAVIM J.P. Medical devices biomaterials – A review. **J Materials: Design and Applications**, Vol. 234(1) 218–228, 2020. <https://doi.org/10.1177/1464420719882458>.

FRANK-KAMENETSKII, D. A. Introduction. **Plasma: The Fourth State of Matter**, p. 1-8, 1972. Springer US. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-1896-5\\_1](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-1896-5_1).

FROZZA, C.O.S. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 52, n. 1, p. 137-142, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.013>.

GARCIA, C.S.C. *et al.* Natural Rubber Films Incorporated with Red Propolis and Silver Nanoparticles Aimed for Occlusive Dressing Application. **Materials Research**, 24 (2), p. 1-16, 2021. <https://doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2020-0415>.

GARMS, B.C. *et al.* Novel polymeric dressing to the treatment of infected chronic wound. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 12, p. 4767-4778, 2019. <http://dx-doi.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s00253-019-09699-x>.

GHOSH, R. *et al.* Antibacterial Copper–Hydroxyapatite Composite Coatings via Electrochemical Synthesis. **Langmuir**, v. 35, n. 17, p. 5957-5966, 2019. <https://doi-org.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1021/acs.langmuir.9b00919>.

GIANNOSSA, L.C. *et al.* Metal nanoantimicrobials for textile applications. **Nanotechnology Reviews**, v. 2, n. 3, p. 307-331, 2013. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2013-0004>.

GÓMEZ-GALLEGO, D.M.; URCUQUI-INCHIMA, S; HERNÁNDEZ, J.C. Efecto inmunomodulador de nanopartículas usadas em nanomedicina. **Iatreia**, v. 29, n. 4, p. 445-457, out. 2016. Universidad de Antioquia. <http://dx.doi.org/10.17533/udea.iatreia.v29n4a06>.

GIOVANELA, M. *et al.* **Filmes, processos de obtenção dos filmes e uso dos filmes**. Depositante: Universidade de Caxias do Sul. Procurador: Ricardo Amaral Remer. BR n. BR 102019010715-4. Depósito: 24 maio 2019.

GUERRA, N.B. *et al.* Biomedical applications of natural rubber latex from the rubber tree *Hevea brasiliensis*. **Materials Science and Engineering: C**, v. 126, p. 112126, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2021.112126>.

HENCH, L.L. **An introduction to bioceramics**. 2. ed. London: Imperial College Press, 2013. 600 p.

JAYAKUMARAI, G. *et al.* Phytofabrication and characterization of monodisperse copper oxide nanoparticles using *Albizia lebbbeck* leaf extract. **Applied Nanoscience**, v. 5, p. 1017-1021, 2015. <https://doi.org/10.1007/s13204-015-0402-1>.

KAEWYAI, K. *et al.* Mechanism and experimental evidence of rapid morphological variant of copper oxide nanostructures by microwave heating. **Applied Surface Science**, v. 474, p. 9-16, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.10.128>.

KAYANI, Z.N. *et al.* Characterization of Copper Oxide Nanoparticles Fabricated by the Sol-Gel Method. **Journal of Electronic Materials**, v. 44, p. 3704-3709, 2015. <https://doi.org/ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s11664-015-3867-5>.

KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908-931, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.

KOHJIYA, S.; IKEDA, Y. (ed.). **Chemistry, Manufacture and Applications of Natural Rubber**. Elsevier, 2014.

KOTAKE, B.G.S. *et al.* Bone repair of critical-sized defects in Wistar rats treated with autogenic, allogenic or xenogenic bone grafts alone or in combination with natural latex fraction F1. **Biomedical Materials**, 13, 2018. <https://doi.org/ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1088/1748-605X/aa9504>.

KOUHKAN, M. *et al.* Biosynthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using *Lactobacillus casei* Subsp. *Casei* and its Anticancer and Antibacterial Activities. **Current Nanoscience**, v. 16, n. 1, p. 101-111, 2020. <https://doi.org/10.2174/1573413715666190318155801>.

KRUPP, T. *et al.* Natural rubber - propolis membrane improves wound healing in second-degree burning model. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, n. 1, p. 980-988, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.147>.

KUDZIN, M.H. *et al.* Deposition of Copper on Poly(Lactide) Non-Woven Fabrics by Magnetron Sputtering—Fabrication of New Multi-Functional, Antimicrobial Composite

Materials. **Materials**, v. 13, n. 18, p. 3971, set. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ma13183971>.

KUMAR, S.V. *et al.* Optimized production of antibacterial copper oxide nanoparticles in a microwave-assisted synthesis reaction using response surface methodology. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 573, p. 170-178, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.04.063>.

LAI J.N. *et al.* Study on hydrophilicity of polymer surfaces improved by plasma treatment. **Applied Surface Science**. v.252, 2006, p. 3375- 3381. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2005.05.038>.

LARRIEU, J. *et al.* DC pulsed plasma surface treatment of atactic and isotactic polystyrene thin films with oxygen, oxygen-nitrogen mixture and nitrogen: study of wettability. **The European Physical Journal Applied Physics**, v. 22, n. 1, p. 61-67, 2003. EDP Sciences. <http://dx.doi.org/10.1051/epjap:2003010>.

LEE, Y-C; KANG, I-J. Optimal Fabrication Conditions of Chitosan–Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>–Gold Nanoshells as an Anticancer Drug Delivery Carriers. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 38, n. 3, p. 313-319, 2017. <https://doi-org.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1002/bkcs.11083>.

LIMA, E. P. N. *et al.* Influência da espessura nas propriedades mecânicas, ângulo de contato, absorção e perda em água de membranas derivadas do látex natural. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 26, n. 4, 2021. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-707620210004.1377>

LU, H. *et al.* Modular and Integrated Systems for Nanoparticle and Microparticle Synthesis—A Review. **Biosensors**, v. 10, n. 11, p. 165, nov. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/bios10110165>.

LUO, J. *et al.* Tailor the antibacterial efficiency of copper alloys by oxidation: when to and when not to. **Journal of Materials Science**, v. 57, n. 5, p. 3807-3821, jan. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10853-022-06879-5>.

MANDKE, M. V.; PATHAN, H. M. Electrochemical growth of copper nanoparticles: structural and optical properties. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 686, p. 19-24, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2012.09.004>.

MANO, E.B.; MENDES, L.C. **A natureza e os polímeros**: meio ambiente, geopolímeros, fitopolímeros e zoopolímeros. São Paulo: Blucher, 2018. 404 p.

MAURYA, D.; SARDARINEJAD, A.; ALAMEH, K. Recent Developments in R.F. Magnetron Sputtered Thin Films for pH Sensing Applications - An Overview. **Coatings**, v. 4, n. 4, p. 756-771, dez. 2014. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/coatings4040756>.

MIGLIORE, L. J. *et al.* A new species of jewel beetle (Coleoptera, Buprestidae, Agrilus) triggers the production of the Brazilian red propolis. **The Science of Nature**, v. 109, n. 2, fev. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00114-022-01785-x>.



MIHAI, M.M. *et al.* Nanocoatings for Chronic Wound Repair—Modulation of Microbial Colonization and Biofilm Formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 4, p. 1179, abr. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19041179>.

MIHUT, D.M. *et al.* Antibacterial effectiveness of metallic nanoparticles deposited on water filter paper by magnetron sputtering. **Surface and Coatings Technology**, v. 368, p. 59-66, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.04.039>.

MURAD, J.M. *et al.* Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on fungicidal activity of macrophages against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 3, p. 331-334, 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741\(01\)00404-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741(01)00404-4).

NASCIMENTO, T.G. *et al.* Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: preparation, characterization, antioxidant and leishmanicidal activity. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2016. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1517-3>.

NEWELL, J. **Fundamentos da moderna engenharia e ciência dos materiais**. Rio de Janeiro: LTC, 2018. 281 p.

OLIVEIRA, R.N. *et al.* FT-IR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 21, n. 3, p. 767-779, set. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-707620160003.0072>.

PALUMBO; LO PORTO; FAVIA. Plasma Nano-Texturing of Polymers for Wettability Control: why, what and how. **Coatings**, v. 9, n. 10, p. 640, out. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/coatings9100640>.

PARK, Y.K. *et al.* Chemical Constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the Main Botanical Origin of Southeastern Brazilian Propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1100-1103, fev. 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf021060m>.

PAZHOOH, H.N.; BAGHERI, R.; ADLOO, A. Fabrication of semi-conductive natural rubber nanocomposites with low copper nanoparticle contents. **Polymer**, v. 108, p. 135-145, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2016.11.059>.

PIRES, A.L.R.; BIERHALZ, A.C.K.; MORAES, A.M. Biomaterials: types, applications, and market. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>.

PROMSUNG, R. *et al.* Effects of protein contents in different natural rubber latex forms on the properties of natural rubber vulcanized with glutaraldehyde. **Express Polymer Letters**, v. 15, n. 4, p. 308-318, 2021. Department of Polymer Engineering, Scientific Society of Mechanical Engineering. <http://dx.doi.org/10.3144/expresspolymlett.2021.27>.

RAMYADEVI, J. *et al.* Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. **Materials Letters**, v. 71, p. 114-116, 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2011.12.055>.



RATHNAYAKE W.G.I.U. *et al.* Synthesis and characterization of nano silver based natural rubber latex foam for imparting antibacterial and anti-fungal properties. **Polymer Testing**, v. 31, n. 5, p. 586-592, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.01.010>.

RATHNAYAKE, W.G.I.U. *et al.* Enhancement of the antibacterial activity of natural rubber latex foam by the incorporation of zinc oxide nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 1, 2014. <https://doi-org.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1002/app.39601>.

RATNER, B.D. *et al.* **Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine**. 2. ed. San Diego: Elsevier, 2004. 868 p.

REGUEIRA-NETO, M.S. *et al.* Antitrypanosomal, antileishmanial and cytotoxic activities of Brazilian red propolis and plant resin of *Dalbergia ecastaphyllum* (L) Taub. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, n. 1, p. 215-221, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.04.029>.

RICE, E.W. *et al.* (Ed.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23 ed. Washington, DC: LMC, 2017. 1504 p.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual do Meio Ambiente. **Resolução nº 355 de 13 de julho de 2017**. Porto Alegre, jul. 2017.

ROCHA, C.B.J.; REIS, N.S. Estudo comparativo do efeito de glicosaminoglicanas ácidas sulfatada (hirudóid®) e não-sulfatada (ácido hialurônico) e da própolis sobre a cicatrização da pele de ratos albinos. **Investigação**, Franca, v. 5, n. 1/6, p. 101-109, 2005. <https://doi.org/10.26843/investigacao.v5i1-6.201>.

ROJRUTHAI, P.; PAYUNGWONG, N.; SAKDAPIPANICH, J.T. A model study on the impact of metal ions on pre-vulcanization of concentrated natural rubber latex and dipped-products. **Progress in Rubber, Plastics and Recycling Technology**, v. 38, n. 1, p. 125-138, dez. 2021. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/147776062111062909>.

ROLERE, S. *et al.* Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy: a rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously. **Polymer Testing**, v. 43, p. 83-93, 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2015.02.011>

ROMAN D., **Deposição de filmes finos de nitreto de zircônio para aplicação em biomateriais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – UCS, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010.

ROSA, S.S.R.F. *et al.* Evidence in Practice of Tissue Healing with Latex Biomembrane: integrative review. **Journal of Diabetes Research**, v. 2019, p. 1-17, mar. 2019. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/7457295>.

RUSSO, A.; LONGO, R.; VANELLA, A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. **Fitoterapia**, v. 73, p. 21-29, 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x\(02\)00187-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x(02)00187-9).

SÁNCHEZ-SANHUEZA, G.; FUENTES-RODRÍGUEZ, D.; BELLO-TOLEDO, H. Copper Nanoparticles as Potential Antimicrobial Agent in Disinfecting Root Canals: a systematic review. **International Journal of Odontostomatology**, v. 10, n. 3, p. 547-554, dec. 2016. SciELO Agencia Nacional de Investigacion y Desarrollo (ANID). <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-381x2016000300024>.

SANKAR, R. *et al.* Anticancer activity of Ficus religiosa engineered copper oxide nanoparticles. **Materials Science and Engineering: C**, v. 44, p. 234-239, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.030>.

SANTOS, C.G.L. *et al.* Processamento e esterilização da pele de rã-touro utilizada como leito para curativo no tratamento de feridas infecciosas. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e151996902, ago. 2020. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i9.6902>.

SANTOS, G.A. **Tecnologias mecânicas: materiais, processos e manufatura avançada**. São Paulo: Érica, 2021. 296 p.

SANTOS, V.; BRANDALISE, R.N.; SAVARIS, M. **Engineering of Biomaterials: topics in mining, metallurgy and materials engineering**. Porto Alegre: Springer, 2017. 86 p.

SARAKINOS, K.; ALAMI, J.; KONSTANTINIDIS, S. High power pulsed magnetron sputtering: a review on scientific and engineering state of the art. **Surface and Coatings Technology**, v. 204, n. 11, p. 1661-1684, fev. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2009.11.013>.

SCHEIBEL, J. M. *et al.* Antibiotic-loaded wound dressings obtained from the PBAT-gentamicin combination. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 138, n. 27, p. 50633, fev. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/app.50633>.

SILVA, J.F.M. *et al.* Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 99, n. 3, p. 431-435, 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.055>.

SILVA-BELTRÁN, N.P. *et al.* Antiviral effects of Brazilian green and red propolis extracts on Enterovirus surrogates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 28510-28517, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07458-z>.

SILVA, D.J. da *et al.* Copper coatings on poly(lactic acid) via rapid magnetron sputtering: morphology, chemistry, and antimicrobial performance against bacteria and SARS-CoV-2. **Materials Today Communications**, v. 34, p. 105440, mar. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.105440>.

SIMONE-FINSTROM, M.; SPIVAK, M. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 295-311, 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1051/apido/2010016>.

SINGH, A. *et al.* Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: a review. **Biotechnology Reports**, v. 25, p. e00427, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00427>.

SLEPIČKA, P. *et al.* Plasma activated perfluoroethylenepropylene for cytocompatibility enhancement. **Polymer Degradation and Stability**, v. 130, p. 277-287, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polyimdegstab.2016.06.017>.

SONG, R. *et al.* Current development of biodegradable polymeric materials for biomedical applications. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 12, p. 3117-3145, 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/dddt.s165440>.

STEIN, R. T.; GEHLEN, R.Z.C.; ROJAS, F.C. **Tecnologia dos Materiais**. Porto Alegre: SAGAH, 2019. 247 p.

TANAKA, J.L. *et al.* Natural rubber dressing loaded with silver sulfadiazine for the treatment of burn wounds infected with *Candida* spp. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 189, n. 1, p. 597-606, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.102>.

TANAKA, Y. Recent advances in structural characterization of elastomers. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 64, 1991. <https://doi.org/10.5254/1.3538561>.

TIWARI, M. *et al.* Biosynthesis and wound healing activity of copper nanoparticles. **IET Nanobiotechnology**, v. 8, n. 4, p. 230-237, 2014. <https://doi-org.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1049/iet-nbt.2013.0052>.

TOMA, H.E. **Nanotecnologia molecular: materiais e dispositivos**. São Paulo: Blucher, 2018. 6 v, 336 p.

UENO, M. *et al.* Esterilização de limas endodônticas com plasma de oxigênio. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 14, n. 3, p. 205-208, 2000. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-74912000000300003>.

VAN DONGEN, M.H.A. *et al.* Wettability and Aging of Polymer Substrates after Atmospheric Dielectrical Barrier Discharge Plasma on Demand Treatment. **Journal of Imaging Science and Technology**, v. 57, n. 3, p. 30503-1, maio 2013. Society for Imaging Science & Technology. <http://dx.doi.org/10.2352/j.imagingsci.technol.2013.57.3.030503>.

WANG, Y.; XIA, Y. Bottom-Up and Top-Down Approaches to the Synthesis of Monodispersed Spherical Colloids of Low Melting-Point Metals. **Nano Letters**, v. 4, n. 10, p. 2047-2050, 2004. <https://doi-org.ez314.periodicos.capes.gov.br/10.1021/nl048689j>.

WOSKOWICZ, E. *et al.* Plasma deposition of antimicrobial coatings based on silver and copper on polypropylene. **Polimery**, v. 65, n. 01, p. 33-43, jan. 2020. LUKASIEWICZ Research Network - Industrial Chemistry Research Institute. <http://dx.doi.org/10.14314/polimery.2020.1.5>.

YIP, E.; CACIOLI, P. The manufacture of gloves from natural rubber latex. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 110, n. 2, p. 3-14, ago. 2002. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1067/mai.2002.124499>.

YOSHIDA, S. *et al.* Surface modification of polymers by plasma treatments for the enhancement of biocompatibility and controlled drug release. **Surface and Coatings Technology**, v. 233, p. 99-107, 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2013.02.042>.

YUGANDHAR, P. *et al.* Bioinspired green synthesis of copper oxide nanoparticles from *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp: characterization and evaluation of its synergistic antimicrobial and anticancer activity. **Applied Nanoscience**, v. 7, p. 417-427, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13204-017-0584-9>.

ZANCANELA, D.C. *et al.* Physical, chemical and antimicrobial implications of the association of propolis with a natural rubber latex membrane. **Materials Letters**, v. 209, p. 39-42, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2017.07.093>.

ZANCANELA, D.C. *et al.* Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: physical-chemistry and antimicrobial behaviours. **Materials Science and Engineering: C**, v. 97, p. 576-582, 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.042>.

ZHANG, A. *et al.* In situ formation of copper nanoparticles in carboxylated chitosan layer: preparation and characterization of surface modified tfc membrane with protein fouling resistance and long-lasting antibacterial properties. **Separation and Purification Technology**, v. 176, p. 164-172, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2016.12.006>.

**APÊNDICE A – ANÁLISE QUANTITATIVA DAS ÁREAS DAS BANDAS DO LBN  
OBTIDAS NOS ESPECTROS FTIR-ATR**

**Quadro 1** - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes do segundo lote

Filme	Tratamento	Razão da área de banda em relação à área das bandas de CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (2960 - 2848 cm <sup>-1</sup> )					
		OH e NH	C=C e C=O	N-H	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> C=C-HR
2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	0,48	0,09	0,06	0,32	0,16	0,34
	H <sub>2</sub>	0,95	0,33	0,28	0,37	0,20	0,44
	O <sub>2</sub>	1,41	0,52	0,39	0,45	0,27	0,48
	s/ tratamento	1,56	0,55	0,41	0,43	0,24	0,44
2LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> -> 92 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	1,35	0,24	0,32	0,34	0,23	0,38
	H <sub>2</sub>	1,29	0,26	0,35	0,41	0,23	0,46
	O <sub>2</sub>	1,01	0,42	0,25	0,41	0,23	0,43
	s/ tratamento	0,73	0,14	0,31	0,36	0,20	0,42
2LBN-PRÓP-0.25CuO/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	1,43	0,37	0,28	0,34	0,19	0,25
	H <sub>2</sub>	1,65	0,31	0,32	0,35	0,17	0,26
	O <sub>2</sub>	0,63	0,20	0,29	0,41	0,20	0,47
	s/ tratamento	2,11	0,67	0,55	0,43	0,25	0,40
2LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> -> 92 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	0,62	0,18	0,20	0,28	0,17	0,37
	H <sub>2</sub>	2,10	0,47	0,42	0,33	0,18	0,23
	O <sub>2</sub>	0,73	0,22	0,21	0,37	0,19	0,45
	s/ tratamento	0,91	0,30	0,28	0,39	0,19	0,49
2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	1,79	0,45	0,71	0,36	0,43	0,44
	H <sub>2</sub>	1,75	0,49	0,49	0,45	0,32	0,41
	O <sub>2</sub>	1,17	0,36	0,32	0,42	0,23	0,45
	s/ tratamento	0,92	0,25	0,19	0,17	0,21	0,32
2LBN-0.25CuO/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	2,21	0,49	0,33	0,44	0,24	0,35
	H <sub>2</sub>	0,72	0,17	0,20	0,41	0,18	0,42
	O <sub>2</sub>	1,51	0,45	0,27	0,44	0,24	0,36
	s/ tratamento	1,17	0,37	0,32	0,34	0,21	0,36
2LBN-PRÓP/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	1,45	0,51	0,37	0,37	0,23	0,44
	H <sub>2</sub>	1,57	0,47	0,28	0,48	0,24	0,35
	O <sub>2</sub>	0,71	0,21	0,14	0,34	0,16	0,37
	s/ tratamento	1,27	0,20	0,21	0,16	0,18	0,33
2LBN/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	3,38	0,62	0,45	0,57	0,19	0,35
	H <sub>2</sub>	2,55	0,56	0,44	0,48	0,18	0,37
	O <sub>2</sub>	0,94	0,28	0,23	0,38	0,18	0,41
	s/ tratamento	1,68	0,41	0,31	0,18	0,23	0,27

Fonte: o autor.

**Quadro 2** - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes do terceiro lote com e sem tratamento a plasma em função do tempo

(continua)

Filme	Tratamento	Dia	Razão da área de banda em relação à área das bandas de CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (2960 - 2848 cm <sup>-1</sup> )					
			OH e NH	C=C e C=O	N-H	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> C=C-HR
3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h	Sem tratamento	0	1,20	0,21	0,20	0,38	0,16	0,50
		7	1,48	0,22	0,20	0,40	0,17	0,52
		14	1,53	0,23	0,24	0,41	0,17	0,48
		21	1,34	0,25	0,36	0,46	0,19	0,45
3LBN-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	7	1,23	0,41	0,31	0,42	0,18	0,46
		14	1,70	0,42	0,37	0,45	0,21	0,45
	H <sub>2</sub>	7	1,13	0,33	0,28	0,42	0,17	0,46
		14	*	*	*	*	*	*
	Sem tratamento	0	0,73	0,27	0,21	0,38	0,17	0,45
		7	0,60	0,24	0,17	0,37	0,16	0,42
		14	0,36	0,21	0,13	0,36	0,15	0,43
		21	0,95	0,31	0,24	0,20	0,24	0,57
		60	*	*	*	*	*	*
		90	*	*	*	*	*	*
120	*	*	*	*	*	*		
3LBN-0.25CuO/40 °C-24 h	Sem tratamento	0	1,01	0,20	0,17	0,37	0,16	0,48
		7	0,66	0,22	0,16	0,38	0,16	0,46
		14	0,57	0,32	0,24	0,38	0,16	0,46
		21	0,48	0,36	0,25	0,38	0,17	0,44
3LBN-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	7	0,35	0,23	0,13	0,35	0,16	0,42
		14	0,65	0,27	0,19	0,36	0,16	0,43
	H <sub>2</sub>	7	0,34	0,22	0,13	0,31	0,14	0,36
		14	0,66	0,29	0,19	0,37	0,17	0,45
	Sem tratamento	0	0,84	0,32	0,25	0,38	0,18	0,43
		7	0,56	0,25	0,19	0,36	0,15	0,40
		14	0,57	0,29	0,22	0,37	0,16	0,42
		21	0,87	0,37	0,26	0,19	0,24	0,55
		60	0,35	0,20	0,13	0,34	0,14	0,41
		90	0,28	0,19	0,12	0,33	0,15	0,40
120	0,27	0,22	0,12	0,35	0,16	0,44		
3LBN-PRÓP/40 °C-24 h	Sem tratamento	0	0,56	0,16	0,14	0,35	0,14	0,44
		7	0,54	0,16	0,14	0,36	0,17	0,48
		14	0,38	0,28	0,16	0,35	0,17	0,46
		21	0,61	0,40	0,26	0,39	0,18	0,43
3LBN-PRÓP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	7	1,39	0,44	0,37	0,43	0,19	0,46
		14	0,53	0,28	0,18	0,37	0,16	0,45
	H <sub>2</sub>	7	1,09	0,40	0,34	0,42	0,19	0,46
		14	0,72	0,32	0,21	0,38	0,18	0,46
	Sem tratamento	0	0,55	0,23	0,19	0,37	0,17	0,44
		7	0,52	0,23	0,16	0,35	0,16	0,42
		14	0,41	0,19	0,14	0,34	0,16	0,41
		21	0,36	0,23	0,17	0,27	0,22	0,60
		60	0,31	0,16	0,11	0,33	0,15	0,42
		90	0,46	0,23	0,13	0,33	0,16	0,41
120	0,23	0,19	0,11	0,34	0,15	0,43		

(conclusão)

Filme	Tratamento	Dia	Razão da área de banda em relação à área das bandas de CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (2960 - 2848 cm <sup>-1</sup> )					
			OH e NH	C=C e C=O	N-H	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> C=C-HR
3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	7	1,77	0,47	0,40	0,45	0,20	0,44
		14	1,93	0,43	0,43	0,49	0,20	0,48
	H <sub>2</sub>	7	0,52	0,30	0,17	0,37	0,17	0,46
		14	1,56	0,36	0,34	0,43	0,20	0,45
	Sem tratamento	0	0,64	0,18	0,16	0,38	0,16	0,45
		7	0,56	0,17	0,15	0,37	0,16	0,44
		14	0,51	0,18	0,14	0,35	0,17	0,43
		21	0,46	0,20	0,17	0,37	0,17	0,46
		60	0,33	0,24	0,12	0,37	0,16	0,45
		90	0,28	0,21	0,12	0,36	0,15	0,42
3LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	7	0,52	0,29	0,16	0,36	0,17	0,44
		14	1,96	0,44	0,43	0,49	0,20	0,44
	H <sub>2</sub>	7	0,68	0,33	0,23	0,39	0,18	0,46
		14	1,58	0,39	0,35	0,43	0,20	0,46
	Sem tratamento	0	0,84	0,19	0,16	0,38	0,16	0,46
		7	0,72	0,20	0,17	0,37	0,17	0,45
		14	0,45	0,18	0,13	0,36	0,15	0,43
		21	0,51	0,20	0,14	0,36	0,16	0,45
		60	0,49	0,19	0,14	0,36	0,16	0,45
		90	0,38	0,18	0,13	0,36	0,16	0,44
3LBN/40 °C-24 h	Sem tratamento	0	0,77	0,18	0,15	0,35	0,14	0,45
		7	0,57	0,15	0,14	0,38	0,16	0,47
		14	0,45	0,18	0,10	0,35	0,15	0,47
		21	0,33	0,17	0,11	0,35	0,15	0,43
3LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	7	0,89	0,34	0,27	0,39	0,18	0,44
		14	0,59	0,30	0,22	0,39	0,18	0,47
	H <sub>2</sub>	7	1,36	0,40	0,32	0,42	0,18	0,44
		14	0,49	0,25	0,15	0,37	0,16	0,45
	Sem tratamento	0	0,85	0,20	0,12	0,41	0,17	0,48
		7	0,45	0,16	0,13	0,35	0,15	0,41
		14	0,41	0,17	0,12	0,35	0,15	0,42
		21	0,43	0,21	0,17	0,42	0,20	0,62
		60	0,52	0,17	0,11	0,34	0,15	0,41
		90	0,22	0,12	0,07	0,24	0,11	0,29
120	0,35	0,18	0,10	0,34	0,15	0,43		

Fonte: o autor. Nota: \* Não foi possível realizar análise devido à consistência da amostra.



**Quadro 3** - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes do quarto lote

Filme	Razão da área de banda em relação à área das bandas de CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (2960 - 2848 cm <sup>-1</sup> )					
	OH e NH	C=C e C=O	N-H	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> C=C-HR
4LBN-PRÓP-0.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	0,59	0,18	0,14	0,37	0,16	0,44
4LBN-PRÓP-1.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	1,39	0,25	0,18	0,39	0,16	0,53
4LBN-PRÓP-1.5CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	1,91	0,32	0,20	0,40	0,16	0,63
4LBN-PRÓP-2.0CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	2,76	0,41	0,23	0,42	0,18	0,70
4LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	0,98	0,21	0,19	0,38	0,16	0,47

Fonte: o autor.

**Quadro 4** - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes dos testes de evaporação e com reticulante

Filme	Razão da área de banda em relação à área das bandas de CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (2960 - 2848 cm <sup>-1</sup> )					
	OH e NH	C=C e C=O	N-H	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> C=C-HR
T <sub>amb</sub> s/ glutaraldeído	2,76	0,41	0,23	0,42	0,18	0,70
T <sub>amb</sub> c/ glutaraldeído	0,72	0,19	0,15	0,36	0,15	0,46
T <sub>amb</sub> - 30 min	0,89	0,20	0,20	0,40	0,18	0,49
T <sub>amb</sub> - 60 min	0,88	0,20	0,19	0,41	0,17	0,50
40 °C - 10 min	1,56	0,26	0,25	0,42	0,18	0,53
40 °C - 20 min	1,39	0,24	0,22	0,42	0,18	0,54
40 °C - 30 min	1,28	0,23	0,20	0,40	0,16	0,50

Fonte: o autor.

**Quadro 5** - Análise quantitativa das áreas das bandas de FTIR-ATR do LBN nos filmes do quinto lote

(continua)

Filme	Dia	Razão da área de banda em relação à área das bandas de CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (2960 - 2848 cm <sup>-1</sup> )					
		OH e NH	C=C e C=O	N-H	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> C=C-HR
5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h	0	2,25	0,54	0,52	0,32	0,19	0,35
	7	0,79	0,41	0,27	0,41	0,19	0,46
	14	1,28	0,67	0,36	0,51	0,25	0,63
	21	1,22	0,43	0,36	0,49	0,25	0,62
5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h	0	1,19	0,30	0,25	0,38	0,18	0,40
	7	0,31	0,18	0,11	0,36	0,15	0,43
	14	0,99	0,42	0,33	0,47	0,23	0,62
	21	1,23	0,47	0,42	0,56	0,26	0,64
5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h	0	2,07	0,87	0,83	0,59	0,51	0,62
	7	2,21	0,51	0,56	0,51	0,21	0,46
	14	1,39	0,72	0,41	0,54	0,27	0,65
	21	1,56	0,75	0,42	0,58	0,29	0,67

(conclusão)

Filme	Dia	Razão da área de banda em relação à área das bandas de CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (2960 - 2848 cm <sup>-1</sup> )					
		OH e NH	C=C e C=O	N-H	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> C=C-HR
5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h	0	1,62	0,70	0,73	0,52	0,44	0,54
	7	1,48	0,58	0,28	0,44	0,21	0,44
	14	1,30	0,67	0,39	0,52	0,26	0,62
	21	1,55	0,74	0,42	0,58	0,29	0,66
5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h	0	1,59	0,56	0,68	0,57	0,42	0,49
	7	1,49	0,52	0,20	0,43	0,21	0,44
	14	1,01	0,41	0,41	0,49	0,23	0,57
	21	1,33	0,42	0,51	0,54	0,25	0,56
5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h	0	1,78	0,64	0,62	0,49	0,42	0,47
	7	1,22	0,28	0,35	0,40	0,17	0,27
	14	0,90	0,35	0,44	0,51	0,23	0,53
	21	1,36	0,46	0,52	0,54	0,26	0,58
5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h	0	1,88	0,65	0,61	0,38	0,22	0,45
	7	2,47	0,54	0,59	0,38	0,33	0,48
	14	1,72	0,75	0,39	0,52	0,27	0,57
	21	2,38	0,70	0,64	0,58	0,33	0,62
5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h	0	1,72	0,73	0,33	0,48	0,23	0,38
	7	1,83	0,43	0,45	0,44	0,23	0,44
	14	1,23	0,60	0,28	0,51	0,23	0,58
	21	1,56	0,74	0,41	0,57	0,28	0,66
5LBN-PRÓP-SPUTCu-15D/65 °C-24 h	0	2,04	0,62	0,73	0,43	0,46	0,33
	7	1,91	0,48	0,46	0,45	0,21	0,43
	14	1,45	0,72	0,39	0,55	0,27	0,61
	21	1,77	0,62	0,58	0,57	0,30	0,64
5LBN-PRÓP-SPUTCu-20D/65 °C-24 h	0	3,87	0,84	0,75	0,32	0,41	0,11
	7	2,34	0,85	0,90	0,48	0,62	0,67
	14	1,86	0,69	0,63	0,58	0,31	0,60
	21	1,79	0,68	0,55	0,58	0,31	0,64
5LBN-PRÓP-SPUTCu-30D/65 °C-24 h	0	3,84	0,90	0,81	0,33	0,46	0,12
	7	1,98	0,86	0,83	0,44	0,57	0,71
	14	2,00	1,12	0,81	0,56	0,64	0,88
	21	1,93	0,92	0,93	0,55	0,60	0,91
5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h	0	4,18	1,01	0,94	0,40	0,54	0,21
	7	2,30	0,73	0,95	0,51	0,66	0,87
	14	2,36	0,95	1,15	0,59	0,79	0,58
	21	1,63	1,07	0,65	0,67	0,47	0,95
5LBN-PRÓP/65 °C-24 h	0	1,10	0,25	0,21	0,39	0,17	0,47
	7	0,27	0,15	0,10	0,34	0,15	0,43
	14	0,92	0,38	0,31	0,47	0,23	0,62
	21	1,45	0,66	0,34	0,52	0,27	0,63

Fonte: o autor.

## APÊNDICE B – RESULTADOS DO ÂNGULO DE CONTATO

**Quadro 6** - Resultados do ângulo de contato para os filmes do segundo lote

Filmes	Tratamento a plasma	Ângulo de contato (°)						
		0 d	7 d	14 d	21 d	60 d	90 d	110 d
2LBN-PRÓP-0.25CuONP/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	61 ± 0,6	68 ± 0,2	66 ± 0,4	58 ± 0,02	72 ± 0,3	79 ± 0,3	-
	H <sub>2</sub>	61 ± 0,3	66 ± 0,2	74 ± 0,2	69 ± 0,2	74 ± 0,1	66 ± 0,3	-
	O <sub>2</sub>	65 ± 0,2	73 ± 0,2	65 ± 0,3	72 ± 0,2	62 ± 0,3	59 ± 0,1	-
	s/ tratamento	62 ± 0,2	68 ± 0,2	70 ± 0,4	76 ± 0,1	84 ± 0,2	-	-
2LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> > 92 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	55 ± 0,4	38 ± 0,1	56 ± 0,4	67 ± 0,1	61 ± 0,1	74 ± 0,2	47 ± 0,04
	H <sub>2</sub>	44 ± 0,1	54 ± 0,1	61 ± 0,3	67 ± 0,1	72 ± 0,1	79 ± 0,3	51 ± 0,2
	O <sub>2</sub>	50 ± 0,3	40 ± 0,3	57 ± 0,3	60 ± 0,2	30 ± 0,1	59 ± 0,1	59 ± 0,2
	s/ tratamento	60 ± 0,3	36 ± 0,2	71 ± 0,7	76 ± 0,1	78 ± 0,3	79 ± 0,2	84 ± 0,1
2LBN-PRÓP-0.25CuO/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	45 ± 0,2	31 ± 0,0	24 ± 0,3	16 ± 0,1	37 ± 0,1	59 ± 0,1	69 ± 0,04
	H <sub>2</sub>	36 ± 0,1	54 ± 0,2	72 ± 0,2	37 ± 0,1	28 ± 0,3	60 ± 0,1	76 ± 0,02
	O <sub>2</sub>	52 ± 0,2	74 ± 0,2	70 ± 0,1	49 ± 0,1	57 ± 0,1	46 ± 0,1	62 ± 0,1
	s/ tratamento	31 ± 0,3	66 ± 0,3	64 ± 0,5	48 ± 0,2	47 ± 0,5	56 ± 0,3	66 ± 0,2
2LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> > 92 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	31 ± 0,1	43 ± 0,2	34 ± 0,2	46 ± 0,2	53 ± 0,2	55 ± 0,2	45 ± 0,2
	H <sub>2</sub>	52 ± 0,3	52 ± 0,3	57 ± 0,4	56 ± 0,1	64 ± 0,2	55 ± 0,1	43 ± 0,2
	O <sub>2</sub>	28 ± 0,2	25 ± 0,2	52 ± 0,2	50 ± 0,3	15 ± 1,3	25 ± 0,3	53 ± 0,2
	s/ tratamento	32 ± 4,5	50 ± 0,4	40 ± 0,4	50 ± 0,3	46 ± 0,2	37 ± 0,2	54 ± 0,6
2LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	47 ± 0,1	60 ± 0,1	49 ± 0,1	60 ± 0,2	46 ± 0,2	26 ± 1,0	16 ± 0,1
	H <sub>2</sub>	63 ± 0,2	51 ± 0,1	45 ± 0,1	44 ± 0,1	31 ± 0,1	39 ± 0,3	33 ± 0,04
	O <sub>2</sub>	62 ± 0,2	57 ± 0,2	55 ± 0,2	70 ± 0,2	49 ± 0,2	53 ± 0,3	50 ± 0,1
	s/ tratamento	44 ± 0,4	36 ± 0,2	47 ± 0,4	76 ± 0,2	72 ± 0,1	51 ± 0,1	69 ± 0,1
2LBN-0.25CuO/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	32 ± 0,3	14 ± 0,1	52 ± 0,3	40 ± 0,0	34 ± 0,1	58 ± 0,2	60 ± 0,1
	H <sub>2</sub>	31 ± 0,1	15 ± 0,1	23 ± 0,04	35 ± 0,2	54 ± 0,2	56 ± 0,1	70 ± 0,2
	O <sub>2</sub>	45 ± 3,9	47 ± 0,3	45 ± 0,2	39 ± 0,3	44 ± 0,1	81 ± 0,1	72 ± 0,1
	s/ tratamento	38 ± 0,1	21 ± 0,4	35 ± 0,3	64 ± 0,4	69 ± 0,2	63 ± 0,1	49 ± 0,3
2LBN-PRÓP/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	50 ± 0,3	54 ± 0,2	58 ± 0,3	64 ± 0,2	49 ± 0,2	59 ± 0,1	57 ± 0,3
	H <sub>2</sub>	48 ± 0,5	15 ± 0,1	15 ± 0,3	13 ± 0,02	33 ± 0,1	32 ± 0,3	30 ± 0,2
	O <sub>2</sub>	53 ± 0,5	62 ± 0,2	52 ± 0,3	52 ± 0,1	54 ± 0,2	43 ± 0,1	32 ± 0,1
	s/ tratamento	32 ± 0,2	17 ± 0,2	28 ± 0,4	50 ± 0,04	36 ± 0,1	60 ± 0,3	65 ± 0,2
2LBN/40 °C-24 h	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	54 ± 0,3	59 ± 0,0	53 ± 0,2	61 ± 0,2	49 ± 0,1	58 ± 0,1	56 ± 0,2
	H <sub>2</sub>	50 ± 0,1	65 ± 0,1	49 ± 0,2	48 ± 0,04	36 ± 0,3	46 ± 0,1	50 ± 0,1
	O <sub>2</sub>	46 ± 0,2	45 ± 0,2	42 ± 0,2	32 ± 0,4	46 ± 0,1	40 ± 0,2	55 ± 0,02
	s/ tratamento	22 ± 0,2	20 ± 0,4	70 ± 0,2	27 ± 0,7	47 ± 0,2	44 ± 0,7	74 ± 0,2

**Fonte:** o autor. **Nota:** (-) indica que não foi possível realizar a análise, devido à consistência da amostra.

**Quadro 7** - Resultados do ângulo de contato para os filmes do terceiro lote

Filmes	Tratamento	Ângulo de contato (°)						
		0 dias	7 dias	14 dias	21 dias	60 dias	90 dias	120 dias
3LBN-0.25CuONP/40 °C-24 h	s/ tratamento	52 ± 7	24 ± 10	57 ± 2	49 ± 4	-	-	-
3LBN-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	43 ± 5	56 ± 7	-	-	-	-
	H <sub>2</sub>	-	59 ± 6	*	-	-	-	-
	s/ tratamento	62 ± 3	60 ± 4	65 ± 3	68 ± 9	*	*	*
3LBN-0.25CuO/40 °C-24 h	s/ tratamento	47 ± 16	69 ± 13	45 ± 3	75 ± 5	-	-	-
3LBN-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	33 ± 7	46 ± 14	-	-	-	-
	H <sub>2</sub>	-	57 ± 5	45 ± 10	-	-	-	-
	s/ tratamento	63 ± 4	53 ± 5	62 ± 4	60 ± 6	59 ± 7	67 ± 5	64 ± 7
3LBN-PRÓP/40 °C-24 h	s/ tratamento	45 ± 5	29 ± 3	68 ± 7	65 ± 6	-	-	-
3LBN-PRÓP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	35 ± 0	31 ± 14	-	-	-	-
	H <sub>2</sub>	-	52 ± 8	17 ± 4	-	-	-	-
	s/ tratamento	63 ± 5	60 ± 5	66 ± 1	55 ± 11	66 ± 5	69 ± 3	68 ± 5
3LBN-PRÓP-0.25CuONP/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	38 ± 2	48 ± 6	-	-	-	-
	H <sub>2</sub>	-	51 ± 3	52 ± 9	-	-	-	-
	s/ tratamento	56 ± 1	45 ± 5	62 ± 3	67 ± 5	69 ± 6	75 ± 8	78 ± 5
3LBN-PRÓP-0.25CuO/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	38 ± 1	39 ± 8	-	-	-	-
	H <sub>2</sub>	-	58 ± 7	25 ± 19	-	-	-	-
	s/ tratamento	55 ± 3	63 ± 4	64 ± 4	61 ± 6	69 ± 0	63 ± 7	80 ± 3
3LBN/40 °C-24 h	s/ tratamento	34 ± 2	31 ± 7	64 ± 12	53 ± 11	-	-	-
3LBN/T <sub>amb</sub> cont.-7 d	H <sub>2</sub> + O <sub>2</sub>	-	33 ± 4	58 ± 14	-	-	-	-
	H <sub>2</sub>	-	43 ± 10	55 ± 19	-	-	-	-
	s/ tratamento	49 ± 4	62 ± 4	70 ± 2	78 ± 9	75 ± 3	79 ± 4	74 ± 2

**Fonte:** o autor. **Nota:** (-) análise não realizada; (\*) análise não realizada pela falta de consistência da amostra.

**Quadro 8** - Resultados do ângulo de contato para os filmes do quinto lote

Filmes	Ângulo de contato (°)			
	0 dias	7 dias	14 dias	21 dias
5LBN-PRÓP-SPUTCu-5B/65 °C-24 h	57 ± 9	65 ± 10	82 ± 2	78 ± 5
5LBN-PRÓP-SPUTCu-10B/65 °C-24 h	80 ± 3	80 ± 3	86 ± 2	94 ± 3
5LBN-PRÓP-SPUTCu-15B/65 °C-24 h	77 ± 4	60 ± 7	76 ± 6	81 ± 7
5LBN-PRÓP-SPUTCu-20B/65 °C-24 h	81 ± 3	61 ± 4	78 ± 6	82 ± 3
5LBN-PRÓP-SPUTCu-30B/65 °C-24 h	72 ± 6	72 ± 11	87 ± 1	88 ± 6
5LBN-PRÓP-SPUTCu-40B/65 °C-24 h	87 ± 5	89 ± 8	90 ± 3	91 ± 2
5LBN-PRÓP-SPUTCu-5D/65 °C-24 h	51 ± 7	66 ± 14	71 ± 3	85 ± 6
5LBN-PRÓP-SPUTCu-10D/65 °C-24 h	73 ± 8	81 ± 4	88 ± 2	87 ± 2
5LBN-PRÓP-SPUTCu-15D/65 °C-24 h	80 ± 4	80 ± 7	82 ± 9	79 ± 5
5LBN-PRÓP-SPUTCu-20D/65 °C-24 h	72 ± 9	82 ± 5	81 ± 5	86 ± 3
5LBN-PRÓP-SPUTCu-30D/65 °C-24 h	64 ± 11	84 ± 3	82 ± 3	84 ± 6
5LBN-PRÓP-SPUTCu-40D/65 °C-24 h	75 ± 4	78 ± 6	90 ± 6	94 ± 6
5LBN-PRÓP/65 °C-24 h	42 ± 5	55 ± 4	65 ± 7	76 ± 4

Fonte: o autor.